



UNIVERSITAT  
DE VALÈNCIA

DEPARTAMENT DE PEDIATRIA, OBSTETRÍCIA I  
GINECOLOGIA FACULTAT DE MEDICINA I ODONTOLOGIA

TESIS DOCTORAL

**PAPEL DE LA VITAMINA D EN LA POSTMENOPAUSIA,  
INFLUENCIA DE LA SUPLEMENTACIÓN EN EL  
METABOLISMO OSEO Y OTRAS DIANAS**

Presentada por:

**GEMMA ARRIBAS FERRIOL**

Licenciada en Medicina

Dirigida por:

**Prof. Dr. D. ANTONIO CANO SANCHEZ**

Valencia, 2015



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

CERTIFICA:

Que Dña. Gemma Arribas Ferriol, Licenciada en Medicina por la  
Universidad de Valencia, ha realizado bajo su dirección la presente Tesis  
Doctoral titulada “Papel de la vitamina D en la postmenopausia, influencia  
de la suplementación en el metabolismo óseo y otras dianas”

Y para que así conste a efectos legales oportunos, firma la presente  
certificación en Valencia a 30 de Octubre de 2015

Fdo. Antonio Cano Sánchez





***A MI FAMILIA***

---



## **AGRADECIMIENTOS**

---

Después de todos los esfuerzos que requiere alcanzar el objetivo de llegar a ser Licenciada en Medicina y Especialista en Ginecología y Obstetricia, el reto de ser Doctora en Medicina se me hacía ya muy lejano, más aún cuando los años posteriores al final de la residencia suceden con cambios continuos de contrato y horarios, guardias sucesivas, e incluso múltiples cambios de hospitales, con el sucesivo proceso de adaptación.

Gracias a la ayuda de mi Jefe de Servicio y Director de Tesis, este objetivo volvió de nuevo a mi mente. Muchas gracias, Dr. Cano, por prestarme todo el apoyo necesario desde el inicio para poder alcanzar este reto, y por estar dispuesto a ayudarme hasta el final pese a los tiempos tan ajustados de que disponía.

En momentos así de la vida, en que necesitas sacar tiempo de donde no lo tienes, y esfuerzo y ganas de donde no las hay, es cuando vuelves a comprobar que tienes mucha gente alrededor dispuesta a ofrecerte toda la ayuda y apoyo necesarios para alcanzar la meta. Muchas gracias a todos los que me habéis animado con múltiples y diferentes gestos, consiguiendo que este gran trabajo fuera más llevadero, y ayudándome a “no tirar la toalla”.

En especial, siempre estaré inmensamente agradecida a las personas que día a día han estado ahí en esta aventura.

Gracias Julián por ser el mejor compañero de batalla en este entretenido camino que es la vida, por tu paciencia conmigo, por levantarme del suelo cuando ya estaba rendida y hacerme ver que lo tenía que conseguir, costara lo que costara.

Gracias, David, por hacer que la vida sea maravillosa teniéndote a ti, por ponerme siempre esa sonrisa a pesar de estar días y días sin casi poder prestarte atención, y por haberte robado tantas horas de estar con tu mami en este primer año de tu vida.

Y finalmente, gracias a mis padres por dárme todo y convertirme en la persona que soy, por enseñarme, educarme y hacerme luchadora para que no haya reto en la vida que se me resista.



## ***INDICE***

---



ABREVIATURAS.....	5
I. INTRODUCCIÓN.....	9
I.1. LA VITAMINA D.....	10
I.1.1. FUENTES DE VITAMINA D.....	12
I.1.2. METABOLISMO DE LA VITAMINA D.....	16
I.1.3. RECEPTOR DE VITAMINA D (VDR).....	18
I.1.4. DEFINICIÓN DEL DÉFICIT DE VITAMINA D.....	20
I.2. CAMBIOS HORMONALES EN LA MENOPAUSIA.....	22
I.2.1. DEFINICIÓN DE MENOPAUSIA.....	22
I.2.2. ETAPAS DE LA TRANSICIÓN MENOPÁUSICA.....	22
I.2.3. CAMBIOS HORMONALES DEL CICLO MENSTRUAL.....	25
I.2.4. CAMBIOS HORMONALES EN LA TRANSICIÓN MENOPÁUSICA.....	28
I.3. IMPACTO DE LOS CAMBIOS HORMONALES EN EL METABOLISMO ÓSEO.....	32
I.3.1. CONCEPTO DE REMODELADO ÓSEO.....	32
I.3.2. CÉLULAS ÓSEAS.....	34
I.3.3. REGULACIÓN DEL REMODELADO ÓSEO.....	38
I.3.4. MODIFICACIONES EN EL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIDAD DE REMODELACIÓN.....	43
I.3.5. EVOLUCIÓN DE LA MASA ÓSEA.....	45
I.3.6. CONCEPTO DE OSTEOPOROSIS.....	46
I.3.7. CAMBIOS A NIVEL OSEO EN LA MENOPAUSIA.....	47
II. HIPÓTESIS.....	51

<b>III. OBJETIVOS.....</b>	<b>55</b>
<b>IV. MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>59</b>
<b>IV.1. DISEÑO DEL ESTUDIO .....</b>	<b>59</b>
<b>IV.2. PACIENTES Y MÉTODOS .....</b>	<b>61</b>
<b>IV.2.1. SELECCIÓN DE PACIENTES PARA EL ESTUDIO... 61</b>	
<b>IV.2.2. FÁRMACO UTILIZADO..... 63</b>	
<b>IV.2.3. DETERMINACIONES ANALÍTICAS .....</b>	<b>64</b>
<b>IV.2.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....</b>	<b>67</b>
<b>V. RESULTADOS.....</b>	<b>71</b>
<b>V.1. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA POBLACIÓN .....</b>	<b>71</b>
<b>V.2. ESTUDIO LONGITUDINAL PROSPECTIVO.....</b>	<b>82</b>
<b>VI. DISCUSIÓN.....</b>	<b>93</b>
<b>VII. CONCLUSIONES.....</b>	<b>109</b>
<b>VIII. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>113</b>

## ABREVIATURAS

---

**1,25(OH)<sub>2</sub>D:** Calcitriol o 1,25-dihidroxitamina D

**25OHD:** calcifediol, calcidiol o 25-hidroxitamina D<sub>3</sub>

**7-DHC:** 7-dehidrocolesterol

**ADN:** Ácido desoxirribonucleico

**AMH** (*antimullerian hormone*): hormona antimulleriana

**ANCOVA:** Análisis de la covarianza

**ANOVA:** Análisis de la varianza

**β-CTX:** β-telopéptido carboterminal del colágeno tipo 1

**CYP24:** D-24-hidroxilasa

**CYP27B1:** 25-hidroxitamina D-1α-hidroxilasa

**CYP2R1:** D-25-hidroxilasa

**DBP:** Proteína de unión a la vitamina D

**DKK1:** proteína Dickkopf 1

**DMO:** Densidad mineral ósea

**ELISA** (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*): Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas

