

FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA, OBSTETRICIA Y
GINECOLOGÍA

PROGRAMA DOCTORADO MEDICINA: 3139



PAPEL DE LA VITAMINA D DURANTE EL EMBARAZO: SU
INFLUENCIA EN LA ETAPA FETAL

TESIS DOCTORAL PRESENTADA POR:

LORENA SABONET MORENTE

DIRIGIDA POR:

Dr. ANTONIO CANO SÁNCHEZ

CODIRECTORES:

Dr. JUAN JOSÉ TARÍN FOLGADO

Dra. REYES BALANZÁ CHANCOSA

VALENCIA, 2015

FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA, OBSTETRICIA Y
GINECOLOGÍA

PROGRAMA DOCTORADO MEDICINA: 3139



PAPEL DE LA VITAMINA D DURANTE EL EMBARAZO: SU
INFLUENCIA EN LA ETAPA FETAL

TESIS DOCTORAL PRESENTADA POR:

LORENA SABONET MORENTE

DIRIGIDA POR:

Dr. ANTONIO CANO SÁNCHEZ

CODIRECTORES:

Dr. JUAN JOSÉ TARÍN FOLGADO

Dra. REYES BALANZÁ CHANCOSA

VALENCIA, 2015

ESTA TESIS DOCTORAL HA SIDO ELABORADA EN EL:

DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA, OBSTETRICIA Y

GINECOLOGÍA

FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA

PAPEL DE LA VITAMINA D DURANTE EL EMBARAZO: SU

INFLUENCIA EN LA ETAPA FETAL

TESIS DOCTORAL

REALIZADA POR:

**LORENA SABONET MORENTE (LICENCIADA EN MEDICINA,
MÉDICO ESPECIALISTA EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA)**

DIRIGIDA POR:

DIRECTOR:

DR ANTONIO CANO SÁNCHEZ

CODIRECTORES:

DR JUAN JOSÉ TARIN FOLGADO

DRA REYES BALANZÁ CHANCOSA

Antonio Cano Sánchez, Catedrático del Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valencia.

Juan José Tarin Folgado, Catedrático de Fisiología del Departamento de Biología Funcional y Antropología Física de la Universidad de Burjassot.

Reyes Balanzá Chancosa, Profesora del Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valencia.

CERTIFICAN:

Que el trabajo titulado: Papel de la vitamina D durante el embarazo: su influencia en la etapa fetal ha sido realizado íntegramente por Dña. Lorena M^a Sabonet Morente bajo su supervisión. Dicho trabajo está concluido y reúne todos los requisitos para su presentación cómo TESIS DOCTORAL ante un tribunal.

Y para que conste así a los efectos oportunos, firmamos la presente certificación en Valencia a 15 de enero de 2015.

A MI FAMILIA

Agradecimientos

En primer lugar, deseo expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que han colaborado de alguna forma en la elaboración de esta Tesis y sin las cuales este proyecto no se hubiera culminado.

A mi director el Dr. Antonio Cano por iniciarme y enseñarme a disfrutar de la investigación, con un proyecto que desde el primer momento me entusiasmó, y sobre todo por la confianza que ha mostrado en mí estos años.

A mis co-directores de Tesis:

El Dr. Juan José Tarín por su apoyo constante, su paciencia, su buen hacer, y sobre todo por estar ahí siempre que te he necesitado.

A la Dra. Reyes Balanza, por facilitarme las cosas para que mi proyecto se llevara a cabo. Muchas gracias de corazón.

A mi familia, en especial a mi marido y mi hija por la paciencia y saber perdonarme todo el tiempo que les he robado, por creer en mí y animarme sin descanso. A mis padres, sobre todo por cuidar de mi pequeña durante este tiempo y por lo que cada día me vais enseñando.

A todo el personal de Consultas Externas del Hospital Dr Peset por su amable colaboración.

A Aitana Gisbert y Amparo Carrasco, compañeras y amigas, que me ayudaron con este proyecto en un momento especial de mi vida, el embarazo de mi pequeña María, gracias por estar siempre ahí.

A todos mis compañeros del H.U. Dr. Peset, por vuestro interés en esta tesis, por apoyarme y tenerme siempre en mente con la “vitamina D”.

Muchísimas gracias a todos, no cambiéis nunca.

*-PARTE DE LOS DATOS DE ESTA TESIS HA SIDO PRESENTADA EN
EL XVIII CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
INVESTIGACIÓN ÓSEA Y METABOLISMO MINERAL (SEIOMM, 2013)
DONDE RECIBIÓ EL PREMIO A LA MEJOR COMUNICACIÓN ORAL.
-APROBADO CEIC (COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA
DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DR PESET) EL 28 DE OCTUBRE
2011. CÓDIGO CEIC:73/11*

Abreviaturas

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ = Calcitriol o 1,25-dihidroxitamina D_3

$24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ = 24,25-vitamina D_3 o 24R,25-dihidroxitamina D_3

25-OHD = 25-hidroxitamina D

25-OHD₃ = Calcidiol o 25-hidroxitamina D_3

CYP27B1 = 1 α -hidroxilasa

CYP24A1 = 24-hidroxilada

DBP = Proteína de unión a la vitamina D

EGFR = receptor del factor de crecimiento epidémico

IFN- γ = interferon-gamma

IL = interleuquina

IMC = Índice de masa corporal

PTH = Hormona paratiroidea o parathormona

PTHi = PTH intacta

TGF- α = factor de crecimiento tumoral alfa

TNF- α = factor de necrosis tumoral alfa

Th1 = linfocitos Th1

Th2 = linfocitos Th2

VDBP = Proteína de unión a la vitamina D

VDR = Receptor nuclear de la vitamina D

VDRm = Receptor de membrana celular de la vitamina D

ÍNDICE

1. RESUMEN	13
2. INTRODUCCIÓN	19
2.1. LA VITAMINA D.....	20
2.2. FUENTES DE VITAMINA D	23
2.3. METABOLISMO DE LA 25 OHD	27
2.4. RECEPTOR DE LA VITAMINA D (VDR).....	33
2.4.1.Niveles de VDR	36
2.5. ACCIONES BIOLÓGICAS DE LA VITAMINA D	38
2.5.1.Acciones sobre el metabolismo fósforo-calcio en el embarazo	38
2.5.2.Otras acciones de la vitamina D.....	41
2.5.2.1. Regulación de la actividad inmune	41
2.5.2.2. Regulación de la proliferación y diferenciación celular	44
2.6. EFECTOS DE LA VITAMINA D DURANTE EL EMBARAZO	48
2.6.1.Efectos de la vitamina D en placenta y células trofoblásticas.....	48
2.6.2.Metabolismo de la vitamina D durante el embarazo.....	50
2.7. EFECTOS EN LA MADRE, EN EL NEONATO Y LA PRIMERA INFANCIA	52
2.7.1.En el embarazo	52
2.7.2.En el neonato y la primera infancia.....	55
2.8. NIVELES DE LA VITAMINA D EN LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	57
2.9. REQUERIMIENTOS DE LA VITAMINA D	61
3. HIPÓTESIS	63
4. OBJETIVOS	65

5. MATERIAL Y MÉTODOS	67
5.1. DISEÑO DEL ESTUDIO	68
5.2. PACIENTES Y MÉTODOS	72
5.2.1. Selección de mujeres para el estudio.....	72
5.2.2. Determinaciones analíticas.....	75
5.2.2.1. Determinación de 25 OHD, calcio y fósforo en sangre.....	76
5.3. VALORACIÓN DEL CRECIMIENTO OSEO FETAL MEDIANTE ECOGRAFÍA 3D	79
5.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	83
6. RESULTADOS	84
6.1. VARIABLES EPIDIOLOGICAS	85
6.2. VALORES DE 25OHD EN SUELO MATERNO.....	89
6.2.1. Niveles medios de 25OHD en suero	96
6.3. ÁREA FÉMUR FETAL.....	97
6.4. INDICE OSEO FETAL ECOGRÁFICO 3D	99
6.5. VALORES DE CALCIO Y FÓSFORO EN SUERO.....	101
7. DISCUSIÓN	102
7.1. NIVELES DE 25 OHD Y DE CALCIO EN SANGRE MATERNA.....	106
7.1.1. Niveles de 25 OHD	106
7.1.2. Niveles de calcio	109
7.2. RESULTADOS OBSTÉTRICOS	111
7.3. IMPLICACIONES SOBRE EL HUESO FETAL.....	115
7.3.1. Área femoral.....	115
7.3.2. Índice óseo femoral	117
8. CONCLUSIONES	119

9. BIBLIOGRAFÍA	121
10. ANEXO	139

1. RESUMEN

ANTECEDENTES

La vitamina D presenta receptores en distintos tejidos. Por ello, se ha hipotetizado que pueda presentar acciones más allá de las que le ligan al metabolismo óseo. Los estudios cruzados, incluidos algunos en España, muestran que hay amplias capas de población con niveles inadecuados. A raíz de ello, hay una corriente de unanimidad hacia la suplementación poblacional. Esta suplementación se lleva a cabo en algunos alimentos, como la leche u otros, en países con sistemas sanitarios avanzados. También, en el embarazo, está empezando a recibir atención, aunque los datos aún son escasos y fragmentarios. De hecho, los pocos investigadores que han abordado la cuestión confirman niveles insuficientes en muchas gestantes. Sin embargo, es un tema escasamente estudiado, y, de hecho, hay datos insuficientes sobre los suplementos relacionados con el embarazo. Además, la literatura ofrece opiniones discordantes sobre ellos.

HIPÓTESIS

Los niveles circulantes de 25OHD en las gestantes de nuestro entorno son bajos. La suplementación con 800 UI/día de colecalciferol (vitamina D₃) debería inducir un aumento en los niveles circulantes de 25OHD y mejorar el desarrollo óseo fetal. Igualmente, podría reducir la incidencia de preeclampsia, retraso de crecimiento intrauterino, diabetes mellitus (DM) gestacional e incidencia de cesárea.

OBJETIVOS

El presente trabajo tiene como objetivos:

1. Conocer los niveles circulantes de 25OHD en una población de mujeres gestantes de nuestro entorno.
2. Analizar el efecto de la suplementación con 800 UI de colecalciferol desde la semana 20 hasta el final del embarazo sobre:
 - 2.1 Niveles de 25OHD en sangre materna.
 - 2.2 Niveles de iones relacionados con el metabolismo óseo, calcio y fósforo.
 - 2.2 Crecimiento óseo fetal.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo es un estudio longitudinal, prospectivo, aleatorizado de casos-contróles con un tamaño muestral de 98 mujeres gestantes, divididas en 49 mujeres controles, a las cuales se les administraron suplementos vitamínicos estandarizados, y 49 mujeres (casos) que además recibieron un suplemento diario de 800UI de vitamina D₃.

A cada paciente se le realizaron dos extracciones sanguíneas en las semanas 20 y 30 de gestación, para determinar los niveles de 25OHD en sangre a través del test Elecsys. Se evaluaron también los niveles de calcio, fósforo en sangre en semana 35. De forma concomitante, se realizaron las ecografías 3D en la semana 20 y 30 para valorar el crecimiento óseo fetal en función de los niveles de 25OHD de la mujer gestante.

RESULTADOS

Los niveles medios circulantes de 25OHD fueron insuficientes en nuestra población estudiada. Además, al estratificar a nuestra población según criterios socioeconómicos o culturales, se observó que los niveles inferiores se agrupaban selectivamente en mujeres de cultura musulmana.

Tras la suplementación, se observó un aumento del número de gestantes con niveles óptimos de 25OHD, aunque sin modificación de niveles de calcio o fósforo.

No se observaron diferencias significativas en el área ósea del hueso femoral ni en el índice óseo del feto tras la suplementación con 800UI de vitamina D₃.

CONCLUSIONES

A la vista de los resultados obtenidos, se concluye que:

1. Existe un déficit de niveles de 25OHD en sangre de la población de mujeres gestantes analizada. Además, al dividir a nuestra población gestante según los orígenes socioculturales o étnicos, se observaron los niveles más bajos de 25OHD en las mujeres de origen árabe.
2. La suplementación con 800 UI de colecalciferol desde la semana 20 hasta el final del embarazo:
 - a) Incrementa significativamente los niveles de 25OHD en sangre, según muestra tanto la media como la ratio entre niveles previos y los conseguidos con la suplementación.

- b) No modifica los niveles circulantes de calcio y fósforo.
- c) Los niveles de 25OHD circulantes en sangre materna no se han relacionado con el área femoral fetal ni con el índice óseo de los fetos en semana 30.
- d) No afecta a la incidencia de preeclampsia, retraso de crecimiento intrauterino, DM gestacional, o vía del parto.

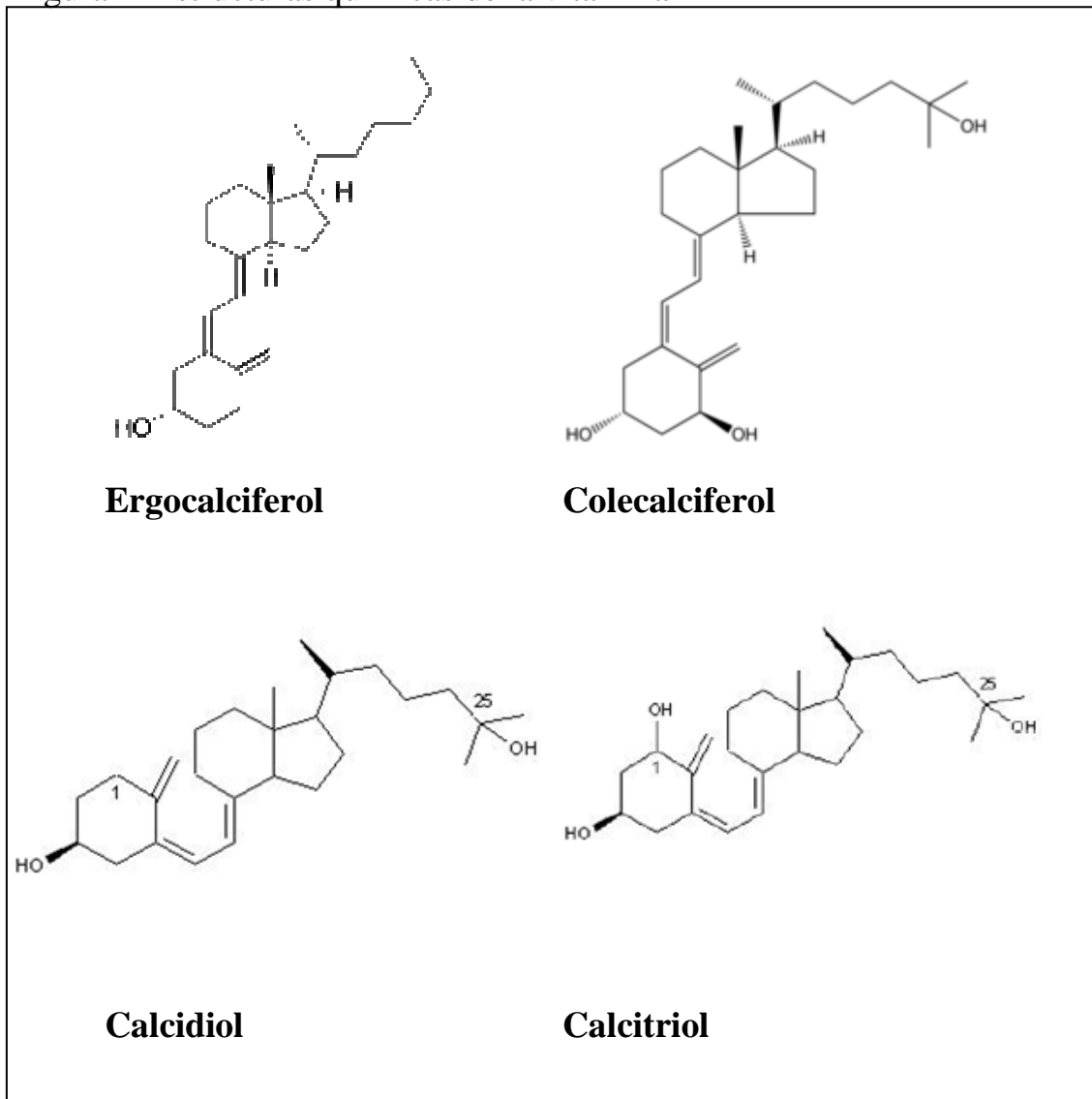
2. INTRODUCCIÓN

2.1 LA VITAMINA D

Se trata de una vitamina liposoluble y relativamente termosensible. Al describir a la vitamina D no nos referimos a un único compuesto, sino a una familia de esteroides que presentan actividad similar. Los más importantes de ellos son el ergocalciferol o vitamina D₂, de origen vegetal, y el colecalciferol o vitamina D₃, de origen animal (Hart et al., 2005).

Los derivados de la vitamina D que desempeñan un papel importante a nivel metabólico son variados. De estos, los más importantes son el calcidiol (25OHD), el calcitriol o 1,25-dihidroxitamina D₃ (1,25(OH)₂D₃) y la 24,25-vitamina D₃.

Figura 1 Estructuras químicas de la vitamina D



La vitamina D es considerada una hormona. Después de ser ingerida o sintetizada por la piel, debe metabolizarse hasta transformarse en su forma activa. Su acción la desempeña sobre distintos órganos diana, intestino y hueso principalmente. También, actúa en riñones, glándulas paratiroides y placenta (Lips et al., 2006).

La vitamina D es una de las hormonas reguladoras del metabolismo fósforo-cálcico. Su papel no está del todo definido, pero se sabe que posee receptores en el epitelio intestinal. Su activación optimiza el funcionamiento de las bombas de calcio, lo que incrementa la oferta a los capilares y el consiguiente incremento de la calcemia. De esa forma, reduce el hiperparatiroidismo reactivo a los descensos en calcio circulante. Otras acciones se ejercen a nivel de las propias glándulas paratiroides.

2.2 FUENTES DE VITAMINA D

La vitamina D del organismo tiene un origen exógeno o endógeno.

- **Fuente exógena**

La dieta nos aporta la vitamina D en forma de vitamina D₃ de origen animal o vitamina D₂ de origen vegetal.

Alimentos con un contenido suficiente de vitamina D como para considerarse fuentes de suplementación alimentaria son los aceites de pescado, ciertas variantes de pescado tales como el salmón, huevos, setas, etc. Obviamente, no podemos olvidar, también, los suplementos nutricionales (Barret et al.,2010).

Tabla 1 Alimentos ricos en vitamina D₃ según Holick (2005).