**FGF-23:** factor de crecimiento 23 del fibroblasto

**FSH** (*Follicle-Stimulating Hormone*): Hormona folículo estimulante

**HDL** (*High Density Lipoprotein*): Lipoproteína de alta densidad

**IL- :** Interleuquina

**IMC:** Índice de masa corporal

**LDL** (*Low Density Lipoprotein*): Lipoproteína de baja densidad

**LH** (*Luteinizing Hormone*): hormona luteinizante

**PTH:** Hormona paratiroidea o parathormona

**OPG:** Osteoprotegerina

**Oz:** onzas (unidad de medida)

**RANK:** Receptor activador del factor nuclear  $\kappa\beta$

**RANKL:** Ligando del receptor activador del factor nuclear  $\kappa\beta$

**STRAW** (*Stages of Reproductive Aging Workshop*): taller de las etapas de la edad reproductiva

**UI:** Unidades internacionales

**VDBP:** Proteína de unión a la vitamina D

**VDR:** Receptor nuclear de la vitamina D

**VDR-RXR:** complejo receptor de vitamina D– receptor–X de ácido retinoico

# **I. INTRODUCCIÓN**

---





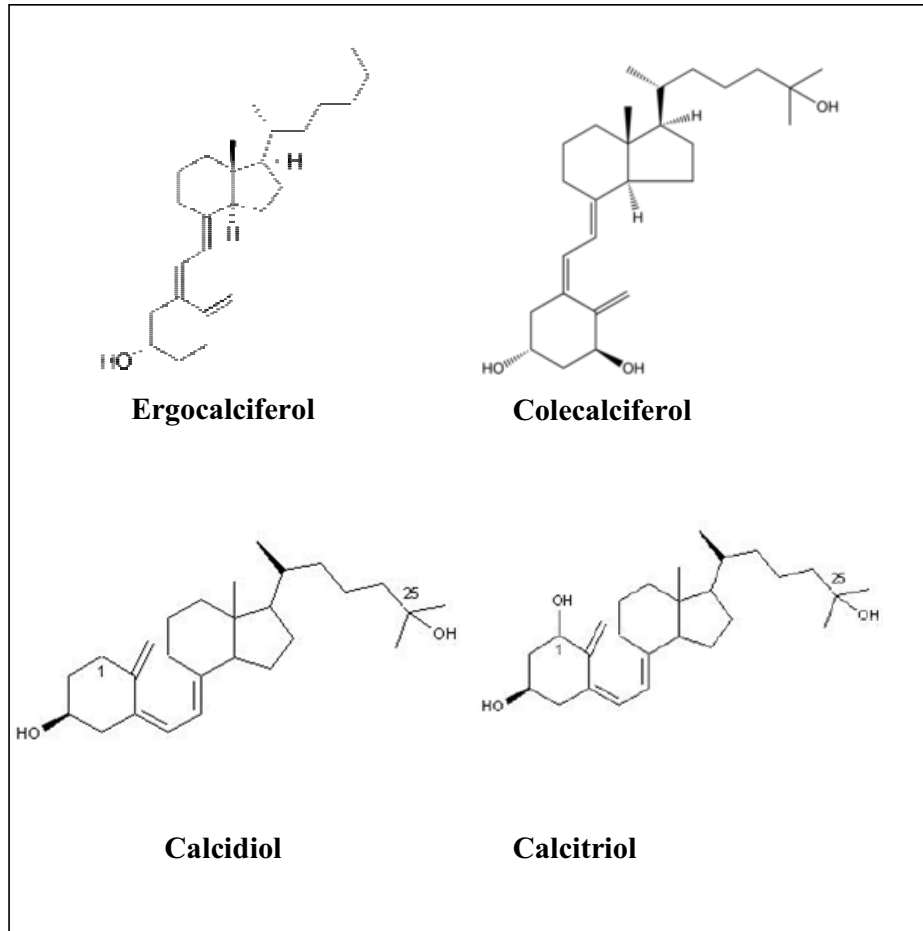
Actualmente existe un problema de salud mundial con la osteoporosis postmenopáusica y entre los determinantes de salud ósea está un nivel adecuado de vitamina D. También cabe considerar que mantener un nivel adecuado de dicha vitamina influye en otras dianas determinantes en la salud en la postmenopausia, como es el nivel de lípidos, glucemia e insulina, tensión arterial o peso.

Entre las tácticas recomendadas por las guías de práctica clínica se contempla la suplementación universal con vitamina D, pero para consolidar estas recomendaciones procede conocer en profundidad cuál es el estado de la vitamina D en nuestra población, además de cómo influye la suplementación en los niveles y los determinantes del metabolismo óseo.

## 1. LA VITAMINA D

La vitamina D es una vitamina liposoluble y relativamente termosensible, la cual no se puede definir como un único compuesto, sino una familia de esteroides que presentan actividad similar. De todos ellos los más destacables son el ergocalciferol o vitamina D<sub>2</sub>, de origen vegetal, y el colecalciferol o vitamina D<sub>3</sub>, que se genera en la piel o bien se ingiere directamente en forma de suplementos o alimentos (Hart, 2005).

Existen diversos derivados de la vitamina D que desempeñan un papel importante a nivel metabólico, de entre los que destaca el calcifediol, calcidiol o 25-hidroxivitamina D<sub>3</sub> (25OHD<sub>3</sub>) y la 1,25-dihidroxivitamina D<sub>3</sub> o calcitriol (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>)



*Figura 1. Estructuras químicas de la vitamina D*

A su vez, la vitamina D se considera también como una hormona, ya que después de ser ingerida o sintetizada por la piel, debe metabolizarse, vía hígado y riñón, hasta transformarse en su forma activa. Desempeña su acción sobre varios órganos diana, intestino y hueso principalmente, además de riñones y glándulas paratiroides (Lips, 2006).

## **1.1. FUENTES DE LA VITAMINA D**

Hay sólo dos fuentes de aporte de vitamina D al organismo: la primera representa el 90% del total y es por exposición solar, la segunda es por la absorción intestinal a partir de la dieta (Holick et al., 2006).

Al hablar de forma genérica de la vitamina D nos referimos tanto a la vitamina D<sub>3</sub> (colecalfiferol), que se genera en la piel o se ingiere directamente en forma de suplementos o alimentos, y la vitamina D<sub>2</sub> (ergocalciferol), de origen vegetal, que puede ser producida por al irradiación ultravioleta sobre un tipo de levaduras y se utiliza para enriquecer alimentos y como suplemento dietético. Por ello, otra forma de clasificación de estos dos tipos de vitamina D es en base a su origen endógeno (vitamina D<sub>3</sub> generada en la piel) o exógeno (vitamina D<sub>2</sub> o vitamina D<sub>3</sub> ingerida en forma de suplementos o con la dieta).

Pocos alimentos contienen de forma natural vitamina D (Tabla 1). Una dieta rica en pescado graso, entre los que destacan el salmón, la sardina, la caballa, el atún o el aceite de hígado de bacalao, previene el déficit de vitamina D (Holick, 2007).

**Tabla 1. Fuentes de Vitamina D<sub>2</sub> y D<sub>3</sub> de la dieta o de suplementos alimenticios. (Holick, 2007)**

<b>Fuentes naturales</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Vitamina D<sub>2</sub> o D<sub>3</sub></b>
Salmón Fresco	3.5 oz	600-1000 UI de vitamina D <sub>3</sub>
Piscifactoría	3.5 oz	100-250 UI de vitamina D <sub>2</sub> o D <sub>3</sub>
Salmón Enlatado	3.5 oz	300-600UI de vitamina D <sub>3</sub>
Sardinas en lata	3.5 oz	300UI de vitamina D <sub>3</sub>
Caballa en lata	3.5 oz	250UI de vitamina D <sub>3</sub>
Atún en lata	3.5 oz	230UI de vitamina D <sub>3</sub>
Aceite de hígado de bacalao	1 cuchara	400-1000 UI de vitamina D <sub>3</sub>
Champiñones shiitake		
Fresco	3.5 oz	100 UI de vitamina D <sub>2</sub>
Secado al sol	3.5 oz	1600 UI de vitamina D <sub>2</sub>
Yema de huevo	1 unidad	20 UI de vitamina D <sub>2</sub> o D <sub>3</sub>

<b>Alimentos suplementados</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Vitamina D<sub>3</sub></b>
Leche	8 oz	100 UI
Zumo de naranja	8 oz	100 UI
Fórmulas infantiles	8 oz	100 UI
Yogurt	8 oz	100 UI
Mantequilla	3.5 oz	50 UI
Margarina	3.5 oz	430 UI
Quesos	3 oz	100 UI
Cereales		100 UI

Para la obtención de vitamina D con la exposición solar, la vitamina D<sub>2</sub> se fabrica a través de la irradiación ultravioleta de ergosterol a partir de levadura. Por otro lado, la exposición de la piel a los rayos ultravioletas de la luz solar estimula la formación de vitamina D<sub>3</sub>, que se fabrica a través de la irradiación solar del 7-dehidrocolesterol (7-DHC) de la lanolina. Las radiaciones con una longitud de onda de 290 a 315nm se absorben por los enlaces conjugados dobles en posición C5 y C7 del 7-DHC, fragmentando el anillo B entre C9 y C10 y convirtiendo 7-DHC a previtamina D<sub>3</sub> (Holick et al., 2006).

El 7-DHC está presente en todas las capas de la piel humana. Aproximadamente el 65% del 7-DHC se encuentra en la epidermis, y más que 95% de la previtamina D<sub>3</sub> que se produce está en la epidermis. Una vez previtamina D<sub>3</sub> es sintetizada en la piel, puede ser sometida a una fotoconversión a lumisterol, taquisterol o 7-DHC, o ser sometida a una isomerización inducida por calor a la vitamina D<sub>3</sub>. La producción cutánea de previtamina D<sub>3</sub> está regulada, los fotoproductos solares (taquisterol y lumisterol), inactivos en el metabolismo del calcio, se producen en momentos de una exposición prolongada a la radiación UV-B solar, evitando así la intoxicación de vitamina D inducida por el sol. La vitamina D<sub>3</sub> es también sensible a la irradiación solar, y es con ello inactivada a suprasterol y 5,6-trans-vitamina D<sub>3</sub> (Hosseini-Nezhad et al., 2013).

La producción cutánea de vitamina D<sub>3</sub> está influenciada por pigmentación de la piel, el uso de protección solar, hora del día, temporada, latitud, la altitud y la contaminación del aire. El ángulo cenital del sol juega un papel fundamental en la producción de vitamina D<sub>3</sub>. Cuando el ángulo cenital es más oblicuo, y con ello se incrementa la longitud de la trayectoria a través de la capa de ozono estratosférica, hay pocos fotones UV-B que sean capaces de alcanzar la superficie de la tierra. Esta es la razón por la cual se explica que por encima de aproximadamente 35 grados de latitud se produce poca o ninguna vitamina D<sub>3</sub> en la piel durante el invierno, cuando los rayos de sol son más oblicuos (Holick and Chen et al., 2007).