Alimento	Cantidad	Vitamina D ₃ (UI)
Aceite de hígado de bacalao	1 cucharada	2300
Salmón	100 gr	624
Sardinas en tomate	100 gr	480
Margarina	100 gr	425
Atún, bonito, caballa	100 gr	228
Camarones, langostinos	100 gr	152
Arenque ahumado	100 gr	120
Leche fortificada entera, descremada	1 taza	92
Queso suizo	100 gr	44
Yema de huevo	1	25
Queso camembert	100 gr	12
Queso cheddar	100 gr	12

- **Fuente endógena**

La síntesis cutánea es la vía principal de obtención de vitamina D para la mayoría de los individuos. Cuando la piel se expone a la luz solar o a ciertas luces artificiales, la radiación ultravioleta penetra en la epidermis y ocasiona diversas reacciones fotoquímicas. Una de ellas es la transformación del 7-dehidrocolesterol en vitamina D₃. Las radiaciones con longitud de onda comprendidas entre 290 y 315 nm se absorben por los enlaces conjugados dobles en posición C₅ y C₇ del 7-dehidrocolesterol, fragmentando el anillo B entre C₉ y C₁₀ y produciendo vitamina D₃. (Holick et al., 2006).

El impacto de la luz solar ha sido cuantificado de forma aproximada. Se calcula que la exposición durante treinta a sesenta minutos en los días de verano, produce aproximadamente unas 50.000 UI de vitamina D, en personas de piel blanca. Como consecuencia de la magnitud de ese impacto, se calcula que la falta de exposición solar es la principal causa de déficit de esta vitamina (Payá et al., 2009).

A nivel de la piel, hay factores de interferencia sobre la síntesis de vitamina D. La melanina, por ejemplo, compite con el 7-dehidrocolesterol por los fotones ultravioleta y, por tanto, puede limitar la síntesis de

vitamina D. Igualmente, la isomerización fotoquímica de la vitamina D₃ hacia dos productos biológicamente inertes (lumisterol y taquisterol), constituye un mecanismo importante para impedir la producción exagerada de vitamina D durante las exposiciones prolongadas al sol.

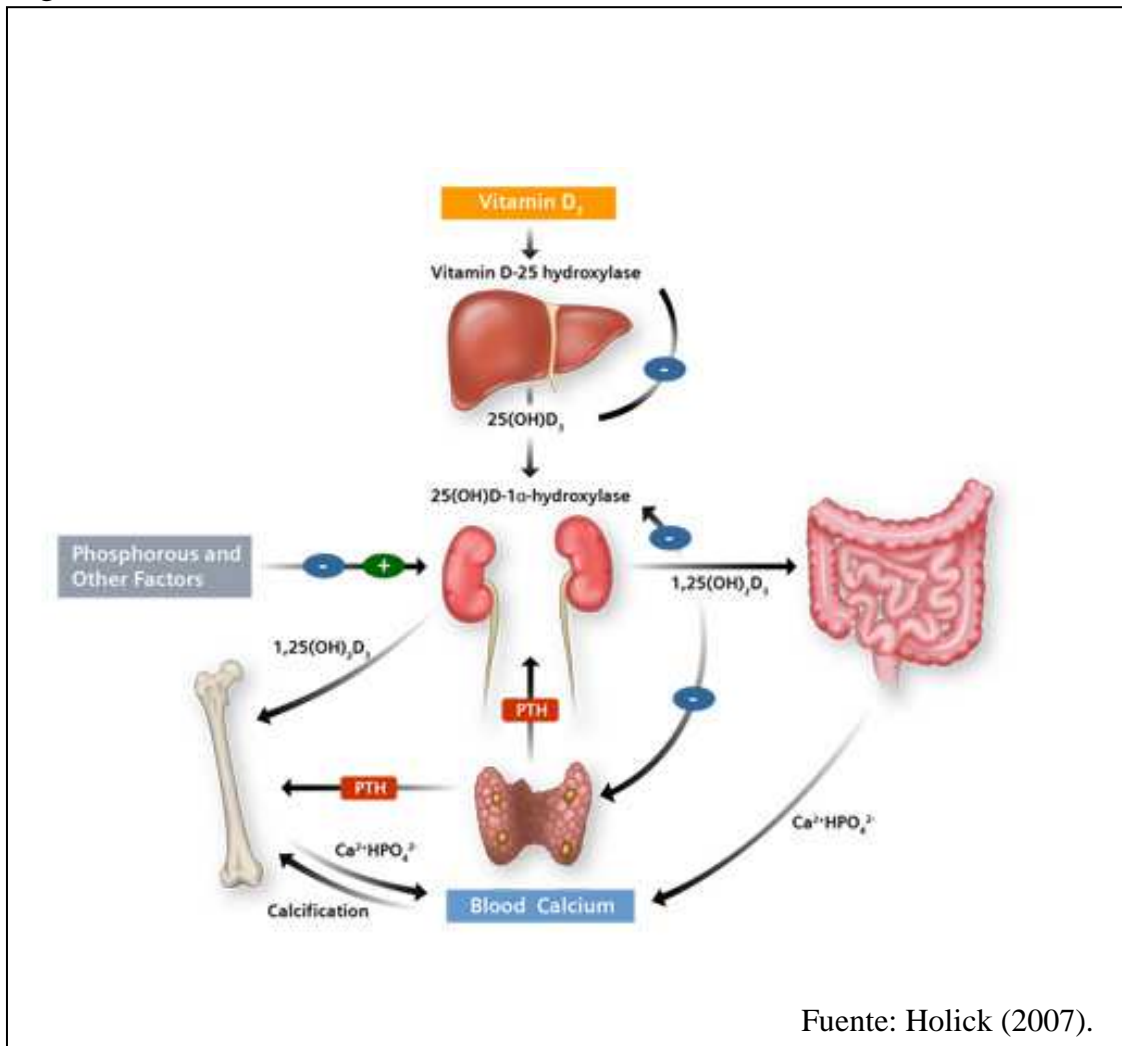
La vitamina D generada tiene alta afinidad para la proteína plasmática de transporte en sangre de vitamina D, la *D-binding protein* (DBP) (Holick et al., 2006).

2.3 METABOLISMO DE LA 25OHD

La vitamina D de la dieta se absorbe en el intestino y es rápidamente captada por el hígado. Por contra, la vitamina D₃ formada en la piel difunde lentamente hacia la sangre, con lo que la captación hepática y su conversión a 25OHD es más lenta.

Una vez que la vitamina D₃ ha sido ingerida, sus componentes liposolubles se incorporan a la fracción de quilomicrones y son absorbidos por el conducto linfático. A las 4 horas de la ingestión de 50.000 UI de vitamina D₃, se observa un incremento significativo de su concentración, que es máximo a las 12 horas y va descendiendo a las 72 horas.

Figura 2 Metabolismo de la vitamina D₃



El complejo vitamina D-DBP es transportado al hígado donde la vitamina D₃ se hidroxila en los hepatocitos mediante la 25-hidroxiolasa localizada en mitocondrias y microsomas del parénquima celular hepático. El 25OHD es uno de los metabolitos circulantes principales de la vitamina D₃. Su vida media es de 21 días, y su concentración plasmática es un buen reflejo del aporte dietético de vitamina D y de la exposición a la luz solar (DeLuca et al., 2004).

El suministro gradual de vitamina D₃ al hígado permite la producción continuada y prolongada de 25OHD. De esta forma, la conversión plasmática del metabolito se mantiene aún cuando la exposición de la piel a luz solar ocurra sólo de manera intermitente (Plourde et al., 1999).

Los procesos de hidroxilación hepática tienen lugar tempranamente, tanto en el periodo fetal cómo posteriormente en el neonatal, y la eficacia de esta hidroxilación se correlaciona con la edad gestacional (Martinez et al., 2000).

Después de su formación en el hígado, el 25OHD pasa a la sangre y, unido a la DBP, es conducido hasta el riñón donde sufre una hidroxilación, concretamente en la posición 1 α ó 24R, dependiendo del metabolismo fosfocálcico, para dar lugar al 1,25(OH)₂D₃, el metabolito activo de la vitamina D₃, o a la 24,25-vitamina D₃ (Rapado et al., 2000; Holick et al., 2009).

Aunque es el riñón, exactamente en las células del túbulo contorneado proximal, el principal órgano donde se encuentran estas hidroxilasas, su presencia se ha detectado también en tejidos como la placenta (Vaquero et al., 2003).

La conversión de vitamina D hacia 25OHD se altera en enfermedades hepáticas-colestásicas o parenquimatosas severas, por reducción de las reservas de 25-hidroxilasa-vitamina D y por absorción intestinal deficiente.

Metabolización renal

La 1α -hidroxilasa es un enzima mitocondrial citocromo p450 dependiente. Para realizar esta hidroxilación, necesita oxígeno molecular que se incorpora en el esteroide en posición C_1 o C_{24} , así como NADP reducido, que puede obtenerse del succinato mitocondrial o de la oxidación de malato a isocitrato.

A diferencia de la 25-hidroxilación en el hígado, la 1α -hidroxilación en el riñón se regula según los requerimientos de $1,25(OH)_2D_3$. Por ejemplo, durante el embarazo, lactancia y crecimiento, la concentración plasmática de $1,25(OH)_2D_3$ está aumentada probablemente por una síntesis incrementada en el riñón. La 1α -hidroxilasa se estimula por varios factores iónicos (calcio, fósforo, magnesio y potasio) y hormonales (calcitonina, hormonas sexuales, hormona del crecimiento, prolactina, insulina, etc.), y particularmente, por la hormona paratiroidea (PTH) (Norman et al., 2003) (Jones et al., 2007).

Estudios realizados en microsecciones de segmentos de nefronas confirman la presencia de dos formas diferentes de 1α -hidroxilasa. Los enzimas del tubo contorneado proximal se activan por la hormona paratiroidea a través del AMPc. Los de la *pars recta* son estimulados por la calcitonina en un proceso AMPc independiente. Para algunos autores, esto es importante durante la etapa fetal, donde al estar inhibida la hormona paratiroidea, se necesitan otros mecanismos de producción de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Portale et al., 1986). Esta interpretación, sin embargo, es ya probablemente obsoleta a raíz de los avances en el conocimiento de los cambios en PTH durante el embarazo, que no parece reducirse durante la gestación.

Haddow et al, 2011, estudiaron la relación existente entre los niveles de PTH y 25OHD en el primer trimestre de embarazo, observándose que las dos moléculas presentaban una relación compleja; ya que en invierno aumentan los niveles de PTH mientras decaen los de 25OHD ocurriendo lo contrario en verano. Todo ello correlacionado para mantener la homeostasis del calcio en cada momento.

Durante el embarazo la placenta también contribuye al mantenimiento de concentraciones adecuadas de 1,25-dihidroxiciferol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) (Holick et al., 2006).

Almacenamiento y eliminación

La vitamina D no se almacena a nivel del hígado, sino que sus principales fuentes del almacenamiento son el tejido adiposo y los músculos (en forma de 25OHD).

El $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ circula en el plasma unido en un 87% a la DBP, alrededor de un 13% unido a la albúmina y sólo un 0.4% circula libre. La principal forma circulante es la 25OHD ligada a la DBP (Holick et al., 2011).

Los niveles séricos de 25OHD y $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ se modifican según la estación del año. Son máximos a finales del verano y mínimos al final del invierno, poniendo de manifiesto su relación con la exposición solar. Aunque la luz solar incrementa la concentración sérica de 25OHD no influye sobre la tasa de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, lo que sugiere la existencia de una regulación muy fina de la hidroxilación renal (Guyton et al , 1997)

2.4 RECEPTOR DE VITAMINA D (VDR)

El VDR se encuentra en tejidos implicados en las homeostasis del calcio, tales como intestino, hueso, paratiroides y riñón. También, existen receptores en otros tejidos, incluyendo epidermis, músculo, páncreas, órganos reproductores y sistema hematopoyético.

El VDR pertenece a la superfamilia de receptores esteroideos y es un factor de transcripción inducido por ligando.

El gen del VDR está ubicado en el brazo largo del cromosoma 12 y comprende una región de aproximadamente 100 kb de ADN aunque sólo 4,6 kb son los que codifican la proteína (Taymans et al., 1999) (Varshney et al., 2013). VDR es una fosfoproteína de 427 aminoácidos y 48 kDa, la cual presenta 2 mecanismos de actuación fundamentales:

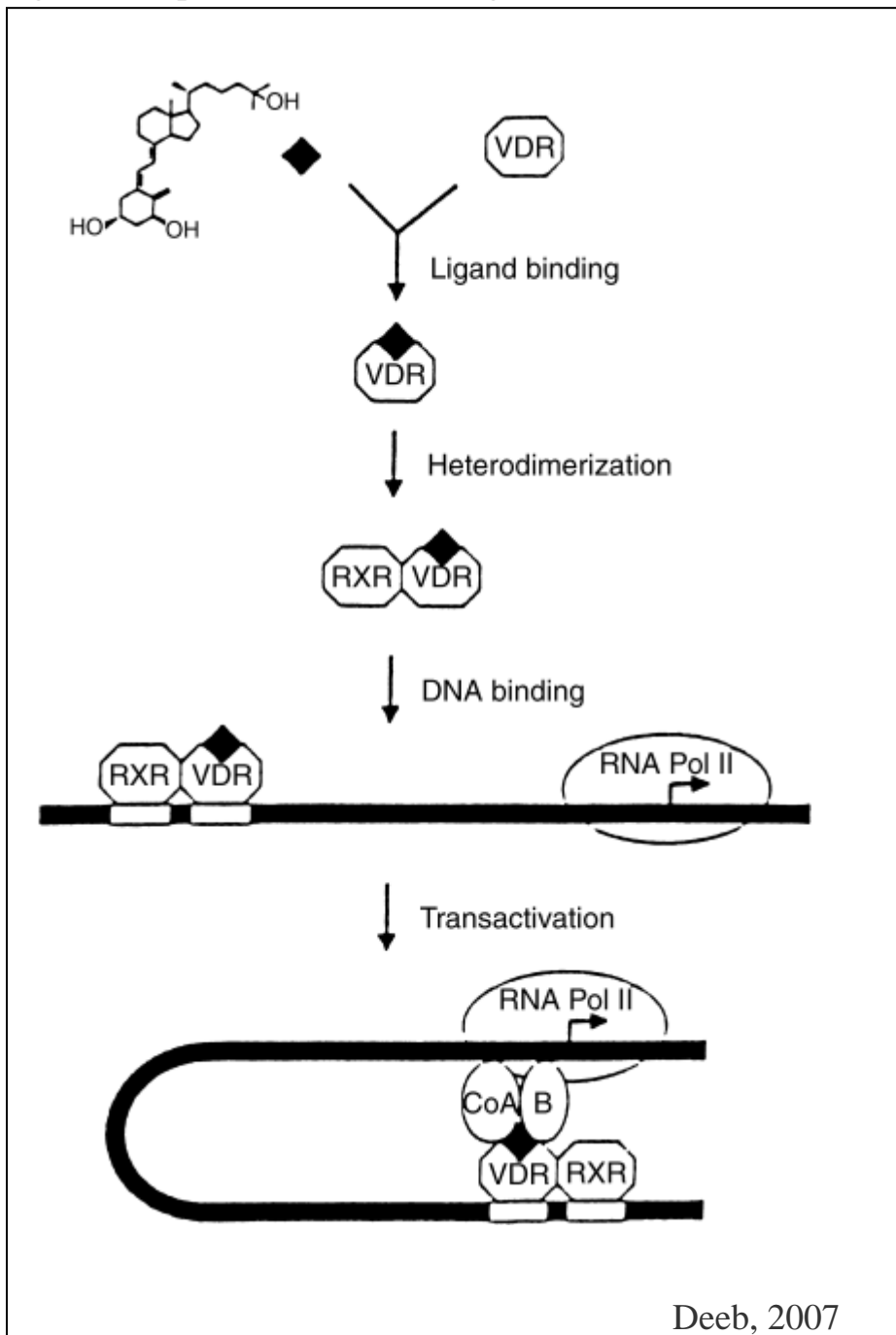
- a) Unión al DNA (DBD) (vía genómica).

- b) Unión a un receptor de membrana $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (LBD) (vía no genómica).

a) Vía genómica

El $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ejerce su acción al unirse a receptores nucleares, induciendo posteriormente la síntesis de ARN mensajero (ARNm). La unión de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ activa al VDR, que se fosforila y entra en el núcleo donde se une al receptor del 9-cis retinoide X (RXR) para formar el complejo VDR-RXR. Este complejo reconoce y se une específicamente al ADN nuclear en secuencias promotoras de diferentes genes, llamadas elementos de respuesta a vitamina D (VDRE). Ello es seguido del reclutamiento de numerosos factores de transcripción y de otros reguladores que, en último término, harán que aumente o disminuya la tasa de transcripción de los genes diana (Deeb et al., 2007).

Figura 3 Esquema activación vía genómica.



b) Vía no genómica

El $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, además de regular la expresión génica, 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 requiere la apertura de canales de calcio dependientes del voltaje a través de la membrana y del transporte vesicular de calcio (Norman, 2003).

El $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ tiene mayor afinidad por los receptores de vitamina D [VDR y receptor de membrana celular de vitamina D (VDRm)] que la 25OHD (Hart, 2005).

2.4.1 Niveles de VDR

Los niveles intracelulares de VDR se regulan tanto por ligandos del VDR como por hormonas y factores de crecimiento que no se unen a VDR (Brown et al., 1999). La regulación que afecta al control de la transcripción y estabilización del ARNm del VDR, así como a la síntesis y degradación de la proteína, es específica de cada tejido o célula, ya que el $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ regula al alza la transcripción del VDR en las glándulas paratiroides y el riñón, pero no en el intestino (Wang et al., 2012).

La cantidad de VDR en la célula diana depende también de muchos otros factores, como el estado de proliferación y diferenciación de la célula, las rutas celulares activadas en un determinado momento, así como la expresión diferencial de cofactores que intervienen en las acciones del VDR como factor de transcripción.

Los niveles de VDR a nivel de la placenta se correlacionan inversamente con los niveles circulante de 25OHD y positivamente con los niveles de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Por lo que se ha llegado a considerar, que el VDR placentario es un factor predictivo positivo de longitud femoral, así cómo está implicado en la transferencia de calcio de la madre al feto. Siendo los fetos quién regulan la expresión del VDR en la placenta en función de los niveles de 25OHD y su metabolito activo. La asociación existente entre el VDR placentario y la longitud del fémur fetal, nos hace pensar que quizás el VDR placentario tiene un papel en el crecimiento óseo fetal mediado por la transferencia de calcio a través de la placenta (Young et al., 2014).

2.5 ACCIONES BIOLÓGICAS DE LA VITAMINA D

2.5.1 Acciones sobre el metabolismo fósforo-calcio en el embarazo

Las acciones clásicas de la vitamina D tienen lugar, como ya se ha comentado, en los riñones, hígado e intestino. Su función es llevar a cabo una correcta regulación en la absorción del calcio y fósforo, y síntesis de hueso, manteniendo la homeostasis calcio-fósforo (Weaver et al., 2007).

La disminución de la concentración sanguínea de 25OHD y calcio estimula la síntesis de PTH. Ésta activa a su vez la síntesis de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, de manera que corrige el déficit de calcio aumentando la absorción a nivel intestinal y movilizándolo del hueso. El restablecimiento de los niveles de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, junto con el correcto equilibrio de calcio, permite la incorporación de calcio al hueso (Gartner et al., 2003).