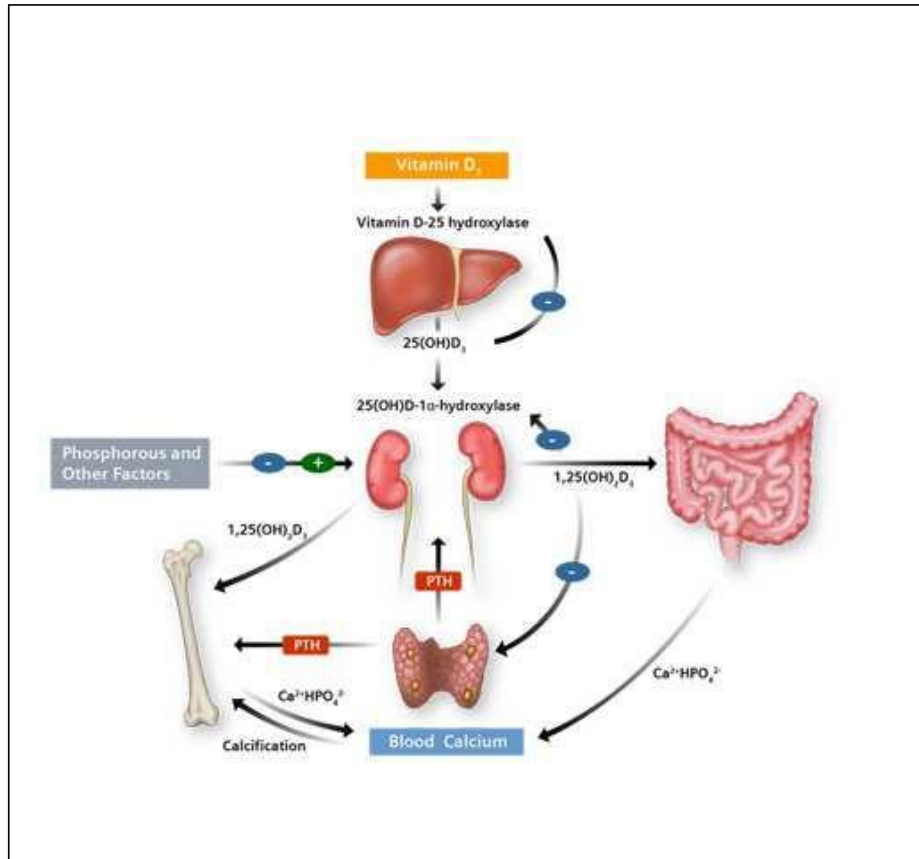
Por otro lado, la explicación por la cual a principios de la mañana y final de la tarde la producción de vitamina D<sub>3</sub> es muy ineficiente, y de por qué a pesar de habitar tanto en el ecuador como en las regiones del extremo norte y del sur del planeta en verano, donde el sol brilla casi 24 horas, la síntesis de la vitamina D<sub>3</sub> sólo se produce aproximadamente entre las 10 y las 15 horas del día. Del mismo modo, en las zonas urbanas, donde los niveles de dióxido de nitrógeno y el ozono son altos, pocos fotones UV-B productores de vitamina D<sub>3</sub> alcanzan a la población que habita en estas ciudades. Del mismo modo, dado que el vidrio absorbe toda la radiación UV-B, la vitamina D<sub>3</sub> no se produce en la piel cuando la ésta se expone a la luz solar que pasa a través del vidrio (Holick et al., 2006).

## **1.2. METABOLISMO DE LA VITAMINA D**

Una vez formada, la vitamina D<sub>3</sub> es expulsada de la membrana plasmática de los queratinocitos e introducida en el lecho capilar dérmico por la proteína de unión a vitamina D. La vitamina D<sub>2</sub> y D<sub>3</sub> obtenida de fuentes de la dieta se incorpora a quilomicrones y transportados por el sistema linfático a la circulación venosa, donde se unen también a la proteína de unión a vitamina D. Además ésta puede ser almacenada por las células adiposas y luego nuevamente liberada (Holick and Chen et al., 2007).

Con ello, la vitamina D obtenida de la piel y la dieta y liberada al torrente sanguíneo, es transportada por proteína de unión a vitamina D al hígado, donde es metabolizada por la D-25-hidroxilasa hepática (CYP2R1) a 25-hidroxivitamina D (25OHD), el mayor metabolito circulante de la vitamina D, que se utiliza para determinar los niveles de vitamina D de los pacientes. Este metabolito es biológicamente inactivo, por lo que es filtrado en los riñones, reabsorbido en los túbulos renales proximales, y tras sufrir una hidroxilación por la enzima 25-hidroxivitamina D-1 $\alpha$ -hidroxilasa (CYP27B1) es convertido posteriormente a su forma activa, la 1,25-dihidroxivitamina D [1,25(OH)<sub>2</sub>D] (Holick et al., 2007; Hossein-Nezhad et al., 2013).





**Figura 2. Metabolismo de la vitamina D<sub>3</sub> (Holick 2007)**

La producción renal de 1,25-dihidroxivitamina D está estrechamente regulada por los niveles de hormona paratiroidea, calcio sérico y fósforo en plasma, y por factor de crecimiento 23 del fibroblasto (FGF-23). La hidroxilación-1α es estimulada por la hormona paratiroidea, hipocalcemia e hipofosfatemia, e inhibida por el FGF-23, que es secretado por los osteocitos en la matriz ósea, y también provoca que el cotransportador sodio-fosfato sea internalizado por las células del e intestino delgado. La

1,25(OH)<sub>2</sub>D también disminuye su propia síntesis por retroalimentación negativa y disminuye la síntesis y secreción de hormona paratiroidea por las glándulas paratiroideas. Además estimula su propia destrucción en los riñones, induce la expresión de la enzima 25-hidroxivitamina D-24-hidroxilasa (CYP24), que cataboliza tanto la 25-hidroxivitamina D como la 1,25(OH)<sub>2</sub>D a ácido calcitroico o calcitriol, forma hidrosoluble y biológicamente inactiva, que es excretada en la bilis. El calcitriol inhibe la actividad de la enzima 1 $\alpha$ -hidroxilasa y estimula la actividad de la 24-hidroxilasa, que promueve la producción de 24,25-dihidroxivitamina D<sub>3</sub>, biológicamente inactivo (Clifford et al., 2011)

### **1.3. RECEPTOR DE VITAMINA D (VDR)**

Una de las principales funciones fisiológicas de la vitamina D es mantener los niveles de calcio y fósforo en suero en un rango fisiológico saludable para mantener una variedad de funciones metabólicas, regulación de la transcripción, y metabolismo óseo. 1,25(OH)<sub>2</sub>D realiza muchas de sus funciones biológicas mediante la regulación de la transcripción de genes a través de su alta afinidad por el receptor nuclear de vitamina D (VDR). El metabolito activo de la vitamina D se une al VDR nuclear, que se une al receptor-X del ácido retinoico para formar un complejo heterodimérico que

se une a secuencias específicas de nucleótidos en el ADN conocidas como elementos de respuesta de vitamina D. Una vez unido, distintos factores de transcripción se enlazan a este complejo, lo que resulta en regulación tanto al alza como a la baja de la actividad de los genes. Se estima que existen de 200 a 2.000 genes que tienen elementos de respuesta a la vitamina D o que son influenciados indirectamente para controlar una multitud de genes a través del genoma.

La  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  mejora la absorción del calcio en el intestino delgado por interacción con el complejo receptor de vitamina D– receptor–X de ácido retinoico (VDR-RXR). De esta forma, interactúa con su VDR en el intestino delgado para aumentar la eficiencia de la absorción intestinal del calcio de aproximadamente 10-15% hasta 30-40% y la absorción intestinal de fósforo de aproximadamente 60% a 80% (Hosseini-Nezhad et al., 2013).

También interactúa con su VDR en los osteoblastos.  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  es reconocida por su receptor en los osteoblastos, provocando un aumento en la expresión del ligando de receptor activador para el factor nuclear  $\text{K}\beta$  (RANKL, del inglés “Receptor Activator for Nuclear Factor  $\text{K}\beta$  Ligand”). RANK, el receptor de RANKL en los preosteoclastos, se une a RANKL, induciendo a los preosteoclastos inmaduros a convertirse en osteoclastos maduros. Éstos extraen el calcio y fósforo del hueso, manteniendo los

niveles de calcio y fósforo en sangre. Niveles adecuados de calcio y fósforo promueven la mineralización del esqueleto (Holick et al., 2007).

Los receptores de vitamina D están presentes en la mayoría de células y tejidos del cuerpo. Muchos de estos órganos y células, incluyendo el cerebro, el músculo liso, la próstata, la mama, o los macrófagos tienen VDR. Los 2.000 genes estimados que están directa o indirectamente regulados por  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  tienen una amplia gama de acciones biológicas comprobadas, incluyendo la inhibición de la proliferación celular y la inducción de la diferenciación terminal, la inhibición de la angiogénesis, la estimulación de la producción de insulina, la inducción de apoptosis o la inhibición de la producción de renina (Hosseini-Nezhad et al., 2013).

#### **1.4. DEFINICIÓN DEL DÉFICIT DE VITAMINA D**

Aunque no existe un consenso sobre los niveles óptimos de 25-hidroxivitamina D medidos en suero, la deficiencia de vitamina D se define por la mayoría de los expertos como un nivel de 25-hidroxivitamina D menor a 20ng por mililitro ( 50nmol por litro) (Bischoff-Ferrari et al.; 2006)

Los niveles de 25-hidroxivitamina D están inversamente asociados con los niveles de hormona paratiroidea hasta niveles de 30-40 ng por

mililitro (75-100 nmol por litro), punto en el que los niveles de la hormona paratiroidea comienzan a nivelarse. Además, el transporte del calcio intestinal aumenta en un 45 a 65 % en las mujeres cuando se incrementaron los niveles de 25-hidroxivitamina D de un promedio de 20 a 32ng por mililitro (50 a 80nmol por litro) (Heaney et al., 2003)

Dados estos datos, un nivel de 25 -hidroxivitamina D de 21 a 29ng por mililitro ( 52 a 72nmol por litro) puede ser considerado para indicar una insuficiencia relativa de la vitamina D, y un nivel de 30ng por mililitro o mayor puede ser considerado un nivel adecuado de vitamina D (Dawson-Hughes et al., 2005)

## **2. CAMBIOS HORMONALES EN LA MENOPAUSIA**

### **2.1. DEFINICIÓN DE MENOPAUSIA**

La organización mundial de la salud ha definido la menopausia como la cesión permanente de la menstruación resultante de la pérdida de la actividad folicular ovárica. Clínicamente se reconoce en mujeres en la década de los 40 o 50 años, cuando se evidencia 12 meses consecutivos de amenorrea para la que no hay una causa patológica o psicológica.

La menopausia es un fenómeno universal en mujeres de 45 a 55 años. Con la actual expectativa de vida, las mujeres de la mayoría de las sociedades pasarán un tercio de sus vidas después de este evento (World Health Organization, 1996).

### **2.2. ETAPAS DE LA TRANSICIÓN MENOPAUSICA**

Dicha organización mundial de la salud definió el concepto de perimenopausia como el tiempo que incluye desde la aparición de los

síntomas de la menopausia en proximidad hasta un año después de la fecha de la última menstruación (World Health Organization, 1996).

Esta clasificación de la organización mundial de la salud se revisó en el taller de las etapas de la edad reproductiva (STRAW, en inglés “*Stages of Reproductive Aging Workshop*”, 2001), donde se estableció la nomenclatura de los diferentes estadios de la transición menopáusica. Posteriormente, se realizó una revisión de esta clasificación en un nuevo taller celebrado en 2011 (STRAW+10 *ReSTAGE Collaboration*, 2011). Ambos son reconocidos actualmente a nivel internacional como sistemas de estadiaje de la edad reproductiva, aportando una clasificación consistente del estado reproductivo en mujeres de edad media.

	Menarche				FMP (0)					
Stage	-5	-4	-3b	-3a	-2	-1	+1 a	+1b	+1c	+2
Terminology	REPRODUCTIVE				MENOPAUSAL TRANSITION		POSTMENOPAUSE			
	Early	Peak	Late		Early	Late	Early			Late
					<i>Perimenopause</i>					
Duration	variable				variable	1-3 years	2 years (1+1)	3-6 years	Remaining lifespan	
<b>PRINCIPAL CRITERIA</b>										
Menstrual Cycle	Variable to regular	Regular	Regular	Subtle changes in Flow/Length	Variable Length Persistent ≥7- day difference in length of consecutive cycles	Interval of amenorrhea of ≥60 days				
<b>SUPPORTIVE CRITERIA</b>										
Endocrine FSH AMH Inhibin B			Low Low	Variable* Low Low	↑ Variable* Low Low	↑ >25 IU/L** Low Low	↑ Variable Low Low	Stabilizes Very Low Very Low		
Antral Follicle Count			Low	Low	Low	Low	Very Low	Very Low		
<b>DESCRIPTIVE CHARACTERISTICS</b>										
Symptoms						Vasomotor symptoms <i>Likely</i>	Vasomotor symptoms <i>Most Likely</i>		Increasing symptoms of urogenital atrophy	
<small>* Blood draw on cycle days 2-5 ↑ = elevated                  **Approximate expected level based on assays using current international pituitary standard<sup>67-69</sup></small>										

Figura 3. “*Stages of Reproductive Aging Workshop +10*”, 2011

La transición menopáusica comienza cuando una mujer experimenta uno de los siguientes cambios:

- Aumento mayor de 7 días en el intervalo habitual entre sus menstruaciones
- Falta de algún periodo menstrual

Se divide en la etapa inicial y la etapa tardía. En la etapa inicial, la amenorrea es intermitente y relativamente infrecuente. La transición tardía comienza cuando se evidencia la ausencia de al menos dos ciclos menstruales y una mujer presenta al menos 60 días de amenorrea.

La postmenopausia se divide en dos etapas en la nomenclatura STRAW. Comienza con la etapa temprana, definida como los primeros cinco años tras la última menstruación. Este periodo tiene su importancia porque en él se produce el mayor descenso de las hormonas, con alguna fluctuación intermitente. Además, en este periodo tiene lugar también una aceleración en la pérdida de densidad mineral ósea. La postmenopausia tardía comienza a los cinco años de la última menstruación y transcurre hasta la muerte.



### **2.3. CAMBIOS HORMONALES DEL CICLO MENSTRUAL**

El ciclo menstrual en el humano incluye una cadena de fenómenos neuroendocrinos regulados de una manera muy definida, que se inician y son mantenidos por el núcleo arcuato en el hipotálamo.

En el ciclo menstrual de una mujer con menstruaciones regulares encontramos cambios hormonales en el eje hipotálamo-hipofisario-ovárico, que se evidencian en la concentración sanguínea de la hormona folículo estimulante (FSH, en inglés “Follicle Stimulating Hormone”), la hormona luteinizante (LH, en inglés “Luteinizing Hormone”), del estradiol, de la progesterona y de la inhibina (Burger et al., 2002).

Bajo el control de la hormona liberadora de gonadotropinas, de origen hipotalámico, la hipófisis secreta FSH y LH con un patrón cíclico, caracterizado particularmente por un aumento de FSH en la fase folicular temprana, un pico a mitad de ciclo de ambas hormonas, y niveles relativamente bajos de ambas hormonas en la fase lútea. La FSH en la fase folicular conduce a la producción ovárica de estradiol, aumentando los niveles de lo que desencadena en la fase folicular tardía el pico de LH, a mitad de ciclo. Después de la ovulación, las células de la granulosa del

folículo dominante se luteinizan formando el llamado cuerpo lúteo, que es la fuente de la progesterona. Las células de la granulosa son también la fuente de la inhibina A e inhibina B ováricas. (Burger, 2006).

En la primera mitad de la fase folicular del ciclo menstrual encontramos niveles bajos y relativamente estables tanto de estradiol como de inhibina A, seguido de un incremento con un pico a mitad de ciclo, que ocurre aproximadamente veinticuatro horas antes de que ocurra la ovulación con el pico de LH. Las concentraciones luego vuelven a descender y se elevan de nuevo de forma paralela a la secreción de progesterona en la fase lutea.

Por otro lado, la inhibina B aumenta y desciende de forma paralela a los cambios que se producen en la FSH durante la transición de la fase folicular a la fase lutea, y en la fase folicular temprana. Se evidencia un pico a mitad de ciclo y durante la fase lutea, la concentración de inhibina B desciende a los niveles más bajos del ciclo menstrual (Burger et al., 2002)

La hormona antimulleriana (en inglés “antimullerian hormone”, AMH) se produce en las células de la granulosa, en los folículos primordiales, de forma sostenida hasta que alcanzan un tamaño aproximado de 8 milímetros (Schmidt et al., 2005). Esta hormona inhibe el crecimiento folicular dependiente de FSH e interviene en el reclutamiento y selección

de los folículos. A diferencia de las gonadotropinas y las inhibinas, la AMH no presenta cambios a lo largo del ciclo menstrual o en el embarazo (La Marca et al., 2005).

El crecimiento folicular en la fase folicular temprana, en los días 4 a 6 de ciclo, está regulado por la FSH, que estimula las células de la granulosa de los folículos antrales para producir estradiol e inhibina A y B. El incremento resultante de los niveles de estradiol se acompaña también de un incremento de la inhibina B, que sucesivamente inhibe la producción de FSH. Mientras los niveles de FSH comienzan a descender en la fase folicular media, los niveles de LH comienzan a aumentar. Con la selección del folículo dominante, los niveles de estradiol aumentan de forma rápida y alcanzan el pico durante 3 a 5 días, acompañado de un pico a mitad de ciclo en la inhibina A y B. El folículo dominante es capaz de secretar grandes cantidades de estradiol, y a consecuencia de este rápido ascenso en la concentración de estradiol la hipófisis responde con una liberación de una oleada de LH que seguidamente desencadena la ovulación. El incremento de la sensibilidad de la hipófisis a la GnRH, y en consecuencia el rápido incremento de los niveles de estradiol, es la clave para la generación del pico de LH. A lo largo de la fase lútea, el cuerpo lúteo es la principal fuente de estradiol, progesterona e inhibina A. Si no se produce la gestación, el cuerpo lúteo se reabsorbe, lo que conlleva a un rápido descenso en 2 a 4

días de los niveles de estrógenos y progesterona al final del ciclo, y en consecuencia se produce el derramamiento de la superficie endometrial y la menstruación (Hale et al., 2014).

#### **2.4. CAMBIOS HORMONALES EN LA TRANSICIÓN MENOPÁUSICA**

La característica más notable de la transición menopáusica es la significativa variabilidad hormonal. Los primeros cambios hormonales que se describieron en la edad reproductiva avanzada fue un aumento de los niveles de FSH al inicio de ciclo y una fase folicular acortada, con cambios mínimos en el resto de hormonas y la periodicidad menstrual (Prior et al., 1998)

Los cambios que se producen son complejos. En resumen, evidenciamos un incremento sustancial de las cifras de FSH, aumento de LH, cambios impredecibles de los niveles de estradiol, puesto que pueden estar más elevados o más bajos de lo normal, y un descenso de los niveles de progesterona (Hale et al., 2005)

Dado que la irregularidad menstrual comienza antes de la pérdida de la menstruación, podemos encontrar un cambio temprano con un profundo

descenso de los niveles de inhibina B en la fase folicular temprana, producido por el descenso del número de folículos conforme avanza la edad reproductiva. Este descenso de la inhibina B se ha descrito como desencadenante del incremento aislado de los niveles de FSH. Dicho aumento de FSH sucesivamente mantiene, o en algunos casos incrementa la producción de estradiol por parte de las células de la granulosa (Hale et al., 2009).