La relación inversa entre $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ y PTH es determinante para conseguir niveles adecuados de ambas hormonas, a fin de mantener la calcemia. Como se ha dicho, una reducción en los niveles de calcio estimulan la secreción de PTH que, a su vez, entre otras acciones, activa la producción de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Sin embargo, esta relación se hace más débil

en el embarazo, lo que sugiere que hay otros factores en juego regulando el proceso de absorción intestinal del calcio y otras funciones que deben garantizar una buena transferencia de calcio hacia el feto (Haddow et al., 2011).

Durante el embarazo, no tiene lugar un aumento significativo de los niveles sanguíneos de 25OHD, si previamente no acontece un aumento de la ingesta de la misma o de su síntesis endógena. Sin embargo, durante el primer trimestre, aparece un incremento entre el 100% y 200% de los niveles de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, tanto en la madre como en el feto. Este incremento se mantiene hasta el final del embarazo. En la madre, el aumento de la actividad $1-\alpha$ hidroxilasa en riñones y en las células deciduales placentarias es la responsable del incremento en los niveles de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Van Hoof et al., 2001).

Los cambios acontecidos para alcanzar los niveles de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ en sangre materna se desarrollan simultáneamente con el aumento de la absorción de calcio a nivel intestinal. De esta manera, se consigue hacer frente a las demandas fetales de calcio. En el feto, sin embargo, parece provenir de un aumento de la síntesis de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ a nivel placentario y de tejidos fetales tales como, por ejemplo, los riñones fetales (Speaker et al., 2004; Kaludjerovic et al., 2010).

Un aspecto importante a reseñar en cuanto a los niveles correctos de vitamina D en el nacimiento e infancia temprana es el hecho que dichos niveles dependen de los niveles maternos de la misma durante la gestación. El estatus de vitamina D en el feto tiene su origen con el paso transplacentario de 25OHD desde la madre al feto. Esto ocurre sobre todo al inicio del embarazo, ya que la forma activa, es decir la 1,25(OH)₂D₃, no puede atravesar la placenta (Hollis et al., 2004).

Diversos estudios reflejan una correlación positiva entre los niveles de vitamina D en el nacimiento medidos en sangre de cordón con los niveles maternos. En general, los niveles de 25OHD en sangre de cordón suelen suponer el 60-89% de los niveles maternos (Dawodu et al., 2007).

Es importante hacer mención que mantener unos niveles óptimos de vitamina D durante el embarazo ayuda a prevenir la hipovitaminosis en el feto y la posterior deficiencia en el nacimiento e infancia temprana (Sutton et al., 2003).

2.5.2 Otras acciones de la vitamina D

En los últimos años, se han descrito funciones no tan conocidas de la vitamina D. Se advierte que alrededor de 30 tejidos distintos expresan VDR, siendo capaces de responder al $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Mizwicki et al., 2009).

Tanto la vitamina D como su receptor (VDR) juegan un papel importante en la función inmunitaria, proliferación y diferenciación celular, y secreción hormonal (Bikle et al., 2010).

2.5.2.1 Regulación de la actividad inmune

Conocemos la repercusión que la vitamina D ejerce sobre la inmunidad innata y la adquirida. En general, el $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ reduce la actividad de la inmunidad adquirida y potencia la actividad de la inmunidad innata (Adams et al., 2007).

A) Sobre el sistema de inmunidad adquirida el $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ inhibe la síntesis de inmunoglobulinas G (IgG) y la proliferación de linfocitos B, así como de linfocitos T (Adams et al., 2008). Por otro lado la acción no es homogénea sobre estos últimos, pues se observa que el

1,25(OH)₂D₃ provoca una inhibición en la proliferación de los linfocitos Th1 limitando, también, la producción de citoquinas por parte de estas células. Sin embargo, induce a los linfocitos Th2.

Los linfocitos Th1 sintetizan interferón gamma (IFN- γ), interleuquina-2 (IL-2) y factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), mientras que los linfocitos Th2 se encargan de la producción de las interleuquinas IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 e IL-13. Quizás por su capacidad de inhibir la respuesta inflamatoria de la inmunidad adaptativa, tanto la vitamina D como los agonistas de la misma, tienen efecto positivo en los trastornos autoinmunes en diversos modelos animales. Entre estas enfermedades, está la artritis reumatoide, diabetes mellitus (DM) tipo I, encefalitis alérgica, enfermedad inflamatoria intestinal y lupus eritematoso sistémico. Por ello, los análogos de la vitamina D están siendo investigados actualmente para el tratamiento de dichas enfermedades autoinmunes en adultos (Laverny et al., 2010).

B) El sistema de la inmunidad innata tiene como función la identificación y eliminación de agentes invasores, tales como bacterias, virus, o células transformadas. Sus cuatro componentes celulares fundamentales son los neutrófilos, monocitos, células dendríticas y linfocitos NK. Los monocitos se transforman en macrófagos tras

contactar con agentes foráneos en los tejidos. En este proceso, se ha analizado la implicación de la vitamina D, particularmente de su metabolito activo, el $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Shin et al., 2010).

Los macrófagos expresan $1-\alpha$ hidroxilasa que sintetiza $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ a partir de 25OHD . El $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ presenta actividad antimicobacteriana in vitro con dos mecanismos de acción:

- 1) Exógeno, el cual induce la fusión del macrófago a las micobacterias.
- 2) Endógeno, siendo estimulada esta respuesta por el receptor nuclear VDR presente en células macrofágicas, pues al unirse el $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ se induce la síntesis de óxido nítrico. (Martineau et al., 2007).

2.5.2.2 Regulación de la proliferación y diferenciación celular

Numerosos estudios muestran el papel importante que desempeña la vitamina D en la regulación del ciclo celular. A su vez, participa en la diferenciación celular e inducción de la apoptosis. Se sabe que el $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ presenta actividad antiproliferativa y de diferenciación en varios tipos celulares cómo son: queratinocitos, osteoblastos, células mesenquimales, neuronales, células del endotelio vascular, condrocitos y células inmunitarias (Samuel et al., 2008).

Dichos efectos sobre la proliferación celular se deben a que el $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ induce la síntesis de inhibidores que impiden que la célula pase de la fase G1 a la S del ciclo celular. Por otra parte, los efectos sobre la diferenciación tienen lugar por la expresión de factores de crecimiento y citoquinas (Gurlek et al., 2002). Sin embargo, los efectos de la vitamina D en la proliferación y diferenciación celular son complejos y varían según el tipo celular (Nagpal et al., 2005). En células dendríticas, por ejemplo, la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ promueve una persistencia del estado de inmadurez (Griffin et al 2001).

Las propiedades de la vitamina D como reguladora de la proliferación y diferenciación celulares están en la base de algunas aplicaciones clínicas. Por ejemplo, la vitamina D y sus análogos se usan en el tratamiento de la psoriasis, enfermedad caracterizada por la hiperproliferación de

queratinocitos, así como por la infiltración de células inmunes en la epidermis y dermis. La administración tópica de calcipotriene (análogo de la vitamina D) y corticoides es efectiva en el tratamiento de dicha patología. La actividad antipsoriásica del calcipotriene, y otros análogos de la vitamina D, radica en un incremento de la diferenciación y disminución de la proliferación de los queratinocitos. Esto provoca una reducción de la expresión inflamatoria de citoquinas y diversos genes, incluyendo el *queratina 16* que está anormalmente sobre-expresado en las células epidérmicas psoriásicas (Saraceno et al., 2009).

Se han estudiado, también, los efectos antiproliferativos y de diferenciación de la vitamina D sobre la evolución de algunos procesos cancerígenos (Guyton et al., 2001). La presencia de la mutación $VDR^{-/-}$ en ratones muestra una hiperproliferación de células renales y de la glándula mamaria, así como desarrollo de procesos tumorales (Bouillon et al., 2008).

A nivel clínico, un buen ejemplo lo constituye la hiperplasia paratiroidea, que es una complicación secundaria en pacientes con fallo renal. Ciertos estudios muestran que tanto la vitamina D como sus análogos pueden tener relevancia clínica sobre este proceso. En modelos animales, se observa un incremento de la expresión del factor de crecimiento tumoral

alfa (TGF- α), así como de su receptor, el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), tanto en la hiperplasia paratiroidea como en la enfermedad renal urémica (Cozzolino et al., 2001). El tratamiento con 1,25(OH) $_2$ D $_3$ disminuye la expresión de TGF- α e incrementa la expresión del inhibidor de quinasas dependientes de ciclina, p21^{WAF}. Como consecuencia, se produce una reducción de la proliferación de las células paratiroideas (Cozzolino et al., 2005). En un estudio de pacientes en tratamiento de diálisis, se observó que el tratamiento con 1,25(OH) $_2$ D $_3$ por vía intravenosa se asocia con una reducción de la enfermedad paratiroidea. (Taniguchi et al., 2008).

Hay mucho interés en investigar las implicaciones de la vitamina D en otras formas de cáncer, en las cuales se ha detectado una asociación con el déficit de vitamina D. Es el caso de los cánceres de mama, colon y próstata.

Los resultados de un estudio aleatorio de mujeres postmenopáusicas tratadas con 1100 UI de vitamina D y 1500 mg de calcio/día muestran una disminución de la incidencia de cáncer de mama con respecto a sus controles (Lappe et al., 2007). Datos como estos han llevado a plantear el uso de vitamina D o de sus análogos en el tratamiento del cáncer de mama, colon y próstata, debido a su actividad antiproliferativa, pro-apoptótica y de diferenciación. En este sentido, hay grupos de investigadores trabajando con modelos animales (Choi et al., 2009). Entre los hallazgos, se ha

detectado que los efectos hipercalcemiantes de la vitamina D son un inconveniente para su uso, de suerte que se está priorizando el uso de sus análogos, que carecen de este efecto.

2.6 EFECTOS DE LA VITAMINA D DURANTE EL EMBARAZO

2.6.1 Efectos de la vitamina D en placenta y células trofoblásticas.

Las células placentarias expresan VDR y receptor X retinoide (RXR). Por ello, son dianas potenciales para la acción de la vitamina D (Pospechova et al., 2009). Además, la placenta expresa los citocromos de la superfamilia enzimática p450, 1 α -hidroxilasa y 24-hidroxilasa, lo que permite generar 1,25(OH)₂D₃ y su posterior metabolización.

Son varios los efectos que se han estudiado sobre las células placentarias:

1. Weisman et al. (1979) encontraron síntesis de 24,25(OH)₂D₃ y 1,25(OH)₂D₃ en células deciduales y tejido placentario. Estos hallazgos han sido posteriormente confirmados en cultivos de células del sincitiotrofoblasto y células deciduales, las cuales producen 1,25(OH)₂D₃ (Evans et al., 2006).

2. El factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1), que es un factor importante en la regulación del crecimiento fetal, provoca una hidroxilación de la 25OHD, dosis dependiente, observada en medios de cultivo de células placentarias (Halhali et al., 1999).
3. El tratamiento con vitamina D de células del trofoblasto expuestas a *E. coli* reduce las tasas de infección. Este efecto puede deberse a la actividad inmunitaria comentada anteriormente. Estos hallazgos sugieren que, quizás, la suplementación con vitamina D durante el embarazo puede reducir la infección durante el mismo (Liu et al., 2007).

2.6.2 Metabolismo de la vitamina d durante el embarazo

Durante el embarazo acontecen importantes cambios en el metabolismo de la vitamina D y calcio. El calcio es transportado desde la madre al feto a través de la placenta. En ratas, la placenta transporta 25OHD y 24,25(OH)₂D₃, pero no 1,25(OH)₂D₃ (Joong et al., 2010). Aunque el transporte transplacentario no ha sido estudiado en humanos, la vitamina D pasa de la madre al feto dependiendo de los niveles séricos en la madre (Kovacs et al., 2013).

A los incrementos de 1,25(OH)₂D₃ ya comentados, en el embarazo hay que sumar la síntesis por parte de la decidua y placenta de 1,25(OH)₂D₃ gracias a la actividad enzimática de la 1 α -hidroxilasa. Todo ello contribuye a los aumentos en los niveles de 1,25(OH)₂D₃ en el tercer trimestre del embarazo (Kirby et al., 2011).

La decidua endometrial sintetiza 1,25(OH)₂D₃ y 24,25(OH)₂D₃ y la placenta, por otro lado, produce 24,25(OH)₂D₃. Diversos estudios muestran que la 24,25(OH)₂D₃ sintetizada por la placenta se acumula en el hueso fetal y parece tener una implicación en la osificación del mismo (Shin et al., 2010).

Se ha visto que, en fetos de oveja, se puede sintetizar $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ a partir de 25OHD y el enzima 24-hidroxilasa del riñón fetal. Sin embargo, no se ha observado en dichos fetos producción de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, ya que la 1α -hidroxilasa renal se encuentra inhibida por el ambiente de hipercalcemia e hiperfosfatemia. El $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ es el mejor metabolito activo de la vitamina D en estos fetos. Actúa promoviendo la absorción del calcio a través de la placenta y anexándolo al hueso fetal, sin incremento de los niveles de calcio en sangre y orina fetal. El mecanismo de acción de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, sintetizada por la placenta humana es similar, ya que aumenta la absorción de calcio materna para cubrir las demandas fetales de calcio durante la gestación (Cross et al., 1995).

2.7 EFECTOS EN LA MADRE, EL NEONATO Y PRIMERA INFANCIA

2.7.1 En el embarazo

En la madre, se ha estudiado la relación del déficit de vitamina D durante el embarazo con patologías gestacionales incluyendo preeclampsia, resistencia a la insulina y DM gestacional. También, se ha estudiado su efecto sobre la incidencia de cesárea.

Se observa claramente que el déficit de vitamina D durante el embarazo se puede considerar una epidemia, ya que se encuentra en el -20-85% de las mujeres dependiendo del lugar de residencia y otros factores relacionados con su estilo de vida, tales como dieta u otros (Mulligan et al., 2010).

A) . La preeclampsia, definida como la hipertensión y proteinuria durante el embarazo, es un problema que afecta al 5-8% de los embarazos. Los porcentajes de preeclampsia son más elevados durante los meses de invierno, cuando se reduce la producción de 25OHD dependiente de la exposición al sol.

La asociación entre el déficit de vitamina D y el incremento de riesgo de preeclampsia ha sido evidenciada por algunos autores (Magnu et al., 2004). Otros autores también han encontrado que la preeclampsia se asocia con niveles disminuidos de IGF-1 y $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Halhali et al., 2000). Estudios en cultivos han detectado que IGF-1 incrementa la síntesis de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ por las células del sincitiotrofoblasto procedente de embarazos normales, pero no cuando procede de embarazos con preeclampsia. Además, las células trofoblásticas en mujeres con preeclampsia expresan la décima parte del enzima CYP27B1 (Liu et al., 2007). Por otro lado, los niveles disminuidos de vitamina D alteran el equilibrio de linfocitos Th1/Th2 y de varias citoquinas, lo cual sugiere que podría afectar a la tolerancia inmunológica en la implantación embrionaria (Hyppönen et al., 2005), uno de los factores que se han implicado en la fisiopatología de la preeclampsia.

Estos datos han llevado a estudios de intervención para valorar cómo los suplementos con vitamina D pueden influir en la reducción del riesgo de preeclampsia. Haugen et al. (2009) encontraron una reducción del riesgo de preeclampsia en las gestantes suplementadas con vitamina D frente a las no suplementadas.

Debido a la carencia de estudios de intervención, en la actualidad el papel de la vitamina D en la preeclampsia aún no está esclarecido, por lo que se necesitan nuevos ensayos controlados y aleatorizados para estudiar la relación entre niveles de 25OHD y riesgo de preeclampsia (Hofmeyr et al., 2014).

B) . La resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa y DM gestacional han sido objeto de atención en relación con la vitamina D. La $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ regula la secreción de insulina por parte de las células β -pancreáticas, regulando de este modo los niveles circulantes de glucosa (Lapillonne et al., 2010). En base a ello, se ha considerado que los niveles disminuidos de 25OHD son un factor de riesgo en el desarrollo de la resistencia a la insulina (Maghbooli et al., 2008). El déficit de vitamina D en el primer trimestre de embarazo se asocia con un incremento significativo de riesgo de DM gestacional a lo largo del embarazo (Zhang et al., 2008; Joergensen et al., 2014).

C) . La incidencia de cesárea en mujeres nulíparas está inversamente asociada con los niveles de 25OHD (Merewood et al., 2009). Al unirse al VDR en la fibra muscular esquelética, el $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$

podría favorecer la contractibilidad. De hecho, las mujeres con niveles de 25OHD < 37.5 nM/L presentan una contractibilidad muscular disminuida. Este hallazgo puede estar relacionado con que la contracción uterina y la de la pared abdominal sean menos efectivas en estas mujeres (Bischoff-Ferrari et al., 2006).

2.7.2 En el neonato y la primera infancia

Hay datos que asocian niveles adecuados de vitamina D en la madre y peso del recién nacido, sin llegar a confirmar dichos hallazgos (Harvey et al., 2014). Niveles de ingesta inadecuados de vitamina D durante el embarazo se ha asociado con bajo peso al nacer y retraso de crecimiento intrauterino sobre todo si la madre presenta además niveles deficitarios de calcio (Galthen-Sorensen et al., 2014). Se ha detectado, también, una correlación del déficit de vitamina D con cráneo tabes. Esta fragilidad ósea de la base del cráneo es uno de los signos tempranos que aparece ante este déficit (Yorifuji et al., 2008)

Junto a ello, debe recordarse la existencia de una asociación entre déficit de vitamina D y osteomalacia y, aunque menos conocido, el aumento de la incidencia de infecciones respiratorias en el niño, algunas llegando a la complicación de un cuadro séptico (Karatekin et al., 2009).

El déficit de vitamina D se asocia, también, con diversos problemas en la infancia, tales como desarrollo óseo inadecuado, asma, esquizofrenia y DM tipo I (Wjst, 2006; Litonjua et al., 2007; Kinney et al., 2009; Viljakainen et al., 2011). Los mecanismos responsables de estos efectos están empezando a ser establecidos (Wang et al., 2014).

2.8 NIVELES DE VITAMINA D EN LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

En estos momentos no existe consenso sobre cuáles son los niveles óptimos de 25OHD. La mayoría de expertos (Holick et al., 2005) sitúan 20 ng/ml (50 nmol/L) como el nivel, por debajo del cual, podemos diagnosticar déficit de vitamina D. No obstante, hay que tener en cuenta que los niveles de 25OHD están inversamente asociados con los niveles de PTH. Además, hay estudios poblacionales mostrando que hasta que no se alcanzan niveles por encima de 30 ng/ml (75 nmol/L), la PTH no inicia su descenso. En consecuencia, niveles entre 21-29 ng/ml (52-72 nmol/L) deberían ser considerados como insuficiencia relativa de vitamina D (Kaloczi et al., 2014).

Con el uso de estos umbrales, se estima que una gran parte de la población mundial se encontraría deficitaria en vitamina D. Así, en un estudio realizado en Estados Unidos, con mujeres jóvenes en edad reproductiva, y usando los valores tradicionales de déficit de vitamina D (< 20 ng/ml), se obtuvo que el 54% de las mujeres estudiadas se hallaba en déficit. Cuando se consideraron niveles deficientes de vitamina por debajo de 30 ng/ml (75 nmol/L), el porcentaje de mujeres con déficit de vitamina D alcanzó el 85% (McKinney et al., 2008).