Mujeres que tienen menstruaciones con intervalos mayores a 3 meses tienen unos niveles aumentados de FSH, además de un descenso sustancial de los niveles circulantes de estradiol e inhibina A y B (Burger, 2006).

Se estima que en el momento de las últimas menstruaciones, los niveles de FSH alcanzan aproximadamente el 50% de su concentración final en la postmenopausia, que es de diez a quince veces mayor que la que encontramos en la fase folicular de una mujer en edad reproductiva (Burger et al., 1999)

Se considera que niveles de FSH mayores a 40 UI/L en la fase folicular temprana pueden considerarse como un marcador independiente de la transición menopáusica tardía, si bien es menos predictivo que los cambios en el patrón del sangrado menstrual, como fases de amenorrea mayores a 60 días. Otros biomarcadores, como la inhibina B y la hormona

antimulleriana, presentan cambios más tempranos en la edad reproductiva que la FSH, aunque la inhibina B, al igual que la FSH, presenta variaciones según el momento del ciclo, especialmente en la transición menopáusica. (Hale et al., 2009)

Sin embargo, la AMH, permanece estable a lo largo del ciclo menstrual y comienza a presentar descensos en sus niveles a partir de la década de los treinta en la mujer. Al final de la edad reproductiva, la AMH se reduce de dos a diez veces en comparación con mujeres en la etapa media reproductiva (Robertson et al., 2011)

Conforme desciende el número de folículos primordiales con el avance de la edad reproductiva a un nivel crítico, por debajo de mil, también descienden los niveles de las hormonas más destacadas en el sistema de retroalimentación negativa o “feed-back” del eje hipotálamo-hipofisario-ovárico. Como resultado de ello, tiene lugar una serie de cambios endocrinos que altera la secreción hormonal del ciclo ovárico normal y los patrones ovulatorios. Dada la gran coordinación que se requiere a nivel de ovario, hipófisis e hipotálamo para gobernar el ciclo menstrual, esta alteración es habitualmente compleja, implicando una transición de una predominancia de ciclos ovulatorios normales a un periodo de ciclos anovulatorios o con ovulación anormal, hasta la última menstruación (Hale et al., 2014).

En la perimenopausia, alrededor del 20% de los ciclos que tienen una duración de hasta cuarenta días son anovulatorios, mientras que esta cifra aumenta al 80% en ciclos con una duración mayor de cuarenta días (Metcalf et al., 1981).

En la edad reproductiva tardía, mientras los ciclos permanecen regulares, se produce una elevación aislada de FSH al inicio del ciclo y las mujeres experimentan con frecuencia ciclos discretamente más cortos, entre dos a cuatro días, debido a un acortamiento de la fase folicular. Esta elevación de FSH se ha atribuido a un descenso en la producción de inhibina B por parte de los folículos antrales, que desciende conforme avanza la edad reproductiva (Klein et al., 2004).

### **3. IMPACTO DE LOS CAMBIOS HORMONALES EN EL METABOLISMO ÓSEO**

La menopausia representa un tiempo vulnerable en la vida de una mujer por numerosas razones, pero particularmente para su salud ósea, ya que la pérdida de la función ovárica durante la transición menopáusica tiene un impacto profundo en la salud ósea de la mujer.

El déficit estrogénico que se asocia a la menopausia aumenta el remodelado óseo, dando lugar a un desbalance entre formación y reabsorción del hueso. Dicho aumento del remodelado óseo permanece durante varios años, por lo que se asocia a un incremento de la pérdida de masa ósea (Cauley et al., 2012)

#### **3.1. CONCEPTO DE REMODELADO ÓSEO**

El remodelado óseo es el fenómeno fisiológico de continua renovación al que está sometido el hueso. Tras la madurez y conseguido el pico de masa ósea, este proceso de remodelado se prolonga durante toda la vida. El remodelado óseo es el resultado de dos actividades básicas: la



destrucción del hueso (resorción) y su posterior formación. Este proceso se realiza siempre de forma que la estructura del hueso recién formado se adapte mejor a los estímulos mecánicos que actúan sobre él y sirve como mecanismo de reparación en caso de fracturas. La interrelación entre ambas acciones es compleja, de tal forma que en condiciones normales la cantidad de hueso nuevo formado es igual a la cantidad destruida, de manera que la masa ósea se mantiene estable, sin pérdida ni ganancia (Parfitt et al, 1996).

El sustrato fundamental del proceso de remodelado está constituido por las denominadas “unidades de remodelado óseo”, que se distribuyen por la superficie de las trabéculas, la cara endostal del hueso cortical y los canales vasculares del interior del hueso. En condiciones normales, un 10% solamente de la superficie disponible se encuentra siendo remodelada.

Los osteoclastos destruyen hueso produciendo las lagunas de Howship en el hueso trabecular y los canales de Havers en el hueso cortical, para que posteriormente las células del sistema reticuloendotelial completen la destrucción en las lagunas óseas formadas eliminando las proteínas colágenas y no colágenas delimitando el límite de la resorción y el lugar de la formación del hueso nuevo cuando los precursores de los osteoblastos emigren a la superficie del hueso y depositen nueva matriz.

### **3.2. CÉLULAS ÓSEAS**

El componente celular del hueso, que representa el 2% de la matriz orgánica, es el responsable del remodelado óseo. Los dos tipos celulares más importantes son los osteoclastos (responsables de la resorción) y los osteoblastos (encargados de la formación). Derivan de estirpes celulares diferentes: los osteoblastos proceden de un precursor mesenquimal pluripotencial de la médula, que puede diferenciarse hacia otros tipos celulares como adipocitos y miocitos, mientras que los osteoclastos derivan de un precursor del compartimento hematopoyético, denominado unidad formadora de colonias de granulocitos-macrófagos. Los precursores osteoclásticos no pueden desarrollarse en ausencia de las células del mesénquima. A pesar de estas diferencias, tanto en su procedencia como en su morfología y función, existe una compleja interrelación entre ambas células que justifica un estrecho acoplamiento entre la resorción y la formación. Este acoplamiento condiciona que en condiciones normales la cantidad de hueso nuevo formado sea igual a la cantidad destruida, de manera que la masa ósea se mantiene estable, sin pérdida ni ganancia (Parfitt et al., 1996).

### **3.2.1. Osteoblastos**

Los osteoblastos son células formadoras de hueso, los responsables de la producción de la matriz ósea (colágeno y sustancia fundamental) mediante la producción de una sustancia llamada osteoide que es la que sufre el proceso de mineralización. Aparecen en grupos de 100-400 osteoblastos por lugar de formación ósea. Los osteoblastos derivan de células mesenquimales precursoras llamadas preosteoblastos que se encuentran en las superficies perióstica y endóstica de los huesos largos, así como de células fibroblásticas del sistema reticuloendotelial. La diferenciación de la célula mesenquimal precursora a preosteoblasto se hace por la influencia de factores de crecimiento como el factor de crecimiento fibroblástico, la proteína ósea morfogenética y las proteínas Wnt. Los osteoblastos son células voluminosas con núcleo grande. El protoplasma es basófilo, con un aparato de Golgi muy desarrollado, signo de la gran actividad de síntesis proteica que desarrollan. La membrana plasmática es característicamente rica en fosfatasas alcalinas (cuya concentración sérica es signo indirecto de la formación ósea) y tiene receptores para la PTH y prostaglandinas, pero no para la calcitonina. También expresan receptores esteroideos para la vitamina D y estrógenos, así como varias moléculas de adhesión (integrinas) y receptores para citoquinas del sistema RANK-RANKL- Osteoprotegerina (OPG) (Mundy et al., 2003).

### **3.2.2. Osteocitos**

Los osteoblastos se transforman en osteocitos cuando quedan atrapados en la matriz mineralizada que han formado ellos mismos tras la mineralización de la sustancia osteoide en las llamadas lagunas osteocíticas (25.000/mm<sup>3</sup> de hueso). El área total en un adulto de las lagunas osteocíticas oscila entre 1000-5000 metros cuadrados. Su forma es muy variable y depende de su localización en profundidad y según se trate de un hueso maduro o inmaduro. Cuanto más maduros, son de menor volumen al tener menos organelos para la síntesis de proteínas y se localizan más en profundidad. Los conductos calcóforos son unos canalículos que salen de estas lagunas a través de los cuales se disponen las prolongaciones osteocitarias. Estas prolongaciones son típicas de estas células y sirven de interconexión entre los osteocitos. Las lagunas pueden encontrarse parcialmente vacías en algunos estados como la osteonecrosis y en tejido óseo osteoporótico (Baron et al., 2003).

### **3.2.3. Osteoclastos**

Los osteoclastos son las células responsables de la destrucción ósea (resorción). Derivan de precursores hematopoyéticos que también dan lugar a los monocitos y macrófagos. Los osteoclastos son células gigantes redondeadas multinucleadas (4-20) con un protoplasma rico en fosfatasas

ácidas. Se sitúan en contacto con hueso calcificado en las llamadas lagunas de Howship, cavidades que forman resultado de la resorción ósea, resorción que realizan mediante la secreción de lisozimas y colagenasas en un ambiente ácido. Son células con grandes y complejos aparatos de Golgi alrededor de cada núcleo. Una característica típica es el borde rizado o en cepillo de la membrana plasmática, y altamente móvil. Se considera que esta es la estructura que erosiona y destruye el hueso. La microscopía electrónica permite ver que son algo parecido a microvellosidades que pasan a través de la superficie del hueso, entrando en contacto con el colágeno. La zona central de la membrana plasmática tiene gran cantidad de actina (zona clara o zona de sellado) que sirve para unir a la célula con la superficie ósea. La unión de la célula a la matriz se realiza mediante receptores de integrinas que precisan de activación por diversas moléculas señal para tener adhesión y motilidad celular. En la zona de contacto la membrana plasmática del osteoclasto crea un pH ácido mediante la producción de hidrogeniones a través de la anhidrasa carbónica que solubiliza los minerales óseos (bomba de protones) y segrega una proteasa ácida que extrae los componentes orgánicos de la matriz por proteólisis ácida. La membrana también expresa RANK, receptor para RANKL, factor estimulante de colonias de macrófagos y receptores de calcitonina capaces de inactivar rápidamente al osteoclasto (Mundy et al, 2003).

### **3.3. REGULACIÓN DEL REMODELADO ÓSEO**

Los puntos clave de la regulación son la “activación” de los osteoclastos y el “acoplamiento” de los osteoblastos a los osteoclastos. El remodelado óseo está modulado tanto por factores humorales como mecánicos. Entre los factores humorales destacan las hormonas que actúan de forma sistémica y los factores autocrinos y paracrinos que actúan localmente (Manolagas et al, 2000).

#### **3.3.1. Factores Hormonales**

Constituidos por las denominadas “hormonas calciotropas” (parathormona o PTH, calcitriol o 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamina D y calcitonina), las hormonas sexuales (andrógenos y estrógenos), la hormona tiroidea, los glucocorticoides, la hormona de crecimiento y la leptina.

La PTH y la vitamina D estimulan de manera crónica la resorción ósea, manteniendo constante la calcemia sérica. En esta función colaboran el riñón y el intestino, ambos órganos diana de estas hormonas. El efecto de la PTH sobre el osteoclasto se cree que es indirecto mediante la inducción

en los osteoblastos de RANKL aunque no puede descartarse una activación directa, pues los osteoclastos de los mamíferos expresan receptores de PTH.

La calcitonina inhibe la resorción ósea de forma tiempo dependiente y por eso los pacientes con hipercalcemia tratados con calcitonina responden un periodo limitado de tiempo tras el cual la hipercalcemia recidiva (generalmente 48-72 horas). La calcitonina actúa sobre la membrana del osteoclasto que se contrae e inhibe la resorción. Asimismo provoca la disolución de los osteoclastos maduros en células mononucleares y también tiene un mecanismo inhibitorio a nivel de células precursoras de osteoclastos (Deftos et al., 2003).

Las hormonas sexuales y los glucocorticoides inhiben la resorción ósea, mientras que la tiroxina y la GH la estimulan. Se ha postulado recientemente el papel de la leptina en la inhibición de la formación ósea.

El exceso de hormona tiroidea puede provocar osteoporosis y los glucocorticoides estimulan la resorción ósea porque favorecen el descenso de la absorción de calcio provocando también osteoporosis. Los estrógenos reducen la formación de citoquinas cuyo descenso produce resorción osteoclástica hecho básico en la osteoporosis postmenopáusicas.

### **3.3.2. Factores Autocrinos y Paracrinos**

Estos factores son numerosos y constituyen un entramado funcional, en el que unos determinan o modifican la acción de otros.

En el desarrollo de los osteoclastos se han implicado citoquinas y factores estimuladores de colonias: interleuquinas 6 y 11, el factor de necrosis tumoral, el factor estimulador de las colonias de monocitos-macrófagos y el factor inhibidor de la leucemia. Entre los factores estimuladores de los osteoblastos se incluyen el factor transformante- $\beta$ , que también inhibe la apoptosis osteoblástica, las proteínas morfogenéticas del hueso, el factor de crecimiento fibroblástico, el factor de crecimiento derivado de las plaquetas y los factores de crecimiento similares a la insulina.

Los factores locales son producidos por células óseas, células sanguíneas (monocitos y linfocitos) y de la médula ósea, incluidas las del estroma medular. Su síntesis es regulada por las hormonas calciotropas y los estrógenos, y por otro lado, por elementos de la matriz ósea liberados durante la resorción, como los fragmentos del colágeno.



### **3.3.3. Factores Mecánicos**

El remodelado óseo se estimula por las propias fuerzas que actúan sobre el hueso. Las trabéculas óseas se disponen siguiendo la dirección de la máxima tracción y presión. Se ha postulado que las células óseas, especialmente los osteocitos, se comporten como auténticos mecanorreceptores.

### **3.3.4. Sistema RANK-RANKL-OPG**

El RANK (Receptor for Activation of Nuclear Factor kB) es un receptor de los osteoclastos, al que se le une el RANKL (Ligando del Rank), sintetizado en las células de estirpe osteoblástica y del estroma medular. La unión entre RANK y su ligando estimula la proliferación y la actividad de los osteoclastos, al tiempo que disminuye su apoptosis. La osteoprotegerina (OPG) es una sustancia secretada por los osteoblastos, capaz de unirse al RANKL, impidiendo su fusión al RANK. La relación entre ambos (RANKL y OPG) determinan la cantidad de hueso a reabsorber (Aubin et al., 2000).

### **3.3.5. Vía de señalización celular Wnt**

La vía de señalización celular Wnt es esencial para el desarrollo embrionario de todas las especies animales estudiadas hasta el momento así como en la regulación posterior de diversos tejidos y órganos. Controla la proliferación y diferenciación celular y el mantenimiento de las células madre. Su disfunción se relaciona con la carcinogénesis y se ha implicado en la patología de diversas enfermedades degenerativas.

Las proteínas Wnt ejercen diversas funciones en la génesis del esqueleto, que van desde la definición de patrones del esqueleto embrionario hasta el remodelado del esqueleto adulto, pasando por el desarrollo del esqueleto fetal. En el esqueleto adulto, las células madre mesenquimales se diferencian a células osteoprogenitoras bajo condiciones adecuadas. La vía canónica de señalización Wnt favorece la línea celular osteoblastogénica mediante el estímulo de la proliferación, diferenciación y maduración del osteoblasto a través de la inducción de los factores de transcripción osteogénicos. Además, inhibe la diferenciación del condrocito y del adipocito desde las células progenitoras. Asimismo regula la apoptosis tanto de los osteoprogenitores indiferenciados como de los osteoblastos diferenciados (Baron et al., 2007)

Los datos recientes *in vitro* e *in vivo* confirman que las proteínas Wnt inducen la producción de OPG por el osteoblasto inhibiendo la diferenciación del osteoclasto y la resorción ósea. Por tanto, la vía Wnt parece controlar indirectamente la osteoclastogénesis a través de sus efectos sobre los osteoblastos. Las observaciones sobre la relación con el sistema OPG/RANKL no sólo pueden ser relevantes en la osteoporosis sino también en las lesiones óseas asociadas a tumores y en diversas enfermedades osteoarticulares. El sistema Wnt parece actuar como estimulador o inhibidor en diferentes estadios de la diferenciación osteoblástica (Kamiya et al., 2008).

La familia Wnt está constituida por 19 glicoproteínas que actúan a través de la unión con los receptores de la lipoproteína de baja densidad 5 o 6 (LRP5 y LRP6). A estos receptores también se une la esclerostina y la proteína Dickkopf 1, y con ello se inhibe la vía Wnt, de manera similar a como la OPG neutraliza la acción del RANKL (Baron et al., 2007)

### **3.4. MODIFICACIONES EN EL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIDAD DE REMODELACIÓN**

En condiciones normales la masa ósea se mantiene hasta los 35-40 años, predominando la formación ósea, momento a partir del cual

predomina la resorción sobre la formación. A partir de entonces el balance óseo fisiológico es negativo, con mayor cantidad de hueso destruido por los osteoclastos que el formado por los osteoblastos. Este balance negativo determina la pérdida de masa ósea característica de la edad. Pero en determinadas situaciones patológicas, este fenómeno también puede incrementarse.

El aumento del recambio óseo tiene lugar a expensas de un aumento en el número de unidades de remodelación, o de un incremento en la actividad de las mismas, fenómenos que generalmente se dan se dan juntos. La situación resultante se denomina de alto recambio o remodelado. Cuando las unidades de remodelación están en situación de balance negativo, un incremento de su número determina una intensificación de la pérdida ósea.

Cuando el recambio óseo es excesivo se produce un debilitamiento y destrucción de la microestructura ósea. Una baja densidad mineral ósea (DMO) se asocia a un incremento de la porosidad cortical, y ambos fenómenos se asocian estrechamente a una reducción de la resistencia ósea.

Las situaciones de alto recambio que se dan a lo largo de la vida pueden ser fisiológicas, como la menopausia y el envejecimiento, y

patológicas, como el hipertiroidismo, el hiperparatiroidismo, o por la toma de ciertos fármacos osteopenizantes, o la inmovilización prolongada.

### **3.5. EVOLUCIÓN DE LA MASA ÓSEA**

El pico de masa ósea es la masa ósea máxima que se alcanza durante la vida. Su disminución es un factor de riesgo para la patogenia de las fracturas osteoporóticas. Su evolución depende fundamentalmente de factores genéticos, del ambiente hormonal, la actividad física y de la nutrición.