En Europa, donde muy pocos alimentos están suplementados con vitamina D, niños y adultos podrían estar en alto riesgo de presentar hipovitaminosis D.

Los habitantes de zonas cercanas al Ecuador, expuestos a la luz del sol, sin protección, tienen niveles que rondan los 25-30 ng/ml de 25OHD. Sin embargo, incluso en estas áreas, es relativamente frecuente la deficiencia en esta vitamina, ya que la mayoría oculta su piel a la radiación solar. Por ejemplo, se ha encontrado que niños y adultos de países soleados como Arabia Saudita, Emiratos Árabes, Australia, Turquía, India y Líbano, presentan niveles por debajo de 20 ng/ml en un 30 al 50% de los casos (Marwaha et al., 2005; Ladhani et al., 2004). Probablemente, el aumento de la pigmentación de la piel y las costumbres religiosas puedan contribuir al bajo nivel observado.

Las gestantes y las mujeres que realizan lactancia materna eran, hasta este momento, consideradas un grupo de bajo riesgo, pues una gran mayoría seguía tratamiento mediante suplementos polivitamínicos e ingería alimentos ricos en vitamina D (pescado y leche). Pero, en un estudio realizado por Lee et al. (2007), se observó que un 73% de las mujeres y un 80% de sus hijos tenían valores de 25OHD por debajo de 20 ng/ml tras el parto. Los bajos niveles de vitamina D durante el embarazo se han asociado, como hemos comentado anteriormente, con restricción del

crecimiento intrauterino (RCIU), bajo peso al nacer y disminución de la masa ósea a los nueve años de edad (Wjst et al., 2006; Merewood et al., 2009).

Actualmente, la prevalencia de este déficit ha aumentado, al igual que la incidencia de raquitismo en países desarrollados (Wharton et al., 2003).

En cuanto a la población gestante se refiere, existe una alta prevalencia de déficit de vitamina D en embarazadas procedentes de países del hemisferio norte (Merewood et al., 2009).

Esta situación de déficit se produce también en España, tal y como se demuestra en los escasos datos que se conocen (Pérez-Llamas et al., 2008). Aunque la climatología que presenta nuestro país es propicia para una adecuada síntesis de vitamina D, sus niveles son semejantes o incluso inferiores a los descritos en Europa central y países nórdicos (Lips et al., 2001).

El estado paradójico de hipovitaminosis que se observa en nuestro país, y que se aprecia también en otros países mediterráneos, se ha tratado de explicar por el escaso aporte dietético de vitamina D que no puede ser compensado por la síntesis cutánea. Además, hay que saber que la Península Ibérica por su latitud percibe los rayos solares con una inclinación determinada (90°), lo que hace que la síntesis de vitamina D

durante los meses de invierno y primavera sea deficiente. (Quesada et al., 2010).

Por todo lo anterior, la insuficiencia de vitamina D en nuestro país no debe explicarse sólo por los factores geográficos, sino también por unos aportes inadecuados de la misma en la dieta (Pérez-Llamas et al., 2008).

2.9 REQUERIMIENTOS DE VITAMINA D

El Food and Nutrition Board, Institute of Medicine (1999) publicó que la ingesta adecuada de vitamina D es de 200 UI al día para niños y adultos menores de 50 años, de 400 UI entre los 51 y 70 años, y de 600 UI para personas mayores de 71 años. La cantidad recomendada durante el embarazo oscilaba entre 400 a 600 UI/día de vitamina D₃. Igualmente, el Food and Nutrition Board, Institute of Medicine definió en 2010, 20 ng/mL como la cantidad adecuada de 25OHD en sangre, tanto en la población normal, como en la gestante.

Estas recomendaciones eran generales y no atendían a situaciones particulares. Por ejemplo, durante la gestación se produce un aumento de los requerimientos de vitamina D. En ello puede influir no sólo la utilización por parte del feto, sino también situaciones frecuentes, como una inadecuada exposición solar, una escasa ingesta o un déficit de suplementación, restricción de productos lácteos por cuestión dietética o intolerancia, u otras circunstancias. Esto podría explicar el hecho que existan publicaciones que destacan la importancia de un aporte adecuado de vitamina D durante el embarazo, y la repercusión que puede conllevar en el resultado perinatal. Así, Manion et al. (2006) observaron una asociación entre la deficiencia de vitamina D y el bajo peso al nacimiento.

Otros autores encontraron que los niveles de vitamina D durante la gestación pueden predecir la masa ósea del niño (Javaid et al., 2006). En este caso, los niveles inadecuados de vitamina D se correlacionaron con una menor masa ósea, medida por densitometría (DXA), a los 9 años de edad.

Todo ello sugiere que la vitamina D ejerce funciones intraútero y participa en el desarrollo y maduración del feto.

Una revisión bibliográfica (Holick et al., 2010) propuso que una estrategia adecuada en el embarazo sería administrar de 1.000 a 2.000 UI de vitamina D₃ cada día, ó 50.000 UI de vitamina D₂ cada 2 semanas o una vez al mes. En aquellas pacientes en las que se demuestre un déficit (25OHD < 30 ng/ml), la administración debería ascender a 50.000 UI de vitamina D₂ de forma semanal durante 8 semanas. El impacto de estos suplementos en los niveles circulantes de 25OHD durante el embarazo es desconocido.

Estas recomendaciones quedan muy lejos de la dosis de 200 UI al día que se recomiendan en los suplementos vitamínicos recomendados a las gestantes.

3. HIPÓTESIS

HIPÓTESIS

Los niveles circulantes de 25OHD en las gestantes de nuestro entorno son bajos. La suplementación con 800 UI/día debería inducir un aumento en los niveles circulantes de 25OHD y de los niveles circulantes de calcio. Igualmente, la suplementación debería tener un impacto en el desarrollo óseo fetal.

4. OBJETIVOS

El presente trabajo tiene como objetivos:

1. Conocer los niveles circulantes de 25OHD en una población de mujeres gestantes de nuestro entorno.
2. Analizar el efecto de la suplementación con 800 UI de colecalciferol desde la semana 20 hasta el final del embarazo sobre:
 - 2.1. Niveles de 25OHD en sangre materna.
 - 2.2. .Impacto de la suplementación sobre la calcemia materna.
 - 2.3. Crecimiento óseo fetal evaluado en semana 28.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

El presente trabajo es un estudio longitudinal, prospectivo, aleatorizado y controlado.

Las pacientes del estudio se reclutaron entre las gestantes atendidas en el Servicio de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitario Dr. Peset, de Valencia. Se trata de un centro de tercer nivel que cubre el Departamento de Salud número 10 de la Comunidad Valenciana, donde la población es mayoritariamente de clase media o media-baja, con un porcentaje considerable de inmigrantes.

Las pacientes eran incluidas en el estudio cuando acudían a la ecografía del primer trimestre, realizada entre la semana 11-13 de gestación, para la medición de la translucencia nual.

Se utilizaron los siguientes criterios para la inclusión en el estudio:

Criterios de inclusión

- Mujeres gestantes entre la semana 11-13 gestación.
- Edad comprendida entre 18-45 años.

-Sin patología de base.

-Sin hábitos tóxicos.

Criterios de exclusión:

-Hipersensibilidad a la vitamina D.

-Mujeres con DM tipo I.

-Mujeres con hipertensión arterial (HTA) crónica.

-Malformaciones fetales

-Edad materna extrema, es decir, mujeres < 18 años ó > 45 años.

-Gestaciones obtenidas por técnicas de reproducción asistida.

-No cumplimentación del tratamiento.

Inclusión

Las participantes fueron incluidas tras la firma del correspondiente consentimiento informado, siguiendo los protocolos de legislación vigente (ver anexo). Tras ello, fueron divididas en dos grupos de forma aleatoria para ser tratadas o no con un suplemento de vitamina D₃. El grupo control siguió con los suplementos vitamínicos estandarizados en nuestro protocolo actual. Dichos suplementos contienen 200 UI de vitamina D₃ estandarizadas. El grupo de tratamiento fue suplementado con 800 UI de vitamina D₃ (dosis mínima eficaz según la literatura) a partir de la semana 20 de gestación.

Se incluyeron todas las pacientes que cumplieron el tratamiento en el grupo suplementado con 800 UI de vitamina D₃, de forma diaria.

Analítica

A cada paciente se le realizaron dos extracciones sanguíneas en las semanas 20 y 30 de gestación, para determinar los niveles de 25OHD en sangre. Se evaluaron, también, los niveles de calcio y fósforo en sangre.

Los valores de 25OHD en sangre se clasificaron en 3 niveles: deficientes (< 10ng/ml), insuficientes (10-20 ng/ml) y óptimos (> 20 ng/ml).

Somatometría fetal por ecografía

De forma concomitante, y con el fin de explorar la asociación entre los niveles circulantes de 25OHD en las madre gestante y el crecimiento óseo fetal, se realizó un estudio ecográfico en la semana 30 mediante el empleo de un ecógrafo 3D General Electric: Volusson 730 expert, equipado con una sonda 3D con rango de frecuencia entre 2 y 5 MHz, para valorar el índice óseo. Este índice se define como la relación entre el área de la metáfisis distal del fémur fetal/longitud del mismo, el cual proporciona un valor fehaciente de crecimiento óseo fetal (Mahon et al., 2010). La medición se realizó en la semana 30 porque la técnica está estandarizada para esa edad gestacional.

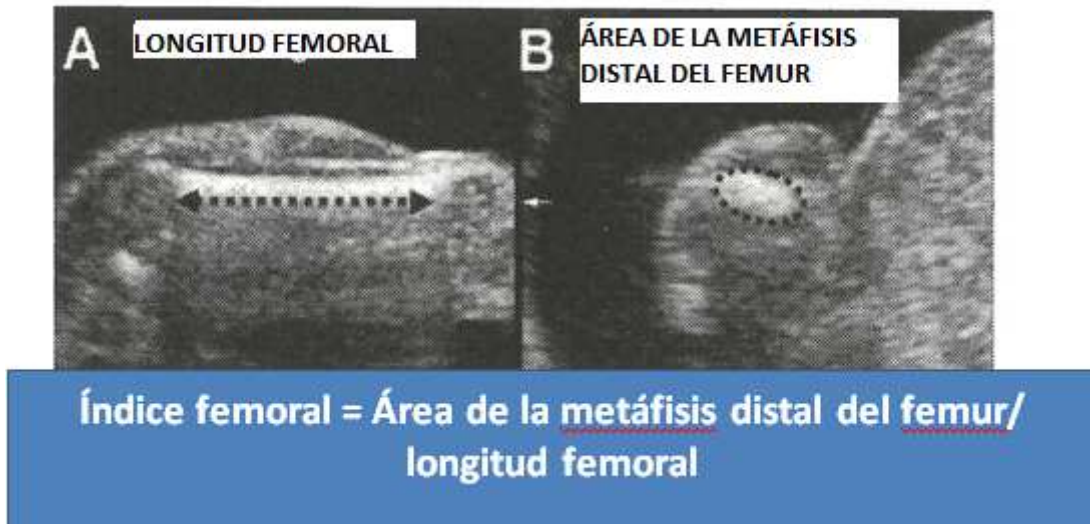


Figura 4.

En dicha ecografía, también, se valoró el crecimiento de cada feto según parámetros de somatometría y Doppler tradicionales con el fin de detectar fetos pequeños para su edad gestacional (PEG) y/o con RCIU, y realizar el protocolo de seguimiento de los mismos.

5.2. PACIENTES Y MÉTODOS

5.2.1. Selección de mujeres para el estudio

Para nuestro estudio, fueron seleccionadas un total de 110 gestantes que cumplían los criterios de inclusión descritos en el periodo de tiempo transcurrido entre diciembre de 2011 y 2012.

De ellas, se excluyeron 5 gestantes por finalizar la gestación en aborto diferido entre la semana 14-18. Entre ellos, cabe destacar un aborto post-amniocentesis con cariotipo de síndrome de Down. Siete gestantes fueron excluidas por no finalizar todas las fases del estudio.

Finalmente, un total de 98 gestantes concluyeron el estudio, quedando distribuidas de la siguiente manera:

- a) Grupo Control: 49 gestantes tratadas con el suplemento vitamínico estándar a lo largo de la gestación.
- b) Grupo Casos: 49 gestantes tratadas con el suplemento vitamínico estándar pero, además, suplementadas con 800 UI de vitamina D₃ a partir de la semana 20 de embarazo hasta el final del mismo.

Momento en el cuál se podría llevar a cabo la primera determinación del índice óseo fetal, debido a que antes de estas semanas de embarazo sería muy difícil medir dicho índice en el feto.

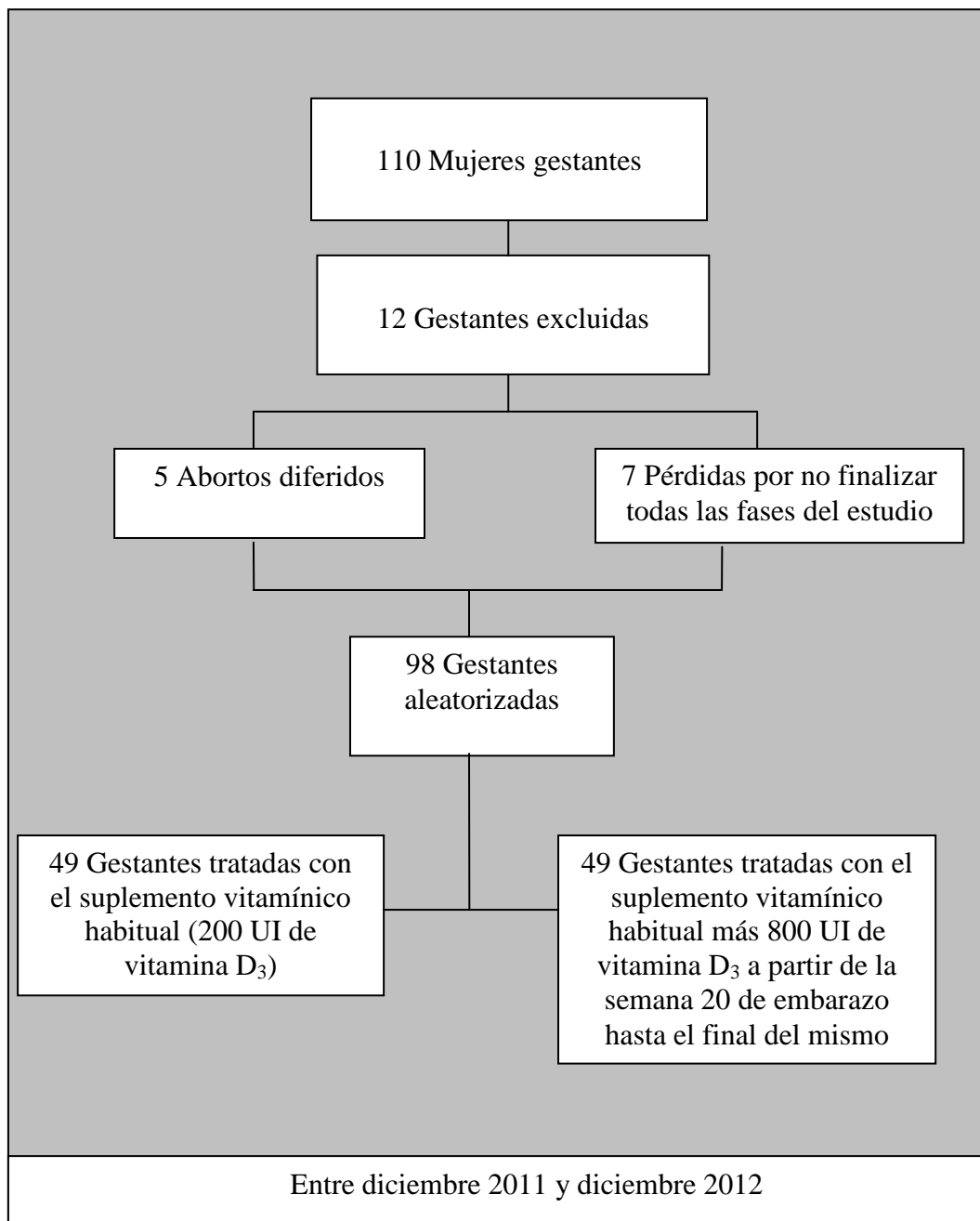


Figura 5

Cada caso fue emparejado con su control correspondiente según la edad, país de origen y mes del año en el que fueron incluidas en el estudio.

Entre las variables epidemiológicas analizadas en el estudio, se incluyeron:

- a. Edad materna
- b. Raza
- c. Índice de masa corporal (IMC)
- d. Números de abortos
- e. Paridad (número de gestaciones).
- f. Edad gestacional en el momento de cada exploración y en el momento de la finalización del embarazo.
- g. Vía del parto
- h. Peso del recién nacido

5.2.2 Determinaciones analíticas

Las extracciones de sangre materna se realizaron en el momento de la ecografía del segundo trimestre en la semana 20, y en el tercer trimestre, coincidiendo con la ecografía obstétrica de la semana 30. En el suero de estas pacientes (ambos grupos), se determinó 25OHD. En la semana 35, se midió también calcio, fósforo en sangre materna para así poder determinar los posibles efectos colaterales de la suplementación con 800UI de vitamina D₃, en dichas moléculas.

La muestra de sangre materna de 25OHD fue obtenida de forma aseptica en tubos estériles (EDTA) de 3.5mL. La sangre recogida se centrifugo a 1500 g durante 5 min (Rotina 380R, Hettich), con objeto de separar el suero de los elementos formes, manteniendo una T^a entre 20-25°C.

La muestra de calcio, fósforo fueron obtenidas en tubo de 3.5 ml de gelosa y centrifugadas durante 10 minutos a 1500 g (Rotina 380R, Hettich) a una T^a entre 20-25 °C.

La orina para la determinación de creatinina se recogió en botes estériles de plástico de 100 mL. Las orinas se centrifugaron a 400 g (Rotina 380R, Hettich) durante 10 min.

5.2.2.1 Determinación de 25OHD, calcio y fósforo en sangre

A) Determinación de 25OHD

La determinación cuantitativa de 25OHD en plasma se realizó mediante el test Elecsys Vitamina D total.

El test Elecsys Vitamin D total utiliza una proteína fijadora de vitamina D como proteína de captura que se liga a la 25OHD₃.

El principio fundamental del test consiste:

Principio de competición con una duración total de 27 minutos.

Primera incubación: Al incubar la muestra (15 µL) con los reactivos pretratamiento (ditiotretitol 1 g/L, a pH 5.5 e hidróxido de sodio 55 g/L), la 25-hidroxivitamina D fijada es liberada de la proteína transportadora.

Segunda incubación: Al incubar la muestra pretratada con la proteína transportadora de vitamina D marcada con rutenio, se forma un complejo entre la hidroxivitamina D y la vitamina D marcada.