En España, en un estudio llevado a cabo en 241 individuos sanos de ambos sexos, midiendo la masa ósea mediante densitometría de doble energía de rayos X se ha demostrado que en mujeres, el pico de masa ósea total y regional se adquiere entre los 15 y los 19 años, mientras que en los varones no sucede hasta los 25- 29 años (Rico, 1992).

La pérdida de masa ósea es progresiva a partir de la cuarta década de la vida y se asocia con un aumento del recambio óseo paralelo a la edad (Smith et al., 1973). El resultado final es un decremento de la masa ósea que oscila entre un 0,5% y un 1% anual. En las mujeres se añade a lo anterior una rápida y marcada pérdida ósea en los años posteriores a la menopausia (3-5% anual durante 2-3 años), que va enlenteciéndose

paulatinamente (Recker et al., 2002). La pérdida de masa ósea puede intensificarse tanto en hombres como en mujeres si se dan situaciones que potencien el balance negativo. Muchas veces esa reducción de masa ósea no tiene repercusión clínica, ya sea porque la masa ósea inicial es suficientemente elevada como para no caer bajo el umbral de fractura, o porque el hueso no se vea sometido a sobrecargas superiores a su resistencia, pero en cualquier caso supone un mal punto de partida para afrontar la pérdida de masa ósea postmenopáusicas o involutiva.

### **3.6. CONCEPTO DE OSTEOPOROSIS**

La osteoporosis se define como una enfermedad ósea caracterizada por una disminución de la resistencia ósea que predispone a las fracturas (NIH Consensus, 2001). En 1994 un comité de expertos de la Organización Mundial de la Salud propuso el término osteoporosis para definir una categoría densitométrica aplicable a mujeres caucásicas posmenopáusicas que presentaban una densidad mineral ósea (DMO) igual o inferior a  $-2,5$  desviaciones estándar respecto a la población joven del mismo sexo, esto es, un valor de T menor de  $-2,52$  (World Health Organization, 1994).

### **3.7. CAMBIOS A NIVEL OSEO EN LA MENOPAUSIA**

La pérdida de DMO en mujeres postmenopáusicas se ha atribuido históricamente al descenso de los niveles de estrógenos.

Los hallazgos en estudios prospectivos de DMO durante la transición menopáusica demuestran una pérdida temprana de densidad ósea, particularmente en columna vertebral, produciéndose la mayor pérdida de DMO en el año anterior y los dos años posteriores a la fecha de última menstruación (Finkelstein et al., 2008).

Esta pérdida se asocia a niveles elevados de FSH, más que a la pérdida de estrógenos (Sun et al., 2006). La FSH tiene efectos directos sobre el hueso, aumentando el desarrollo y actividad de los osteoclastos, por la estimulación del RANKL.





## **II. HIPÓTESIS**

---



## **HIPÓTESIS**

---

Los niveles circulantes de 25-hidroxivitamina D (25OHD) en las mujeres postmenopáusicas de nuestro entorno son bajos. La suplementación con calcifediol debería inducir un aumento en los niveles circulantes de 25OHD y tener un efecto protector sobre la reabsorción ósea en la osteoporosis postmenopáusica.



### **III. OBJETIVOS**

---



## **OBJETIVOS**

---

El presente trabajo tiene como objetivos:

Conocer los niveles circulantes de 25OHD en una población de mujeres postmenopáusicas de nuestro entorno, tanto basales como trimestrales, para valorar las modificaciones que se puedan producir según la estación del año

Analizar el efecto de la suplementación con calcifediol sobre:

- Niveles de 25OHD en sangre
- Niveles de iones relacionados con el metabolismo óseo, calcio y fósforo.
- Marcadores de metabolismo óseo
- Parámetros de metabolismo hidrocarbonado
- Parámetros de riesgo cardiovascular





## **IV. MATERIAL Y METODOS**

---



## **1. DISEÑO DEL ESTUDIO**

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

- A. Estudio descriptivo de la población de tipo observacional.
- B. Estudio clínico longitudinal prospectivo

Las pacientes del estudio se reclutaron entre las mujeres atendidas en el Servicio de Obstetricia y Ginecología del Hospital Clínico Universitario de Valencia, es un centro de tercer nivel que cubre el Departamento de Salud número 5 de la Comunidad Valenciana.

La cohorte fue seleccionada entre las pacientes postmenopáusicas atendidas en las consultas externas de este centro, se les ofrecía la posibilidad de ser incluidas en este estudio cuando consultaban para controles regulares de salud.

Las participantes fueron incluidas tras la firma del correspondiente consentimiento informado, siguiendo los protocolos de legislación vigente. En este consentimiento se les explicaba las características del estudio, los tratamientos que iban a realizar, así como los riesgos que podrían conllevar.

En la visita inicial se realizaba a las pacientes una anamnesis correcta con un cuestionario inicial para conocer variables epidemiológicas analizadas en el estudio, entre las que se incluía:

- Edad
- Raza
- Peso
- Altura
- Índice de masa corporal (IMC)
- Edad en la menarquía
- Edad en la menopausia
- Tipo de menopausia (natural o iatrogénica – quirúrgica, quimioterapia, radioterapia)
- Paridad (número de gestaciones previas, partos y abortos)
- Presencia de enfermedades crónicas
- Consumo actual o previo de medicamentos.

También se consultaba a las pacientes a cerca de los factores de riesgo para osteoporosis, fracturas previas, consumo de tabaco y actividad física habitual. A todas ellas se les realizaba toma de tensión arterial, pulso, medida de cintura y medida de cadera.

## **2. PACIENTES Y MÉTODOS**

### **2.1. SELECCIÓN DE PACIENTES PARA EL ESTUDIO**

#### **2.1.1. Estudio descriptivo de la población**

La primera parte del estudio consistió en un análisis descriptivo de tipo observacional para caracterizar el nivel de vitamina D en la población. Se realizaron determinaciones en plasma de 25OHD.

Además, se analizaron también otros parámetros relacionados con el metabolismo óseo, como son PTH,  $\beta$ -CTX ( $\beta$ -telopéptido carboterminal del colágeno tipo 1), y los niveles de calcio, fosfato y fosfatasa alcalina. Además se analizaron inhibidores de la vía Wnt, entre los que se incluye DKK1 (proteína Dickkopf 1) y esclerostina.

Por otro lado, se estudiaron los niveles de parámetros relacionados con el metabolismo hidrogenado, con análisis de los niveles plasmáticos de glucosa basal e insulina basal, y con ello se calculó el índice HOMA-IR empleando la fórmula siguiente:  $[\text{glucosa basal (mmol/l)} \times \text{insulina basal } (\mu\text{U/ml)}] / 22,5$ .

Por último, se analizaron también los parámetros bioquímicos relacionados con metabolismo lipídico, entre los que se incluyeron los niveles de triglicéridos, colesterol total, HDL-colesterol y LDL-colesterol.

En esta primera parte del estudio se incluyó un total de 550 pacientes.

### **2.1.2. Estudio clínico longitudinal prospectivo**

Además de realizar el análisis descriptivo para caracterizar el nivel de vitamina D en la población, se les ofrecía a las pacientes la opción de participar en un estudio para valorar la eficacia de la suplementación de vitamina D con calcifediol, y el impacto de este tratamiento en otras dianas.

De entre todas las pacientes incluidas en el estudio descriptivo, 240 pacientes aceptaron ser sometidas a un seguimiento evolutivo y además acudieron a las visitas de control. Se distribuyó a las pacientes en dos grupos, según aceptaran utilizar el tratamiento o no. La muestra quedó de la siguiente manera:

- A. Pacientes tratadas con Hidroferol® (Calcifediol), n=120 pacientes
- B. Pacientes que no recibían ningún tratamiento, n=120 pacientes

Las pacientes fueron sometidas a dos analíticas de control a los 3 meses y 6 meses desde la visita inicial, analizando de nuevo los mismos parámetros que se habían analizado en la primera visita para el estudio descriptivo. Las pacientes tratadas con calcifediol llevaron el tratamiento durante los 6 meses.

## **2.2. FÁRMACO UTILIZADO**

El tratamiento utilizado en nuestro estudio es calcifediol, nombre comercial Hidroferol®, también llamado calcidiol o 25-OHD<sub>3</sub>.

Existen tres presentaciones, todas ellas por vía oral. Puede administrarse diariamente gotas que contienen 0.1 miligramos de calcidediol en 1 mililitro del producto. También existe una presentación en ampolla bebible considerada como tratamiento de choque, contiene 3 miligramos de calcifediol. Por último, existe también una presentación en forma de ampolla bebible que contiene 266 microgramos de calcifediol, que equivale a 15960UI de 25-OHD, puede administrarse con intervalos semanales, quincenales o mensuales según la patología que se pretenda resolver o el objetivo que se desee conseguir.

Esta fue la presentación utilizada en nuestro estudio, administrando a las pacientes dicha ampolla cada quince días durante 6 meses.

### **2.3. DETERMINACIONES ANALÍTICAS**

#### **2.3.1. Determinación de 25OHD**

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

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 25OHD<sub>3</sub>.

El principio fundamental del test consiste en:

Principio de competición con una duración total de 27 minutos.

Primera incubación: Al incubar la muestra (15 µL) con los reactivos pretratamiento (ditiotreitól 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.