Tercera incubación: Tras añadir micropartículas recubiertas de estreptavidina y 25-hidroxivitamina D marcada con biotina, se

ocupan los puntos de fijación libres de la proteína de fijación de la vitamina D marcada con rutenio formándose así un complejo consistente en la proteína transportadora marcada con rutenio y la 25-hidroxivitamina D biotinilada. El complejo total se fija a la fase sólida por la interacción entre la biotina y la estreptavidina.

La mezcla de reacción es trasladada a la célula de lectura donde, por magnetismo, las micropartículas se fijan a la superficie del electrodo. Los elementos no fijados se eliminan posteriormente con ProCell/ ProCell M.

Los resultados se obtienen mediante una curva de calibración generada por el sistema a partir de 2 puntos y una curva máster incluida en el código de barras del reactivo.

Es importante que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia con respecto a la población a la que atiende en función de parámetros étnicos, edad y exposición solar. Los valores adecuados se consideran aquellos capaces de normalizar las concentraciones séricas de PTH. En nuestro medio los valores normales se consideran entre 21 y 54 ng/mL. El límite inferior de detección es de 5.2 ng/mL

Los coeficientes de variación intra e interensayo son 10.5% y 8.2%, respectivamente.

B) Determinación de calcio sérico

La determinación cuantitativa de calcio en suero se realizó mediante el test Architect c Systems.

El principio fundamental del test consiste en:

La realización se lleva a cabo mediante el Arsenazo-III, un colorante que reacciona con el calcio en una solución ácida para formar un complejo azul-morado. La reacción colorimétrica es detenida y la intensidad del color se mide con ayuda de un lector de densidad óptica (fotómetro) a 660 nm. El color desarrollado es proporcional a la concentración de calcio en la muestra.

El intervalo de referencia para sujetos sanos es de 8.4 a 10.2 mg/dL. El límite inferior de detección es de 0.2 mg/dL.

C) Determinación de fósforo sérico

El kit empleado para la cuantificación fue el Architect c Systems según instrucciones del fabricante.

Básicamente la técnica consiste en:

El fósforo inorgánico reacciona con molibdato de amonio para formar un complejo heteropoliácido. El uso de un surfactante elimina la necesidad de utilizar un filtrado sin proteínas. La absorbancia de 340 nm es directamente proporcional a los niveles de fósforo

inorgánico en la muestra medida gracias a un lector de densidad óptica (fotómetro).

El intervalo de referencia en sujetos sano es de 2.3 a 4.6 mg/dL.

Todas las determinaciones analíticas fueron realizadas en el Laboratorio de Urgencias del Hospital Dr. Peset.

5.3. VALORACIÓN DEL CRECIMIENTO ÓSEO FETAL MEDIANTE ECOGRAFÍA 3D

Para valorar el crecimiento óseo fetal, se utilizó un método novedoso consistente en la medición del índice óseo del fémur fetal mediante ecografía 3D.

Las imágenes de eco 3D pueden obtenerse mediante dos métodos: automático o manual

En el método manual, se emplean unos sensores que se acoplan al transductor ultrasónico y a la paciente, de modo que las imágenes bidimensionales obtenidas por el transductor ultrasónico se orientan en el espacio. El examinador desplaza la sonda mediante movimientos de traslación o rotación, obteniendo una secuencia de imágenes 2D que son almacenadas en un ordenador acoplado al ecógrafo donde son posteriormente procesadas mediante un programa informático.

El método automático ha sido el utilizado en el presente trabajo para determinar el índice óseo. El método automático emplea transductores ultrasónicos especialmente diseñados para obtener imágenes tridimensionales. El transductor realiza el barrido sobre la región de interés (RDI) seleccionada por el examinador sin que éste tenga que realizar ningún tipo de desplazamiento. La velocidad y ángulo de barrido pueden ser ajustados por el examinador. A menor velocidad y menor ángulo de barrido, mayor será la resolución obtenida. El tiempo promedio de barrido, entre 3-10 segundos, depende de la velocidad y ángulo establecidos. El conjunto de imágenes obtenidas se denomina “volumen 3D” y se compone de vóxels (el término vóxel procede del inglés *volumetric pixel*. Es la unidad cúbica que compone un objeto tridimensional. Constituye la unidad mínima procesable de una matriz tridimensional y es, por tanto, el equivalente del píxel en un objeto 3D. Por ello, cada vóxel tiene un valor en escala de grises).

En general, la calidad de las imágenes obtenidas mediante el método automático es mejor que las del método manual.

El volumen obtenido puede ser almacenado y analizado posteriormente sin necesidad de que la paciente esté presente.

Las imágenes 3-D pueden presentarse en la pantalla en varios formatos: superficie, multiplanar o nicho.

El modo superficie permite obtener una reconstrucción de una superficie concreta, como puede ser una cara fetal. El modo multiplanar visualiza simultáneamente en los 3 planos del espacio la RDI y navega virtualmente a través de ellos, mientras que el modo nicho presenta una reconstrucción de una RDI determinada y su interrelación en los 3 planos del espacio.

Asimismo, la eco 3-D permite realizar cálculos volumétricos en la RDI. Estos pueden realizarse de diversos modos midiendo 3 distancias, una distancia y una elipse o áreas. Así, mediante un cálculo volumétrico en la RDI de fémur fetal, en nuestro trabajo, hemos realizado la medición del área de la metáfisis distal de dicho fémur usando el modo elipse.

Para medir el área de la metáfisis distal del fémur, se coloca el transductor en un plano estándar de la longitud del fémur (LF), obteniéndose la imagen deseada a partir de la función 3D. Usando el modo elipse, se realiza la medición del área femoral. En nuestro caso, cada medida fue realizada 3 veces.

A partir de la medición, se llevó a cabo el cálculo del índice óseo fetal [área de la metáfisis distal del fémur fetal (cm²)/longitud del fémur (cm)].

Se midió el área de la zona distal de la metáfisis porque refleja de manera más fidedigna los procesos de osificación fetal. De acuerdo con la fórmula del índice óseo, se considera un mejor valor cuanto mayor es la cifra obtenida.

El cálculo de volúmenes mediante eco 3-D ha sido validado en diferentes estudios. Farrel et al. (2001) demostraron en estudios in vitro, usando un modelo de balón, e in vivo, usando úteros de mujeres hysterectomizadas, basándose en el principio de la ley de Arquímedes, que la estimación del volumen mediante eco 3-D era muy precisa.

La precisión depende de unos factores, tales como la distancia del transductor al objeto de estudio y la profundidad de foco. Por su parte, Yaman et al. (2003) demostraron que las estimaciones volumétricas mediante eco 3-D era más fiables y exactas que las realizadas mediante eco 2-D, con un error de 7% para la primera y del 22% para la segunda.

Además se ha señalado que la fiabilidad de la estimación del volumen es alta no solo para objetos en órganos bien delimitados, sino también para estructuras de morfología irregular o asimétrica.

En los últimos 3 años, diversos estudios han indicado que esta técnica es altamente reproducible, tanto inter- como intra-observador, para el cálculo de volúmenes, ya que no está influida por el hecho que el volumen sea

obtenido por diferentes examinadores, no solo en condiciones “ideales”, sino también patológicas.

5.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la comparación de medias, se utilizó la prueba de la t de Student y análisis de la varianza (ANOVA) y covarianza (ANCOVA).

Las covariables edad, IMC y paridad fueron incluidas en el análisis estadístico para controlar los posibles efectos de estas variables que no fueron incluidas en el diseño del estudio.

Para comprobar que las variables presentaban una distribución normal, se utilizó el test de Kolmogorov-Smirnov. Si las variables no seguían una distribución normal, se aplicó la transformación logarítmica o raíz cuadrada para inducir normalidad.

El test de Levene fue usado para estudiar la homogeneidad de varianza entre grupos.

Las comparaciones estadísticas se consideraron significativas si $P \leq 0.05$.

Todo el análisis estadístico se realizó utilizando el programa SPSS versión 22.

6. RESULTADOS

6.1 VARIABLES EPIDEMIOLÓGICAS

Las 49 mujeres gestantes controles incluidas en nuestro estudio parieron un total de 24 niños y 25 niñas, mientras que las 49 mujeres suplementadas con vitamina D parieron 22 niños y 27 niñas.

Las Tabla 2 muestra los datos epidemiológicos de las mujeres controles y suplementadas con vitamina D₃.

	Grupo control	Grupo Vit D ₃	P
Edad (años)	33.1 ± 0.6 ^a (21-41) ^b	32.7±0.7 (18-43)	0.5
IMC	24.0 ± 0.5 (19-33)	23.4±0.4 (20-38)	0.1
Paridad	0.9 ± 0.1 (0-5)	0.6±0.1 (0-3)	0.4
Nº abortos previos	0.4 ± 0.1 (0-3)	0.3±0.1 (0-3)	0.6

^aMedia ± error estándar de la media

^bRango

Tal como muestra la Tabla 2, no se observaron diferencias significativas entre los dos grupos de mujeres gestantes en cuanto a la edad, IMC, paridad (el 63.2% de todas las gestantes eran nulíparas lo que suponía el 65.1% en el grupo control y 63.2% en el grupo suplementado con vitamina D₃) y número de abortos (el 78.2% de todas las gestantes no habían tenido ningún

aborto: 77.6% en el grupo control y 81.6% en el grupo suplementado con vitamina D₃).

La Tabla 3 presenta los valores basales de 25OHD en suero en la semana 20 de gestación según la procedencia de las mujeres.

Tabla 3. Valores de 25OHD en suero según lugar de origen de las mujeres controles y suplementadas con vitamina D₃

	Grupo control	Grupo Vit D₃	P
ÁRABES (n= 10)	14.4±4.7 ^a (4-31) ^b	11.8±4.7 (3-29)	0.7
ESPAÑOLAS (n= 65)	19.2±1.8 (7-45)	19.5±1.3 (8-36)	0.9
LATINOAMERICANAS (n=18)	18.6 ± 2.3 (13-35)	19.1±3.0 (10-34)	0.9
ASIÁTICAS (n=5)	20.3 ± 7.3 (13-35)	20±13 (7-33)	0.9

^aMedia ± error estándar de la media

^bRango

Existe una clara tendencia a presentar unos niveles medios de 25OHD en suero inferiores al resto de los grupos en las mujeres de origen árabe ; quizás influenciado por su dieta, estilo de vida y vestimenta, la cual disminuye notablemente la cantidad de rayos de sol recibidos. No obstante, el ANOVA de dos vías aplicado no evidenció un efecto significativo entre

procedencias de las participantes y entre tipos de suplementación, ni en la interacción entre estos dos factores.

La Tabla 4 muestra la edad gestacional en el momento del parto y el peso de los recién nacidos en mujeres controles y suplementadas con vitamina D₃.

Tabla 4. Semanas de gestación en el momento del parto y peso de los recién nacidos según las madres fuesen suplementadas o no con vitamina D₃

	Grupo control	Grupo Vit D₃	P
EDAD GESTACIONAL (semanas)	38.7 ± 0.3 ^a (33-41) ^b	39.2±0.2 (37-41)	0.2
PESO (g)	3365.9 ± 60.3 (2220-4120)	3350.8±57.4 (2410-4490)	0.7

^aMedia ± error estándar de la media

^bRango

No se encontraron diferencias significativas entre grupos ni en la edad gestacional en el momento del parto, ni en el peso corporal de los recién nacidos.

La Tabla 5 indica el efecto de la suplementación de vitamina D₃ en las distintas vías de parto.

Tabla 5. Distintas vías de parto según las mujeres fuesen suplementadas o no con vitamina D₃

	Grupo control	Grupo Vit D₃
PARTO EUTÓCICO	65.3% (n = 32)	65.3% (n=32)
PARTO INSTRUMENTADO	8.2% (n=4)	12.2% (n=6)
CESÁREA POR FRACASO DE INDUCCIÓN	10.2% (n=5)	4.1% (n=2)
CESÁREA POR OTRO MOTIVO	16.3% (n=8)	18.4% (n=9)

Prueba de la Chi-cuadrado de Pearson ($P \leq 0.627$)

Cómo podemos observar, no se observaron diferencias significativas entre grupos en las distintas vías de parto. No obstante, cabe señalar que el grupo de mujeres suplementadas con vitamina D₃ presentó un menor porcentaje de cesáreas por fracaso de inducción que el grupo control.

6.2 VALORES DE 25OHD EN SUERO MATERNO

En la Figura 6, se muestran los niveles de 25OHD en suero de todas las mujeres (n = 98) incluidas en el estudio en la semana 20 de gestación. Se puede observar que el 14% de las mujeres presentaron niveles deficientes (< 10 ng/mL), el 47% niveles insuficientes (10-20 ng/mL) y sólo el 39% presentaron niveles óptimos (> 20 ng/mL).

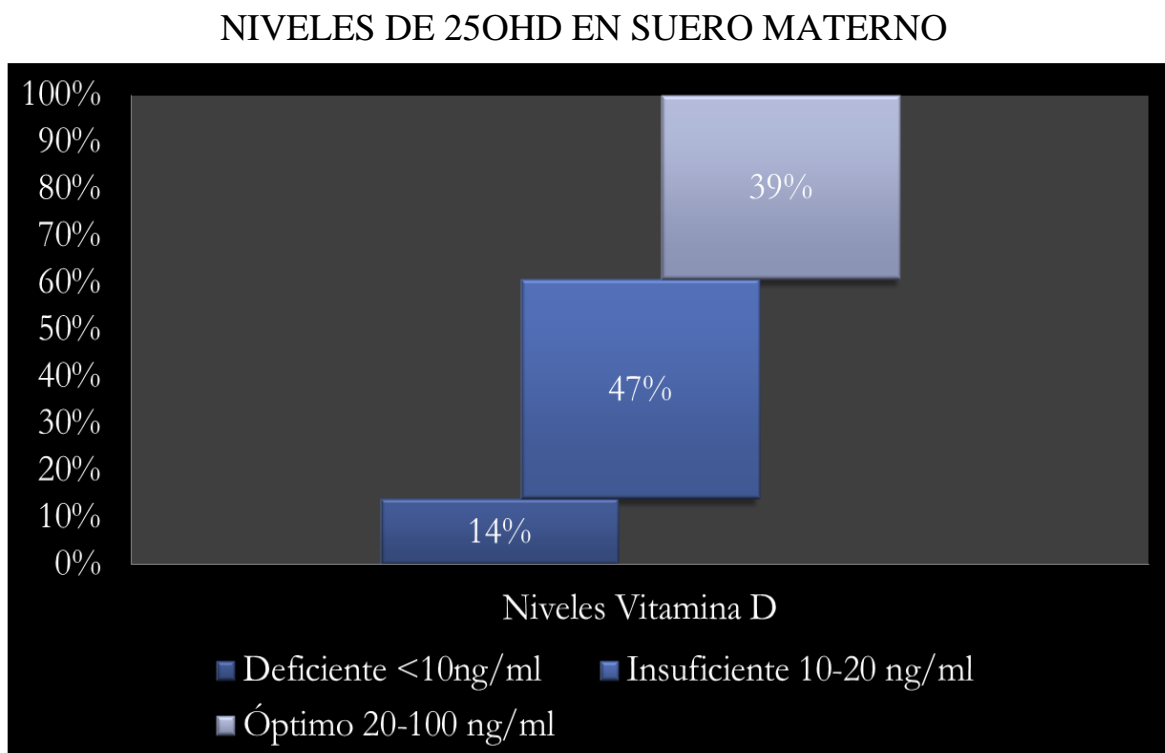


Figura 6

La Tabla 6 presenta el porcentaje de mujeres controles y suplementadas con vitamina D₃ con valores deficientes, insuficientes y óptimos de 25OHD en la semana 20 de gestación.

Tabla 6. Distribución de los niveles de 25OHD en suero en mujeres controles y suplementadas con vitamina D₃ en la semana 20 de gestación

	Grupo control	Grupo Vit D₃	Total
DEFICIENTE (< 10 ng/mL)	54.5% (n=53)	45.5% (n=45)	100% (n=98)
INSUFICIENTE (10-20 ng/mL)	51.0% (n=50)	49.0%(n=48)	100% (n=98)
ÓPTIMOS (> 20 ng/mL)	47.2% (n=46)	52.8%(n=52)	100% (n=98)

Prueba de la Chi-cuadrado de Pearson ($P \leq 0.895$)

No se encontraron diferencias significativas entre mujeres controles y suplementadas con vitamina D₃ en la distribución de porcentajes de mujeres con valores deficientes, insuficientes y óptimos de 25OHD en la semana 20 de gestación.

En la Figura 7, se muestran los niveles de 25OHD en suero de todas las mujeres (n = 98) incluidas en el estudio en la semana 30 de gestación. Se puede observar que sólo el 8% de las mujeres presentaron niveles deficientes (< 10 ng/mL), el 33% niveles insuficientes (10-20 ng/mL) y el 59% presentaron niveles óptimos (> 20 ng/mL).

NIVELES DE 25OHD EN SUERO MATERNO EN SEMANA 30

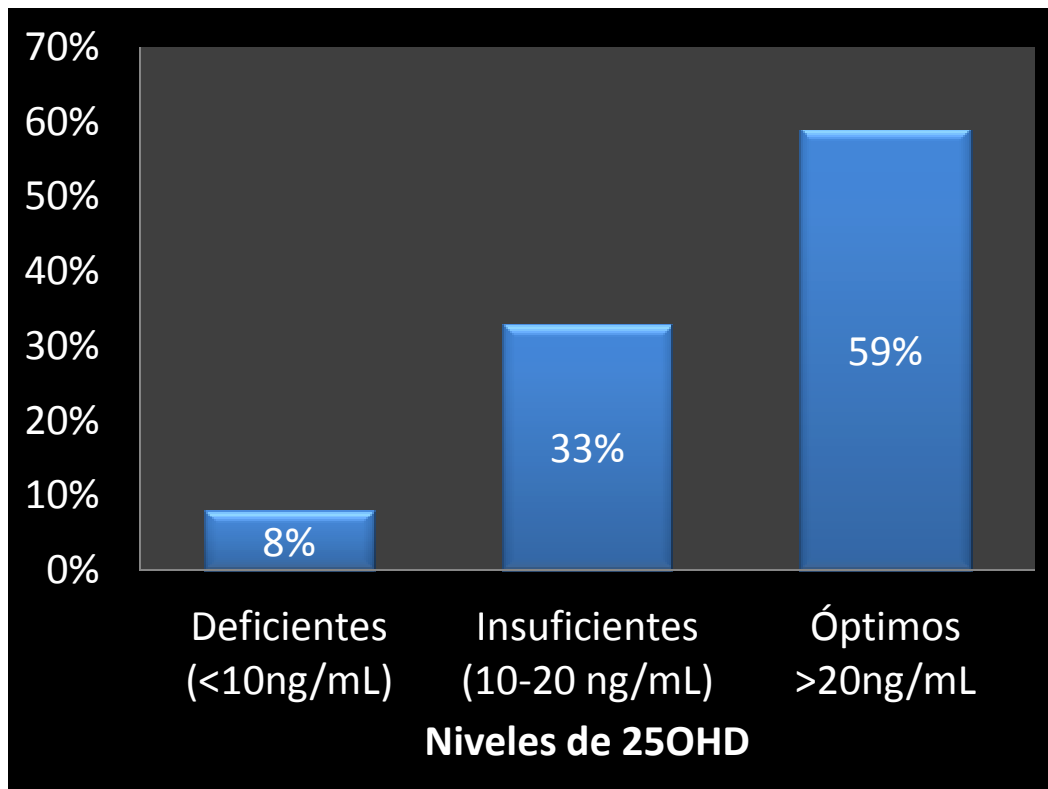


Figura 7

La Tabla 7 refleja el porcentaje de mujeres controles y suplementadas con vitamina D₃ con valores deficientes, insuficientes y óptimos de 25OHD en la semana 30 de gestación.

Tabla 7. Distribución de los niveles de 25OHD en suero de mujeres controles y suplementadas con vitamina D₃ en la semana 30 de gestación

	Grupo control	Grupo Vit D₃	Total
DEFICIENTES (< 10 ng/mL)	75.0% (n=73)	25.0% (n=25)	100% (n=98)
INSUFICIENTES (10-20 ng/mL)	56.2% (n=55)	43.8% (n=43)	100% (n=98)
ÓPTIMOS (> 20 ng/mL)	43.0% (n=42)	57.0% (n=56)	100% (n=98)

Prueba de la Chi-cuadrado de Pearson ($P \leq 0.165$)

Aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, se observa que en la semana 30, tras recibir la suplementación con colecalciferol desde la semana 20 de gestación, sólo un 25.0% de las mujeres presentaban niveles deficientes en el grupo suplementado frente al 75.0% en el grupo control. En cuanto a las pacientes que presentaban niveles insuficientes de vitamina D, dichos niveles fueron ligeramente superiores en el grupo control que en el grupo suplementado. Finalmente,

el porcentaje de pacientes que presentaban niveles óptimos de vitamina D fue mayor en el grupo suplementado que en el grupo control.

La Tabla 8 muestra relación existente entre la distribución de los porcentajes de mujeres controles con valores deficientes, insuficientes y óptimos de 25OHD en la semana 20 y 30 de gestación.

Tabla 8. Distribución de los porcentajes de mujeres del grupo control con valores deficientes, insuficientes y óptimos de 25OHD en la semana 20 y 30 de gestación

Niveles de 25OHD en la semana 30			
Niveles de 25OHD en la semana 20	DEFICIENTES (10 ng/mL)	INSUFICIENTES (10-20 ng/mL)	ÓPTIMOS (> 20 ng/mL)
DEFICIENTES (10 ng/mL) (n = 6)	83.3% (n = 5)	16.7% (n = 1)	0.0% (n = 0)
INSUFICIENTES (10-20 ng/mL) (n = 26)	3.8% (n = 1)	61.5% (n = 16)	34.6% (n = 9)
ÓPTIMOS (> 20 ng/mL) (n = 17)	0.0% (n = 0)	5.9% (n = 1)	94.1% (n = 16)

Prueba de la Chi-cuadrado de Pearson ($P \leq 0.01$).

De las 6 mujeres del grupo control que presentaban niveles deficientes de 25OHD en la semana 20 de gestación, 5 (83.3%) seguían presentando los mismos niveles deficientes en semana 30 de gestación. De las 26 mujeres que presentaban niveles insuficientes de 25OHD en semana 20, 16

(61.5%) de ellas los seguían presentando en semana 30. De las 17 mujeres del grupo control con niveles óptimos de 25OHD, 16 (94.1%) mujeres seguían con niveles óptimos de 25OHD y 1 (5.9%) mujer había pasado a tener niveles insuficientes en el grupo control.

La Tabla 9 muestra relación existente entre la distribución de los porcentajes de mujeres suplementadas con vitamina D con valores deficientes, insuficientes y óptimos de 25OHD en la semana 20 y 30 de gestación.

Tabla 9. Distribución de los porcentajes de mujeres suplementadas con vitamina D con valores deficientes, insuficientes y óptimos de 25OHD en la semana 20 y 30 de gestación

Niveles de 25OHD en la semana 30			
Niveles de 25OHD en la semana 20	DEFICIENTES (10 ng/mL)	INSUFICIENTES (10-20 ng/mL)	ÓPTIMOS (> 20 ng/mL)
DEFICIENTES (10 ng/mL) (n = 5)	20.0% (n = 1)	40.0% (n = 2)	40.0% (n = 2)
INSUFICIENTES (10-20 ng/mL) (n = 25)	4.0% (n = 1)	44.0% (n = 11)	52.0% (n = 13)
ÓPTIMOS (> 20 ng/mL) (n = 19)	0.0% (n = 0)	5.3% (n = 1)	94.7% (n = 18)

Prueba de la Chi-cuadrado de Pearson ($P \leq 0.01$).

De las 5 mujeres gestantes suplementadas con vitamina D₃ que presentaban unos niveles deficientes de 25OHD en suero en la semana 20, sólo un 20.0% de ellas (n = 1) seguía presentando unos niveles deficientes en la semana 30 de gestación. El resto incrementó los niveles de 25OHD, pasando a tener niveles insuficientes (40.0%; n = 2) o incluso óptimos (40.0%; n= 2) en la semana 30 de gestación.

De forma similar, de las 25 mujeres gestantes suplementadas con vitamina D que presentaban unos niveles insuficientes de 25OHD en suero en la semana 20, sólo un 44.0% (n = 11) de ellas mantenían unos niveles insuficientes en la semana 30 de gestación. Las otras mujeres presentaron unos niveles óptimos (52.0%, n = 13), aunque una mujer (4.0%), extrañamente, pasó a tener unos niveles deficientes de 25OHD.

Finalmente, prácticamente todas las 19 mujeres que presentaban unos niveles óptimos de 25OHD en la semana 20 (94.7%, n = 18) seguían mostrando estos niveles en la semana 30. Sólo una mujer (5.3%) pasó a tener unos niveles insuficientes en la semana 30 de gestación.

6.2.1 Niveles medios de 25OHD en suero

La Tabla 10 muestra los niveles de 25OHD en suero (ng/mL) de las mujeres gestantes según fuesen o no suplementadas con vitamina D.

Tabla 10. Niveles de 25OHD en suero (ng/mL) de las mujeres gestantes según fuesen o no suplementadas con vitamina D₃

	Grupo control	Grupo Vit D₃	P
SEMANA20	18.7 ± 1.3 ^a (4-45) ^b	18.6 ± 1.2 (3-36)	0.991
SEMANA30	20.9 ± 1.4 (3.1-41)	24.9 ± 1.3 (7.5-51.5)	0.049
COCIENTE SEMANA30/SEMANA20	1.1 ± 0.1 (0.4-2.3)	1.5 ± 0.1 (0.8-3.8)	0.004

^aMedia ± error estándar de la media

^bRango

Tal como puede observarse, no se encontraron diferencias significativas entre grupos en los niveles de 25OHD en suero en las semanas 20 de embarazo. No obstante, en la semana 30, el grupo suplementado con vitamina D presentó mayores ($P \leq 0.049$) niveles de 25OHD en suero. Este aumento quedó ratificado al comparar el cociente 25OHD semana 30/semana 20, el cual nos permite normalizar los valores de 25OHD en la

semana 30 según los valores basales en la semana 20. En este caso, el cociente fue significativamente ($P \leq 0.004$) mayor en el grupo de mujeres suplementadas con vitamina D.

6.3 ÁREA FÉMUR FETAL

En primer lugar, para iniciar el estudio del hueso fetal, llevamos a cabo en nuestro proyecto la medición del área del fémur del feto en su metáfisis distal que, cómo hemos comentado, es la que mejor refleja los procesos de crecimiento óseo fetal.

Los datos obtenidos se reflejan en la Tabla 11.

Tabla 11. Grosor fémur fetal (cm^2) medido por ecografía 3D en mujeres suplementadas o no con vitamina D_3

	Grupo control	Grupo Vit D_3	P
SEMANA20	0.26 ± 0.01^a (0.2-0.61) ^b	0.29 ± 0.01 (0.2-0.61)	0.04
SEMANA30	0.55 ± 0.02 (0.37-0.84)	0.62 ± 0.01 (0.41-0.86)	0.01
COCIENTE SEMANA30/SEMANA20	2.22 ± 0.09 (2.05-2.39)	2.20 ± 0.09 (2.03-2.37)	0.62

^aMedia \pm error estándar de la media

^bRango

En la tabla 11, se muestra que los valores del grosor del fémur en fetos procedentes del grupo de gestantes suplementadas con colecalciferol fueron significativamente mayores que los encontrados en el grupo control, tanto en la semana 20 como en la 30. La prueba de ANCOVA realizada mostró que la covariable “niveles de 25OHD en suero” no afectó los valores del grosor del fémur, tanto en la semana 20 como en la 30. Para corregir el efecto del índice óseo del fémur en la semana 20, realizamos otra prueba de ANCOVA con la variable dependiente “cociente entre el índice óseo del fémur en la semana 30 y el índice óseo del fémur en la semana 20”. Dicho análisis, mostró que el ni tipo de suplementación ni los niveles de 25OHD en suero afectaron significativamente el grosor del fémur.

6.4 ÍNDICE ÓSEO FETAL ECOGRÁFICO 3D

La Tabla 12 muestra los valores del índice óseo fetal (grosor femoral/longitud femoral) medido en ecografía 3D en fetos procedentes de mujeres suplementadas o no con vitamina D.

Tabla 12. Valores índice óseo fetal medido en ecografía 3D medido en fetos procedentes de mujeres suplementadas o no con vitamina D₃

	Grupo control	Grupo Vit D ₃	P
SEMANA20	0.07 ± 0.01 ^a (0.05-0.16) ^b	0.08±0.01 (0.05-0.15)	0.05
SEMANA30	0.11 ± 0.01 (0.07-0.16)	0.12±0.01 (0.08-0.17)	0.01
COCIENTE SEMANA30/SEMANA20	1.54 ± 0.06 (0.52-2.38)	1.54±0.06 (0.79-2.58)	0.89

^aMedia ± error estándar de la media

^bRango

En la tabla 12, se muestra que los valores del índice óseo en fetos procedentes del grupo de gestantes suplementadas con colecalciferol fueron significativamente mayores que los encontrados en el grupo control, tanto en la semana 20 como en la 30. La prueba de ANCOVA realizada mostró que la covariable “niveles de 25OHD en suero” no afectó los valores del

índice óseo, tanto en la semana 20 como en la 30. Para corregir el efecto del índice óseo del fémur en la semana 20, realizamos otra prueba de ANCOVA con la variable dependiente “cociente entre el índice óseo del fémur en la semana 30 y el índice óseo del fémur en la semana 20”. Dicho análisis, mostró que los efectos del tipo de suplementación y niveles de 25OHD en suero no fueron significativos.

6.5 VALORES DE CALCIO Y FÓSFORO EN SUERO

Es sabido que la suplementación con vitamina D podría producir una alteración en el metabolismo calcio-fósforo materno. (Holick et cols, 2006). Por este motivo, se llevó a cabo la determinación de dichos valores al final de la gestación.

La Tabla 13 muestra los valores de calcio y fósforo en suero en los grupos de mujeres controles y suplementadas con vitamina D medidas en la semana 35 de embarazo.

Tabla 13. Valores de calcio y fósforo en suero (mg/dl)

	n^a	Grupo control	n^a	Grupo Vit D₃	P
Calcio en suero	48	8.78 ± 0.04 ^b (8.1-9.7) ^c	48	8.77±0.03 (18-43)	0.8
Fósforo en suero	33	3.69 ± 0.07 (2.8-4.6)	27	3.81±0.07 (3.2-4.4)	0.3

^aNº de mujeres analizadas.

^bMedia ± error estándar de la media.

^cRango.

No se encontraron diferencias significativas en los niveles de estos marcadores en suero.

7 .DISCUSIÓN

En el presente estudio, se han evaluado los niveles de 25OHD en una población de mujeres gestantes, encontrándose una elevada prevalencia de niveles insuficientes. A partir de ello, hemos dividido a nuestra población de mujeres gestantes en dos grupos según dichas mujeres fuesen suplementadas o no con 800 UI de colecalciferol a partir de la semana 20.

Hemos diseñado una táctica aleatorizada, a fin de ganar evidencia en relación con nuestras conclusiones. Tras la suplementación, se analizaron los niveles sanguíneos de 25OHD en ambos grupos observándose un aumento significativo de dichos niveles en el grupo suplementado, lo que supuso que un mayor número de mujeres gestantes pasase a tener niveles óptimos de 25OHD en sangre.

Posteriormente, se llevó a cabo un análisis de los resultados obstétricos en ambos grupos, observándose sólo una tendencia, pero no diferencias significativas, hacia resultados más favorables en el grupo suplementado, traduciéndose concretamente en un discreto descenso de la tasa de cesárea por fracaso de inducción.

También investigamos, sin obtener diferencias entre grupos, si existían diferencias entre patologías obstétricas como la preeclampsia, la DM gestacional y el retraso de crecimiento intrauterino, donde se ha podido corroborar por la bibliografía existente hasta el momento la implicación de la vitamina D.

Por ejemplo, en la preeclampsia, se ha comprobado una incidencia mayor en la época de invierno cuando disminuyen los niveles de 25OHD en sangre materna. (Barret et al, 2010). Esta observación ha sido la base para la hipótesis que mantiene que el efecto inmunomodulador de la 25OHD está implicado en la patogénesis de la enfermedad; igualmente, la 25OHD es capaz de hidroxilar IGF-1, convirtiéndolo en su forma activa, lo que puede ser clave para el crecimiento fetal. Se ha estudiado que las pacientes con preeclampsia presentan un descenso de IGF-1 y 25OHD. In Vitro, se ha observado que, en mujeres control, la IGF-1 estimula la producción de 25OHD en células del sincitiotrofoblasto, acción que no ocurre en las placentas de pacientes con preeclampsia.

Ocurre lo mismo con la DM gestacional, pues se ha advertido mayor incidencia de la misma en las gestantes con niveles insuficientes de 25OHD. En tal sentido, se ha encontrado que la 25OHD presenta acción sobre las células B pancreáticas en la regulación de insulina; de forma directa, a través de su receptor en las células B pancreáticas y de forma indirecta, al regular la homeostasis del calcio, por lo que el déficit de 25OHD podría ser un factor de riesgo de intolerancia a glucosa y de DM gestacional. En estudios observacionales caso-control, se ha encontrado

que la suplementación de la vitamina D en el embarazo y en la infancia reduce la incidencia de DM tipo I en el niño (Michael et al., 2007).

Finalmente, la 25OHD se ha visto implicada en el crecimiento fetal encontrándose niveles de 25OHD disminuidos en las gestantes que presentan fetos con retraso de crecimiento intrauterino.

7.1 NIVELES DE 25OHD Y DE CALCIO EN SANGRE MATERNA

7.1.1 Niveles de 25OHD

Tal como muestra la literatura, nuestra población presentaba unos niveles medios insuficientes de 25OHD (18.7 ng/mL en el grupo suplementado vs 18.6 ng/mL en el grupo control), a pesar de pertenecer a una región con gran cantidad de horas solares y con una dieta muy variada.

Diversas revisiones bibliográficas sugieren que los niveles óptimos de 25OHD para conseguir resultados favorables durante el embarazo deben ser superiores a 20 ng/mL (Bischoff-Ferrari et al., 2006; De-Regil et al., 2012).

Este aspecto de nuestro proyecto está en consonancia con trabajos =de otros grupos de investigación internacionales. Por ejemplo, un artículo publicado por investigadores finlandeses (Viljakainen et al. 2011) ha medido los niveles de 25OHD en población gestante y ha analizado los resultados obstétricos tras el nacimiento. Estos investigadores han seguido al neonato desde el nacimiento hasta los 14 meses de vida. En este estudio, se llevó a cabo una suplementación postnatal con vitamina D, concluyendo

que ésta no es suficiente para eliminar las diferencias óseas de los recién nacidos que se han desarrollado en un ámbito con niveles de 25OHD < 20ng/mL. En base a estos hallazgos, remarcan la importancia que supone unos niveles óptimos de 25OHD durante la gestación. Estos hallazgos refuerzan el interés de nuestro estudio donde hemos pretendido investigar si la suplementación con vitamina D tiene impacto sobre el crecimiento óseo fetal.

Además de analizar los niveles medios en ambas poblaciones de estudio, se ha disgregado a nuestra población de mujeres gestantes en función del origen, étnico o sociocultural, obteniendo los niveles medios de 25OHD para 4 grupos diferentes: árabes, españolas, latinoamericanas y asiáticas. En concreto, las mujeres árabes fueron las que presentaron los niveles medios de 25OHD más bajos en suero (14.4 ng/mL en el grupo suplementado vs 11.8 ng/mL en el grupo control). Es probable que dicho resultado esté influido por el estilo de vida, tales como hábitos alimenticios (dieta rica en carne de cordero, menor ingesta de pescado, etc.), forma de vestir y vida centrada mayoritariamente en el interior del hogar.

Otros autores cómo Li et al. (2011) analizaron los niveles de 25OHD en sangre materna obteniendo niveles inferiores en la raza negra frente a la raza blanca. Estos autores llegaron a la conclusión que los complejos vitamínicos para el embarazo deberían ser suplementados con vitamina D.

Posteriormente, en el presente trabajo, analizamos los efectos de la suplementación con 800 UI de colecalciferol. En esta ocasión, encontrábamos un aumento significativo de los niveles sanguíneos de 25OHD en el grupo tratado. Esta respuesta hizo que un mayor número de gestantes pasase a tener niveles de 25OHD óptimos (> 20 ng/mL) en el 3º trimestre de gestación. (ver Tabla 8).

Otros autores también encuentran en publicaciones recientes que dosis en el rango de las 800-1000 UI de colecalciferol de nuestro estudio aumenta la proporción de gestantes con niveles óptimos (Grant et al., 2014). Finalmente, la guía de “UK National Institute for Health and Clinical Excellence” también refuerza nuestro estudio, ya que indica que los profesionales de la Salud deben investigar los niveles de 25OHD en mujeres gestantes y en madres lactantes, ya que la prevalencia de déficit de 25OHD es alta y se puede prevenir con suplementos de vitamina D.

7.1.2 Niveles de calcio

Los valores sanguíneos de calcio en nuestra población se encontraban dentro de rango de normalidad en ambos grupos. Hay consenso en que cuando los niveles de 25OHD son insuficientes en sangre materna sólo es absorbido el 10-15% del calcio y el 60% del fósforo a nivel óseo. Lo cual quiere decir que, sin niveles óptimos de 25OHD, no se consigue el desarrollo óseo adecuado a pesar de niveles normales de calcio y fósforo sanguíneos, aunque desconocemos si esto es así en el feto.

Cuando los niveles de 25OHD en sangre son óptimos la absorción intestinal de calcio se incrementa entre un 30-40% y la de fósforo alrededor de una 80%. Sin embargo, desconocemos si todo esto es así en el embarazo.

En este sentido, en nuestro trabajo hemos analizado los niveles sanguíneos de calcio y fósforo con el fin de ver si la suplementación con vitamina D repercute sobre los mismos. No hemos encontrado diferencias significativas entre los dos grupos, lo que abre la puerta a considerar que, o bien la dosis usada fue algo baja, o bien la suplementación precisa de otros requerimientos en el caso de la gestación. Es interesante que, a pesar del incremento en la volemia materna durante la gestación, los incrementos en

25OHD circulantes si están en el rango conseguido en no gestantes al usar esa misma dosis.

Por tanto, como hallazgo interesante, los incrementos en vitamina D conseguidos no se tradujeron en incrementos de la calcemia. Esto no ocurre, según la literatura, cuando se usan dosis más altas. Por ejemplo, Hashemipour et al. (2013) suplementaron a mujeres gestantes con 400 UI el grupo control y 50000 UI a su grupo de intervención. Encontraron unos niveles de calcio en sangre materna significativamente superiores en el grupo tratado frente al grupo control. Aunque el uso de dosis inferiores en nuestro estudio explica la diferencia, esto no es así en lo que respecta a mujeres no gestantes. Una posibilidad estriba en el aumento de la volemia que supone el embarazo en sí mismo, pero la aclaración de esta cuestión requiere más investigación.

La ausencia de un efecto en la calcemia genera cuestiones acerca del posible mecanismo por el que la vitamina D tendría algún efecto sobre el crecimiento del hueso fetal. Hay que suponer que es directamente el paso trasplacentario aumentado, que generaría niveles más altos de vitamina D en la circulación fetal. La forma en que esto se tradujese en un incremento en el crecimiento del feto es objeto de especulación y merece ser adecuadamente estudiado. Una línea de trabajo sobre modelos animales

sería ahí más informativa, pues permitiría manipulaciones cuyo efecto podría ser medido a nivel de indicadores intermedios y finales.

7.2 RESULTADOS OBSTÉTRICOS

Puesto que algunos autores sostienen que hay una relación entre los niveles circulantes de 25OHD y algunas patologías de la gestación, clínicamente cómo son la preeclampsia, DM gestacional y RCIU, investigamos si la insuficiencia en los niveles de 25OHD influyen en esas patologías obstétricas.

Bodnar et al. (2010) encontraron diferencias significativas en cuanto a resultados obstétricos desfavorables (preeclampsia, RCIU y DM gestacional) en EEUU entre dos grupos de mujeres gestantes (negras y blancas no sudamericanas) en función de sus concentraciones de 25OHD en sangre materna. Estos autores encontraron en su revisión bibliográfica que la prevalencia más elevada de déficit de 25OHD en mujeres de raza negra frente a la raza blanca se correlacionaba con resultados perinatales adversos en estas mujeres. En la conclusión de su revisión bibliográfica,

remarcaron que se requieren estudios de intervención que hagan más patentes estas diferencias.

En nuestro trabajo no encontramos diferencias significativas entre los dos grupos en incidencia de preeclampsia y RCIU, quizás debido al relativo bajo tamaño muestral analizado, pues el estudio no tenía poder suficiente para este planteamiento.

Una revisión bibliográfica de diversos estudios observacionales y ensayos randomizados y controlados ha sugerido que la suplementación con vitamina D podría estar indicada para reducir las tasas de preeclampsia. Los motivos para ello son variados, entre ellos el papel de la 25OHD en la regulación de genes placentarios que podrían estar implicados en la cascada de la patogénesis de dicha enfermedad.

También, han implicado a la deficiencia de vitamina D en tasas de cesárea. Los autores mantienen que, teniendo en cuenta que son muchos los países, entre ellos EEUU y Reino Unido, que presentan una prevalencia considerable (entre el 7-18%) de niveles deficientes de 25OHD, podríamos estar hablando de un problema de salud pública (Bowyer et al., 2010). En otro estudio, Scholl et al. (2012) reflejan que los niveles insuficientes de

25OHD en sangre materna, es decir, inferiores a 20 ng/mL, se asocian con el doble de riesgo de finalizar el embarazo con cesárea.

En base a ello, hemos analizado la vía de finalización del embarazo, ya que los niveles de 25OHD en sangre materna están relacionados con la contractibilidad muscular. Hemos observado una incidencia de cesárea más elevada en el grupo control que en el grupo de intervención, aunque las diferencias no fueron significativas. Por ello, podríamos hablar de una tendencia mayor en el grupo control no suplementado (Tabla 4).

Otro de los objetivos analizados incluye a la edad gestacional en el momento del parto. El interés es obvio, ya que la prematuridad implica una mayor morbilidad y mortalidad fetal. La base para este planteamiento estriba en hallazgos publicados por otros autores. Por ejemplo, Krohn et al. (2010) observaron la incidencia de parto pretérmino con respecto a la estación del año. Encontraron un descenso en la época de verano, tal vez en relación con mayores niveles de 25OHD. De acuerdo con ello, Simhan et al. (2010) describen que los niveles óptimos de 25OHD en sangre materna actúan como efecto protector en el riesgo de parto pretérmino, gracias a la acción inmunomoduladora y antiinflamatoria que presenta la vitamina D. Ese efecto inmunomodulador, sugieren los autores, incrementaría la síntesis de Interleuquina 6 (IL-6), Interleuquina 1 (IL-1) y

Factor de Necrosis Tumoral α (TNF- α), reduciendo así la posibilidad de contaminación por patógenos del tracto genital femenino.

En nuestros datos no aparecen diferencias significativas entre ambos grupos, lo que muy probablemente está determinado por el tamaño de nuestra cohorte, insuficiente para detectar este posible efecto.

7.3 IMPLICACIONES SOBRE EL HUESO FETAL

7.3.1 Área femoral

Un aspecto clave de nuestro trabajo ha sido medir cuál es el impacto de la suplementación con vitamina D₃ sobre el crecimiento óseo fetal. Para ello, seleccionamos la dosis de 800 UI/día, no habitual en este tipo de literatura, aunque sí estandarizada en los tratamientos de osteoporosis del adulto. El impacto en el embarazo, por consiguiente, era de particular interés, pues a la escasez de estudios de intervención con vitamina D₃, se sumaba la singularidad de la dosis elegida. Para evaluar el efecto sobre el hueso fetal, llevamos a cabo la medición del área femoral distal y el índice óseo femoral fetal, que reproducen con buena fiabilidad el crecimiento óseo fetal.

En nuestro trabajo, se determinó el área femoral distal en la semana 20 en ambos grupos antes del inicio de la suplementación y en la semana 30 de gestación tras 10 semanas de tratamiento. Encontramos que el área femoral fue superior en el grupo suplementado frente al grupo control, tanto en la semana 20 como en la semana 30. Para corregir el efecto de la semana 20 se analizó el cociente entre el grosor del fémur en la semana 30 y el grosor del fémur en la semana 20, no encontrándose diferencias significativas entre los dos grupos de tratamiento. La covariable “niveles de

25OHD en suero” tampoco afecto el cociente entre el grosor del fémur en la semana 30/semana 20. Esto nos indica que ni la suplementación con vitamina D₃ ni los niveles de 25OHD en suero afectan al grosor del fémur, quizás debido a que utilizamos la dosis mínima eficaz de 800 UI para la suplementación. No obstante, otros estudios muestran que la exposición fetal a una dosis baja de 25OHD durante la vida intrauterina puede determinar el crecimiento óseo del hueso del fetal y sus niveles de 25OHD en sangre en la etapa de vida adulta (Javaid et al., 2011).

Mahon et al. (2010) obtuvieron una correlación positiva entre el área de fémur distal en las semanas 19 y 34 con los niveles de 25OHD circulantes en sangre materna, obteniendo diferencias significativas ($P \leq 0.002$ y $P \leq 0.05$, respectivamente).

Se sabe que la relación entre valores del área distal femoral del feto y niveles deficientes de 25OHD en sangre materna se asocian con trastornos tan graves en la infancia como raquitismo y osteoporosis craneal congénita (craneotabes) (Hollis et al., 2011).

7.3.2 Índice óseo femoral

Al igual que en el análisis del grosor de fémur, encontramos que el índice óseo femoral fetal fue superior en el grupo suplementado frente al grupo control, tanto en la semana 20 como en la semana 30. Tras corregir el efecto de la semana 20, no se encontraron diferencias significativas en el cociente “índice óseo fetal en la semana 30/semana 20” entre los dos grupos de tratamiento. La covariable “niveles de 25OHD en suero” tampoco afectó el índice óseo fetal. Esto nos indica que ni la suplementación con vitamina D₃ ni los niveles de 25OHD en suero afectan al índice óseo fetal, quizás, como en el caso anterior del área femoral, debido a que utilizamos la dosis mínima eficaz de 800 UI para la suplementación.

Este resultado sugiere que los niveles de 25OHD en sangre materna no son buenos predictores del valor del índice óseo femoral fetal, es decir, no se relacionan con el valor del mismo. No nos podemos olvidar que son muchos los parámetros que influyen en el metabolismo óseo fetal, incluyendo los factores genéticos de los padres. Es decir, parámetros antropométricos maternos y paternos como la altura de la madre y/o del padre podrían influir en la longitud femoral del feto (Holick et al., 2011).

Mahon et al. (2010) realizaron la medición de dicho índice en las semanas 19 y 34 de embarazo, encontrando diferencias significativas al relacionarlo con los niveles de 25OHD en sangre materna, tanto en la semana 19 ($P \leq 0.001$) como en la semana 34 ($P \leq 0.03$).

En el presente estudio, utilizamos un método simple para valorar el estado femoral a través del índice óseo fetal mediante ecografía 3D. Esta medida no incluye sólo la longitud femoral sino también su área de sección. Para evitar el error intra-observador, se realizaron tres mediciones del área femoral porque, a veces, esta área es difícil de medir, intentando obtener un valor más preciso del índice femoral óseo.

Aunque, en nuestro estudio, el efecto de la 25OHD sobre el hueso no fue estadísticamente significativo, sin duda alguna, la ecografía 3D es un método simple y seguro para estudiar el fémur fetal y muy bien aceptado por las mujeres gestantes. Por ello, se podría usar como método para investigar el fémur fetal.

8. CONCLUSIONES

A la vista de los resultados obtenidos, se concluye que:

1. Existe un déficit de niveles de 25OHD en sangre en la población de mujeres gestantes analizada. Además, al dividir a nuestra población gestante según los orígenes socioculturales o étnicos, se observaron los niveles más bajos de 25OHD en las mujeres de origen árabe.
2. La suplementación con 800 UI de colecalciferol desde la semana 20 hasta el final del embarazo:
 - a) Incrementa significativamente los niveles de 25OHD en sangre, según muestra la ratio entre niveles previos y los conseguidos con la suplementación.
 - b) No modifica los niveles circulantes de calcio o fósforo.
 - c) Los niveles de 25OHD circulantes en sangre materna no han influenciado cambios en el área femoral fetal ni en el índice óseo de los fetos en la semana 30.
 - d) No afecta a la incidencia de preeclampsia, retraso de crecimiento intrauterino, DM gestacional, o vía del parto.

9. BIBLIOGRAFÍA

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: 80-90.

Adams JS, Liu PT, Chun R, Modlin RL, Hewison M. Vitamin D in defense of the human immune response. *Ann NY Acad Sci* 2007; 1117:94-105.

Barrett H, McElduff A. Vitamin D and pregnancy: An old problem revisited. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2010; 24: 527-39.

Bikle DD, Teichert A, Arnold LA, Uchida Y, Elias PM, Oda Y. Differential regulation of epidermal function by VDR coactivators. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010;121: 308-13.

Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willet WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr* 2006; 84: 18-28.

Bodnar LM, Simhan HN, Powers RW, Frank MP, Cooperstein E, Roberts JM. High prevalence of vitamin D insufficiency in black and white

pregnant women residing in the northern United States and their neonates. *J Nutr.* 2007;137:447-52.

Bodnar LM, Catov JM, Zmuda JM, Cooper ME, Parrott MS, Roberts JM, et al. Maternal serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with small-for-gestational age births in white women. *Journal of Nutrition.* 2010;140(9):999–1006.

Brown AJ, Dusso A, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol.* 1999; 277:157-75.

Choi M, Makishima M. Therapeutic applications for novel non-hypercalcemic vitamin D receptor ligands. *Expert Opin Ther Pat* 2009; 19: 593-606.

Cooper C, Harvey N, Cole Z, Hanson M, Dennison E. Developmental origins of osteoporosis: the role of maternal nutrition. *Adv Exp Med Biol.* 2009; 646: 31-9.

Cozzolino M, Lu Y, Finch J, Slatopolsky E, Dusso AS. p21^{WAF1} and TGF- α mediate parathyroid growth arrest by vitamin D and high calcium. *Kidney Int.* 2001; 60: 2109-17.

Cozzolino M, Lu Y, Sato T, Yang J, Suarez IG, Brancaccio D, Slatopolsky E, Dusso AS. A critical role for enhanced TGF- α and EGFR expression in the initiation of parathyroid hyperplasia in experimental kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005; 289: F1096-102.

- Cross NA, Hillman LS, Allen SH, Krause GF, Vieira NE. Calcium homeostasis and bone metabolism during pregnancy, lactation, and postweaning: a longitudinal study. *Am J Clin Nutr.* 1995;61:514-23
- Dawodu A, Wagner CL. Mother-child vitamin D deficiency: an international perspective. *Arch Dis Child.* 2007;92(9):737-40.
- Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nat Rev Cancer* 2007;7:684-700.
- DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr.* 2004;80(6 Suppl):1689S-96S.
- De-Regil LM, Palacios C, Ansary A, Kulier R, Peña-Rosas JP. Vitamin D supplementation for women during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012; 2: CD008873.
- Evans KN, Nguyen L, Chan J, Innes BA, Bulmer JN, Kilby MD, Hewison M. Effects of 25-hydroxyvitamin D₃ and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on cytokine production by human decidual cells. *Biol Reprod.* 2006; 75: 816-22.
- Farrell T, Leslie JR, Chien PF, Agustsson P. The reliability and validity of three dimensional ultrasound volumetric measurements using an in vitro balloon and in vivo uterine model. *BJOG.* 2001;108:573-82.

Galthen-Sorensen M, Andersen LB, Sperling L, Christesen HT.: Maternal 25-Hydroxyvitamin D level and fetal growth assessed by ultrasound: a systematic review. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014; 1002.

Gartner LM, Greer FR. Prevention of rickets and vitamin D deficiency: new guidelines for vitamin D intake. *Pediatrics*. 2003; 111: 908–10.

Grant CC, Stewart AW, Scragg R, Milne T, Rowden J, Ekeroma A et al. Vitamin D during pregnancy and infancy and infant serum 25-hydroxyvitamin D concentration. *Pediatrics*. 2014 ;133(1): e143-53.

Griffin MD, Lutz W, Phan VA, Bachman LA, McKean DJ, Kumar R. Dendritic cell modulation by 1 alpha,25 dihydroxyvitamin D₃ and its analogs: a vitamin D receptor- dependent pathway that promotes a persistent state of immaturity in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98: 6800-6805.

Guyton KZ, Kensler TW, Posner GH. Cancer chemoprevention using natural vitamin D and synthetic analogs. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2001; 41: 421-42.

Haddow JE, Neveux LM, Palomaki GE, Lambert-Messerlian G, Canick JA, Grenache DG. The relationship between PTH and 25-hydroxy vitamin D early in pregnancy. *Clin Endocrinol*. 2011; 75: 309-14.

- Halhali A, Díaz L, Sánchez I, Garabédian M; Bourges H, Larrea F. Effects of IGF-I on 1,25-dihydroxyvitamin D₃ synthesis y human placenta in culture. *Mol Hum Reprod.* 1999; 5: 771-6.
- Halhali A, Tovar AR, Torres N, Bourges H, Garabedian M, Larrea F. Preeclampsia is associated with low circulating levels of insulin-like growth factor I and 1,25-dihydroxyvitamin D in maternal and umbilical cord compartments. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:1828-1833.
- Harvey NC, Holroyd C, Ntani G, Javaid K, Cooper P, Moon R et al. Vitamin D supplementation in pregnancy: a systematic review. *Health Technol Assess.* 2014 ;18(45):1-190.
- Hart, G.R. Overview of vitamin D measurement and methodologies. *Immunodiagnostic Systems (IDS).* 2005;2:1-9. "Review Series".
- Hashemipour S, Lalloo F, Zahir Mirdamadi S, Ziaee A, Dabaghi Ghaleh T. Effect of vitamin D administration in vitamin D-deficient pregnant women on maternal and neonatal serum calcium and vitamin D concentrations: a randomised clinical trial. *Br J Nutr.* 2013;14;110(9):1611-16.
- Haugen M, Brantsaeter AL., Trogstad L, Alexander J, Roth C, Magnus P, Meltzer HM. Vitamin D supplementation and reduced risk of preeclampsia in nulliparous women. *Epidemiology.* 2009;20: 720-26.

Heany RP, Dowell MS, Hale CA, Bendich A. Calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxivitamin D. *J AM Coll Nutr.* 2003;22:142-6.

Hofmeyr G, Belizán J, Von Dadelszen P: Low-dose calcium supplementation for preventing pre-eclampsia: a systematic review and commentary. *BJOG* 2014; 121: 951-7.

Holick MF, Garabedian M, Favus MJ. Vitamin D: photobiology, metabolism, mechanism of action, and clinical applications, in *Primer on the metabolic bone diaseases and disorders of mineral metabolism.* American Society for Bone and Mineral Research. 2006;129-37.

Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest.* 2006;116:2062-72.

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

Holick MF, Sins ES, Binkley N, Beard MK, Khan A, Katzer JT, Petruschke RA, Che E, De Papp AE. Prevalence of Vitamin D inadequacy among postmenopausal North American women receiving osteoporosis therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90: 3215-24.

Holick MF. Vitamin D and health: Evolution, biologic functions, and recommended dietary intakes for vitamin D. *Clin. Rev. Bone Miner. Metab.* 2009;7:2-19.

- Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency. An endocrine society clinical practice guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2011;96:1911–30
- Hollis BW, Wagner CL. Assessment of dietary vitamin D requirements during pregnancy and lactation. *Am J Clin Nutr.* 2004;79:717-26
- Hyppönen E.: Vitamin D for the prevention of preeclampsia? A hypothesis. *Nutr Rev* 2005; 63: 225-32.
- Javaid MK, Crozier SR, Harvey NC, Gale CR, Dennison EM, Boucher BJ, Arden NK, Godfrey KM, Cooper C. Maternal vitamin D status during pregnancy and childhood bone mass at age 9 years: a longitudinal study. *Lancet* 2006;367:36-43.
- Joergensen JS, Lamont RF, Torloni MR.: Vitamin D and gestational diabetes: an update. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2014; 17(4): 360-7.
- Jones G. Phosphorus metabolism and management in chronic kidney disease: Expanding role for vitamin D in chronic kidney disease. Importance of blood 25-OH-D levels and extra-renal 1 α -hydroxylase in the classical and nonclassical actions of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃. *Semin. Dial.* 2007;20:316–32.
- Joong Sik Shin, Mee Yun Choi, Mark S, Michael Nelson D. Vitamin D effects on pregnancy and the placenta. *Placenta* 2010; 31: 1027-1034.

- Kaludjerovic J; Vieth R. Relationship between vitamin D during perinatal development and health. *J Midwifery Womens Health* 2010; 55:550-60.
- Kaloczi LD, Deneris A.: Rate of low vitamin D levels in a low-risk obstetric population. *J Midwifery Womens Health* 2014; 13.
- Karatekin G, Kaya A, Salihoglu O, Balci H, Nuhoglu A. Association of subclinical vitamin D deficiency in newborns with acute lower respiratory infection and their mothers. *Eur J Clin Nutr* 2009; 63:473-7.
- Kinney DK, Teixeira P, Hsu D, Napoleon SC, Crowley DJ, Miller A, Hyman W, Huang E. Relation of schizophrenia prevalence to latitude, climate, fish consumption, infant mortality, and skin color: a role for prenatal vitamin d deficiency and infections. *Schizophr Bull* 2009;35: 582-95
- Kirby BJ, Karaplics AC, Kovacs CS. Calcitriol increases during pregnancy and bone formation upregulates post-lactation without parathyroid hormone. *Bone* 2011; 48:101-2.
- Kovacs CS. Maternal vitamin D deficiency: Fetal and neonatal implications. *Semin Fetal Neonatal Med* 2013;18:129-35.
- Ladhani S, Srinivasan L, Buchanan C, Allgrove J. Presentation of vitamin D deficiency. *Arch Dis Child* 2004;89(8):781-4.

- Lapillonne A. Vitamin D deficiency during pregnancy may impair maternal and fetal outcomes. *Med Hypotheses*.2010;74:71-5.
- Lappe JM, Travers-Gustafson D, Davies KM, Recker RR, Heaney RP. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr*. 2007; 85: 1586-91.
- Laverny G, Penna G, Vetrano S, Correale C, Nebuloni M, Danese S. Efficacy of a potent and safe vitamin D receptor agonist for the treatment of inflammatory bowel disease. *Immunol Lett*. 2010; 131:49-58.
- Lee JM, Smith JR, Philipp BL, Chen TC, Mathieu J, Holick MF. Vitamin D deficiency in a healthy group of mothers and newborn infants. *Clin Pediatr (Phila)*. 2007; 46:42-4.
- Li W, Green TJ, Innis SM, Barr SI, Whiting SJ, Shand A, Von Dadelszen P. Suboptimal vitamin D levels in pregnant women despite supplement use. *Can J Public Health*. 2011;102(4):308-12.
- Lips, P. Vitamin D physiology. *Progress in Biophysics & Molecular Biology*. 2006;92(1):4-8.
- Litonjua AA, Weiss ST. Is vitamin D deficiency to blame for the asthma epidemic. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;120:1031-5.
- Liu N, Kaplan AT, Low J, Nguyen L, Liu GY, Equils O, Hewinson M. Vitamin D induces innate antibacterial responses in human

trophoblasts via an intracrine pathway. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92: 3517-22.

Liu PT, Stenger S, Tang DH, Modlin RL, Cutting E. Vitamin D mediated human antimicrobial activity against *Mycobacterium tuberculosis* is dependent on the induction of cathelicidin. *J Immunol* 2007; 179: 2060-3.

Mahon P, Harvey N, Crozier S, Inskin H, Robinson S, Arden N et al. Low maternal vitamin D status and fetal bone development cohort study. *J Bone Miner Reso.* 2010; 25: 11-3.

Maghaboli Z, Hossein-Nezhad A, Karimi F, Shafaei AR, Larijani B. Correlation between vitamin D₃ deficiency and insulin resistance in pregnancy. *Diabetes Metab Res Rev.* 2008;24:27-32.

Mannion CA, Gray-Donald K, Koski KG. Association of low intake of milk and vitamin D during pregnancy with decreased birth weight. *CMAJ* 2006;174(9):1273-7.

Martial J, Plourde V, Gascon-Barre M.: Sequestration of 3H-vitamin D₃ by the fetal and neonatal liver. *Biol Neonate.* 1985;48:21-28.

Martínez M, Luque de Castro M, Gámiz-Gracia L. Determinaciones de la vitamina D en suero. Metodología e indicaciones. Hipovitaminosis D en España. Madrid: FHOEMO, 2000; 55-63.

Martineau AR, Wilkinson KA, Newton SM, Floto RA, Norman AW, Skolimowska K, Davidson RN, Sørensen OE, Kampmann B, Griffiths CJ, Wilkinson RJ. IFN-gamma- and TNF-independent vitamin D-inducible human suppression of mycobacteria: the role of cathelicidin LL-37. *J Immunol.* 2007;178:7190-8.

Marwaha RK, Tandon N, Reddy DR, Aggarwal R, Singh R, Sawhney RC, Saluja B, Ganie MA, Singh S. Vitamin D and bone mineral density status of healthy schoolchildren in northern India. *Am J Clin Nutr* 2005; 82:477-82.

McKinney K, Breitkopf CR, Berenson AB. Association of race, body fat and season with vitamin D status among young women: a cross-sectional study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008; 69:535-41.

Merewood A, Mehta SD, Chen TC, Bauchner H, Holick MF. Association between vitamin D deficiency and primary cesarean section. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94:940-5.

Michael F, Holick MD, Ph D. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007;357:266-81.

Mizwicki MT, Norma AW. The vitamin D sterol vitamin D receptor ensemble model offers unique insights into both genomic and rapid-response signaling. *Sci Signal* 2009.

- Mulligan ML, Felton SK, Riek AE, Bernal-Mizrachi C. Implications of vitamin D deficiency in pregnancy and lactation. *Am J Obstet Gynecol* 2010; 167: 1945-53.
- Nagpal S, Na S, Rathnachalam R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. *Endocr Rev* 2005; 26: 662-87.
- Norman A.W, Sadler, M.J.; Strain, J.J.; Caballero, B. Cholecalciferol. Physiology. *Encyclopedia of Human Nutrition*. Academic Press. 2003; 1213-20.
- Novakovic B, Sibson M, Ng HK, Manuelpillai U, Rakyan V, Down T, Beck S, Fournier T, Evain-Brion D, Dimitriadis E, Craig JM, Morley R, Saffery R. Placenta-specific methylation of the vitamin D 24-hydroxylase gene: implications for feedback autoregulation of active vitamin D levels at the fetomaternal interface. *J Biol Chem*. 2009; 284:14838-48.
- Payá A, Rueda C, Castillo MT, Carreras R. Vitamina D y embarazo. *Ginecología y Obstetricia Clínica*. 2009;10(3):175-9.
- Perez-Llamas F, Lopez-Contreras MJ, Blanco MJ, Lopez-Azorin F, Zamora S, Moreiras O. Seemingly paradoxical seasonal influences on vitamin D status in nursing-home elderly people from a Mediterranean area. *Nutrition* 2008;24:414-20.

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

Pospechova K, Rozehnal V, Stejskalova L, Vrzal R, Pospisilova N, Jamborova G et al. Expression and activity of vitamin D receptor in the human placenta and in choriocarcinoma. BeWo and JEG-3 cell lines. *Mol Cell Endocrinol* 2009; 299:178-87.

Quesada Gómez JM, Díaz Curiel M. Vitamin D Deficiency and Consequences for the Health of People in Mediterranean Countries (capítulo 23). En: Holick MF (Editor). *Nutrition and Health: Vitamin D*. Nueva York. Ed. Humana Press (Springer Science+Business Media, LLC). 2010; 303-9

Rapado A, Díaz , M. Metabolismo de la vitamina D. Hipovitaminosis D en España. Madrid: FHOEMO. 2000; 1-13.

Saraceno R, Gramiccia T, Frascione P, Chimenti S. Calcipotriene/betamethasone in the treatment of psoriasis: a review article. *Expert Opin Pharmacother*. 2009; 10: 2357-65.

Scholl TO, Chen X, Stein P. Maternal vitamin D status and delivery by cesarean. *Nutrients*. 2012;4(4): 319-30.

- Shin JS, Choi MY, Longtine MS, Nelson DM. Vitamin D effects on pregnancy and the placenta. *Placenta*. 2010; 12: 1027-1034.
- Specker B. Vitamin D requirements during pregnancy. *Am J Clin Nutr*. 2004;80(Suppl 6):1740S-47S.
- Sutton AL., MacDonald PN. Vitamin D: more than a “Bone-a-Fide” hormone. *Mol Endocrinol*.2003;17:777-91.
- Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Dietary reference intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride. 1999. Washington DC: National Academy of Press; 250-87.
- Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington DC: National Academy Press; 2010.
- Taniguchi M, TokumotoM, TsuruyaK, Hirakata H, Iida M. Intravenous calcitriol therapy in an early stage prevents parathyroid gland growth. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 3662-69.
- Taymans SE, Pack S, Pak E, Orban Z, Barsony J, Zhuang Z, Stratakis CA. The human vitamin D receptor gene (VDR) is localized to region 12cen-q12 by fluorescent in situ hybridization and radiation hybrid mapping: genetic and physical VDR map. *J Bone Miner Res* 1999; 14:1163-6.

Thone-Lyman A, Fawzi WW. Vitamin D during pregnancy and maternal, neonatal and infant health outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Pediatr Perinatal Epidemiol* 2012; 26:75-90.

Vaquero Rodrigo , M.P. : García Arias, M.T.: García Fernández, M. C. *Nutrición en la gestación y lactación. Nutrición y Dietética. León: Universidad de León, 2003; p. 237-46.*

Van Hoof HJ, de Sévaux RG, van Baelen H. Relationship between free and total 1,25-dihydroxyvitamin D in conditions of modified binding. *Eur J Endocrinol* 2001; 144:391-6.

Varshney S, Bhadada SK, Saikia UN, Sachdeva N, Behera A, Arya AK, Sharma S, Bhansali A, Mithal A, Rao SD.: Simultaneous expression analysis of vitamin D receptor, calcium-sensing receptor, cyclin D1, and PTH in symptomatic primary hyperparathyroidism in Asian Indians. *Eur J Endocrinol.* 2013; 169:109-16.

Viljakainen HT, Korhonen T, Hytinentti T, Laitinen EKA, Andersson S, Mäkitie O, Lamberg-Allardt C. Maternal vitamin D status affects bone growth in early childhood—a prospective cohort study. *Osteoporos Int.* 2011; 22(3): 883–91.

- Wang Y, Zhu J, DeLuca HF. Where is the vitamin D receptor? Arch Biochem Biophys 2012 ; 523:123-33.
- Wang G, Zhang Q, Xu N, Xu K, Wang J, Wei H, Yang T. Associations between two polymorphisms of vitamin D receptor gene and type 1 Diabetes Mellitus in Asian Population: a metaanalysis. PLOSone.2014;9:1-6.
- Weaver CM.: Vitamin D, calcium homeostasis, and skeleton accretion in children. J Bone Miner Res 2007; 22: 45–49.
- Weisman Y, Harell A, Edelstein S, David M, Spirer Z, Golander A.: 1 alpha,25-Dihydroxyvitamin D₃ and 24,25-dihydroxyvitamin D₃ in vitro synthesis by human deciduas and placenta. Nature 1979; 281: 317-9.
- Wharton B, Bishop N, Rickets. Lancet 2003; 362:1389-1400.
- Wjst M.: Maternal vitamin D status and childhood bone mass. Lancet. 2006;367:1316-7.
- Yorifuji J, Yorifuji T, Tachibana K, Nagai S, Kawai M, Momoi T, Nagasaka H, Hatayama H, Nakahata T. Craniotabes in normal newborns: the earliest sign of subclinical vitamin D deficiency. J Clin Endocrinol Metab 2008; 93: 1784-8.
- Young BE, Cooper EM, McIntyre AW, Kent T, Witter F, Harris ZL, O'Brien KO. Placental vitamin D receptor (VDR) expression is related to neonatal vitamin D status, placental calcium transfer, and

fetal bone length in pregnant adolescents. *FASEB J.* 2014
May;28(5):2029-37.

Zhang C, Qiu C, Hu FB, David RM, van Dam RM, Bralley A, Williams
MA. Maternal plasma 25-hydroxyvitamin D concentrations and the
risk for gestational diabetes mellitus. *PLoS One* 2008; 3:3753.

10 .ANEXO

HOJA DE INFORMACIÓN A LA PACIENTE

Se le ofrece la posibilidad de participar en el proyecto de investigación titulado **“PAPEL DE LA VITAMINA D DURANTE EL EMBARAZO: SU INFLUENCIA EN LA ETAPA FETAL”** que está siendo realizado por el Dra.Sabonet del Servicio de Ginecología y que ha sido ya evaluado y aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital DrPeset Universitario de Valencia.

¿Cuál es el objetivo de este estudio?

La vitamina D es generada en la placenta y la síntesis de su forma activa está aumentada en el embarazo. La vitamina D influye en la absorción del calcio por el intestino, y se requiere un mínimo necesario para garantizar una calcificación adecuada del hueso. Los estudios actuales, incluidos algunos en población española, muestran que hay diferencias entre los niveles de vitamina D en la sangre de las mujeres sanas. Esto ocurre a pesar de que sus huesos estén mineralizados de forma adecuada. A raíz de esa variabilidad, sin embargo, algunas mujeres reciben de sus médicos o matronas, además de las vitaminas habituales, suplementos de vitamina D. A fecha actual., se sabe que la suplementación con vitamina D en las dosis empleadas en clínica no genera perjuicios, pero se desconoce si aporta o no algún beneficio. Indicios procedentes de algunos estudios han llevado a

suponer que la suplementación con vitamina D pueda asociarse con mejoras en el crecimiento fetal., el metabolismo óseo materno, e incluso sobre el éxito para parto vaginal., pero esto no está probado.

En este estudio pretendemos aclarar si la vitamina D tiene o no un papel en los parámetros maternos y fetales antes comentados.

¿Por qué se le ha pedido que participe?

Se le pide su participación en este estudio ya que cumple criterios para ser incluida.

¿En qué consiste su participación? ¿Qué tipo de pruebas o procedimientos se le realizarán?

Se le solicita permiso para conocer el estado del metabolismo de sus huesos a través de la medida de una serie de parámetros en las muestras de sangre que regularmente le tomemos durante el embarazo. Entre estos parámetros se incluirá la vitamina D. El número de tomas de sangre será el mismo que en cualquier caso le realizaremos por protocolo, pues es el estipulado para el control regular de las gestantes.

Igualmente, se realizará una extracción de sangre del cordón umbilical en el momento del parto a fin de evaluar los mismos parámetros en sangre del recién nacido.

También se le realizará una ecografía 3D para medir la densidad ósea del fémur, uno de los huesos fetales. Igualmente, le solicitamos permiso para utilizar con fines científicos la información que obtengamos.

La participación en el presente proyecto no supone ninguna alteración del tratamiento que le hayamos prescrito, si bien puede ocurrir que le recomendemos añadir la toma adicional de vitamina D a las dosis habitualmente usadas en clínica

¿Cuáles son los riesgos generales de participar en este estudio?

No se prevé ningún riesgo adicional para usted, pues la vitamina D a esas dosis es inocua y la ecografía no irradia ni tiene riesgo alguno.

El riesgo previsible de su participación únicamente será el mínimo que conlleva la extracción de una muestra de sangre. Incluye posibles molestias tales como dolor, enrojecimiento e hinchazón y/o pequeños hematomas en el lugar del brazo donde se ha producido la extracción. No obstante, como se indica arriba, esa toma se la recomendamos a todas las mujeres embarazadas, participen o no en este estudio.

La extracción de sangre de cordón no genera molestia alguna en madre o recién nacido, pues se extrae después de la sección del mismo.

¿Cuáles son los beneficios de la participación en este estudio?

Tendremos un conocimiento mejor del estado de su metabolismo óseo, lo que nos permitirá proceder a intervenir terapéuticamente para mejorarlo en caso de que se detecte alguna anomalía. Igualmente, tendremos información más exacta del estado de mineralización de los huesos de su hijo.

¿Qué pasará si decido no participar en este estudio?

Su participación en este estudio es totalmente voluntaria. En caso de que decida no participar en el estudio, esto no modificará el trato y seguimiento que de su embarazo. Así mismo, podrá retirarse del estudio en cualquier momento, sin tener que dar explicaciones.

¿A quién puedo preguntar en caso de duda?

Es importante que comente con cualquiera de los investigadores de este proyecto los pormenores o dudas que surjan antes de firmar el consentimiento para su participación.

Asimismo, podrá solicitar cualquier explicación que desee sobre cualquier aspecto del estudio y sus implicaciones a lo largo del mismo contactando con el investigador principal del proyecto, la Dra.Sabonet.

Confidencialidad:

Todos sus datos, así como toda la información médica relacionada con su enfermedad, será tratada con absoluta confidencialidad por parte del personal encargado de la investigación. Asimismo, si los resultados del estudio fueran susceptibles de publicación en revistas científicas, en ningún momento se proporcionarán datos personales de los pacientes que han colaborado en esta investigación.

Tal y como contempla la Ley de Protección de Datos de Carácter Personal, podrá ejercer su derecho a acceder, rectificar o cancelar sus datos contactando con el investigador principal de este estudio.

¿Qué pasará con las muestras biológicas obtenidas durante la investigación?

La información procedente de las muestras de sangre será siempre utilizada con fines científicos, pudiéndose utilizar si usted así lo autoriza en el marco de otros proyectos de investigación que tengan como objetivo el estudio de su enfermedad y que previamente hayan sido evaluados y aprobados por el Comité Ético de Investigación del Hospital Dr. Peset.

Además, este material no será bajo ningún concepto ni en ningún momento motivo de lucro, bien sea por la venta del material o de los derechos para realizar estudios sobre los mismos.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del Proyecto: “Papel de la vitamina D durante el embarazo .”

Investigador Principal: Dra. Lorena Sabonet

Servicio de Ginecología

Yo, _____ he sido informado por el Dra. Sabonet, investigadora del proyecto de investigación arriba mencionado, y declaro que:

- He leído la hoja de Información que se me ha entregado
- He podido hacer preguntas sobre el estudio
- He recibido respuestas satisfactorias a mis preguntas
- He recibido suficiente información sobre el estudio

Comprendo que mi participación es voluntaria

Comprendo que todos mis datos serán tratados confidencialmente

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- Cuando quiera
- Sin tener que dar explicaciones
- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Autorizo a que las muestras obtenidas durante el proyecto de investigación sean utilizadas con fines científicos en otros proyectos de investigación que tengan por objeto el estudio de mi enfermedad y que hayan sido aprobados por el Comité de Ética de Investigación Clínica del Hospital Clínico Universitario de Valencia Sí No

Quiero que se me pida autorización previa para utilizar mis muestras biológicas para futuros proyectos de investigación Sí No

Con esto doy mi conformidad para participar en este estudio,

Firma del paciente:

Firma del Investigador:

Fecha:

Fecha