### **2.3.2. Determinación de resto de parámetros bioquímicos**

Los niveles plasmáticos de PTH (pg/mL),  $\beta$ -CTX (ng/mL) y de insulina ( $\mu$ U/mL) fueron determinados con el empleo de un inmunoensayo electroquimioluminiscente (Autoanalizador E170 Modular Analyser; Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania).

Además se determinaron en suero mediante métodos de rutina automatizados, los siguientes marcadores bioquímicos de metabolismo óseo, metabolismo hidrocarbonado y de perfil lipídico: fósforo inorgánico total (mg/dl), calcio total(mg/dL), fosfatasa alcalina total (FA, U/L), glucosa (mg/dL), LDL (mg/dL), HDL (mg/dL), colesterol (mg/dL), triglicéridos (mg/dL), por métodos espectrofotométricos mediante analizador automático (OLYMPUS 5400)

Los niveles de DKK1 y esclerostina se ensayaron mediante un ELISA instantáneo (R&D Systems Europe, Abingdon, Reino Unido)

## 2.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el análisis de los datos, se aplicaron Modelos Lineales Generales (MLG) de análisis de la variancia (ANOVA) y MLG Medidas repetidas. Para aplicar el modelo MLG Multivariante Medidas repetidas, se asumieron los siguientes 2 supuestos: (1) los datos de las variables dependientes eran una muestra de vectores aleatoria perteneciente a una distribución Normal multivariante; y (2) la matriz de varianzas-covarianzas era igual en todos los grupos. Además, debido a que no hay razones para aplicar un modelo MLG multivariante si las variables dependientes no están correlacionadas, se practicó la prueba de esfericidad de Bartlett, la cual permite contrastar la hipótesis nula de que la matriz de varianzas-covarianzas residual es proporcional a una matriz identidad, es decir, la hipótesis de que las variables dependientes no están correlacionadas y son independientes entre ellas.

Se realizó el test de una-muestra de Kolmogorov-Smirnov para comprobar si las variables seguían una distribución Normal. Cuando las variables no presentaban esta distribución, se aplicó la transformación logarítmica o raíz cuadrada para inducir la Normalidad.

Para determinar si existían efectos significativos del factor categórico “calcifediol” sobre las variables dependientes simultáneamente, se utilizó el

estadístico Wilks' lambda. En los ANOVAs, se aplicó la prueba de homogeneidad de varianzas de Levene, la cual contrasta la hipótesis nula de que la varianza de cada una de las variables dependientes es la misma en los 2 niveles del factor categórico. En las comparaciones entre grupos, se adoptó el nivel de significatividad de  $P \leq 0.05$ . Los errores se expresan como desviaciones estándares. Todo el análisis estadístico se realizó con el Paquete Estadístico para Ciencias Sociales (IBM SPSS Statistics, versión 22; © Copyright IBM Corporation 1989-2013).

## **V. RESULTADOS**

---



## **1. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA POBLACIÓN**

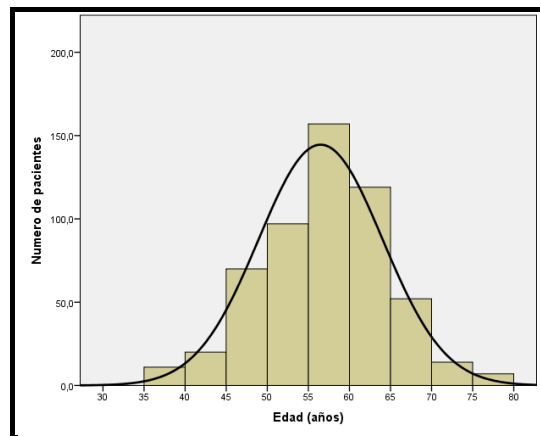
La primera parte del presente estudio consistió en un análisis amplio de los niveles de 25OHD en la población del área sanitaria del Hospital de Clínico Universitario de Valencia. Como se ha señalado en el apartado de "Pacientes y Métodos", para este estudio se utilizó una muestra de pacientes del Servicio de Ginecología y Obstetricia que acudían a consulta para controles regulares de salud. La muestra consistió en un total de 550 mujeres postmenopáusicas, con menopausia natural o iatrogénica, a las que se tomó muestras de sangre y se realizó la determinación de los niveles plasmáticos de 25OHD en el Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Clínico Universitario de Valencia, siguiendo la metodología ya descrita.

### **1.1. Variables epidemiológicas de la población**

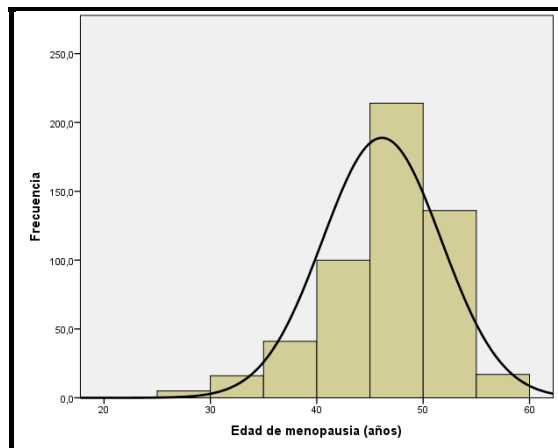
Los datos demográficos y las características clínicas basales se muestran en la Tabla 2.

La edad media de las pacientes era de 56.49 años (Figura 4). La edad media a la que presentaron la menarquía las pacientes era de 12.64 años, la edad media a la que presentaron la menopausia era de 46.11 años (Figura 5),

todas las pacientes habían tenido su última menstruación hacía mínimo un año. La media de años transcurridos desde la menopausia era de 10.49 años. En nuestra población un 71.8% presentaron una menopausia natural y el 28.2% restante una menopausia iatrogénica, ya fuera quirúrgica (23.9%) o por tratamientos oncológicos de quimioterapia y radioterapia.



**Figura 4. Histograma de frecuencias de edad**



**Figura 5. Histograma de frecuencias de edad de menopausia**



**Tabla 2. Datos demográficos y clínicos del grupo de estudio**

	<b>MEDIA</b>	<b>DE</b>	<b>MEDIANA</b>	<b>RI</b>
Edad (años)	56.5	±7.55	57	51-61
Edad menarquia (años)	12.6	±1.59	13	12-14
Edad menopausia (años)	46.1	±5.67	47	43-50
Años de menopausia (años)	10.5	±7.38	10	5-15
Gestaciones	2.18	±1.33	2	1-3
Partos	1.85	±1.09	2	1-2
Peso (kg)	66.1	±11.17	65.5	58-72
Talla (cm)	157.8	±6.06	158	153-162
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	26.6	±4.38	26.7	23.5-28.9
Perímetro cintura (cm)	84.9	±10.85	84	77.5-92
Perímetro cadera (cm)	101.7	±9.04	101	95-107
Tensión sistólica (mmHg)	134	±21.03	131	119-148
Tensión diastólica (mmHg)	82	±12.08	82	74-90
Frecuencia cardíaca	77	±11.29	77	70-84

(DE = Desviación Estándar, RI = Rango Intercuartílico)

La altura media de las pacientes era de 157.83 centímetros, el peso medio era de 66.11 kilogramos, el índice de masa corporal (IMC) medio de nuestra población era de 26.57 Kg/m<sup>2</sup>.

La medida de cintura media era de 84.89 centímetros, la medida de cadera media era de 101.72 centímetros, la media de la relación entre la cintura y la cadera era de 0.83.

En cuanto a los antecedentes obstétricos, la media de gestaciones previas de las pacientes de nuestro estudio era de 2.18 gestaciones, con 1.85 partos previos y 0.34 abortos previos.

En lo referente a hábitos de consumo de tóxicos y actividad física, al ser interrogadas acerca del consumo de tabaco encontramos que el 27.3% eran pacientes fumadoras, y que el 58.4% realizaban ejercicio físico de forma habitual.

## **1.2. Niveles plasmáticos de 25OHD**

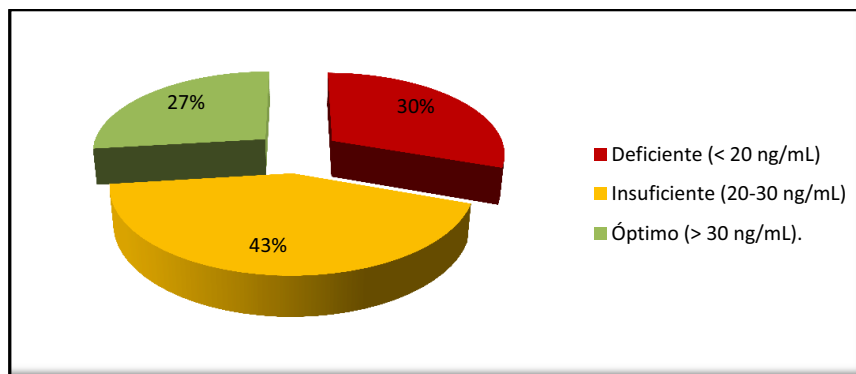
Se realizó un análisis de la distribución de los niveles plasmáticos de 25OHD para distinguir los grados de deficiencia vitamínica, y siguiendo la metodología habitual en los trabajos relacionados con la vitamina D, se definieron tres categorías:

Categoría 1. Pacientes con niveles plasmáticos de 25OHD inferiores a 20 ng/ml. Nivel deficiente.

Categoría 2. Pacientes con niveles plasmáticos de 25OHD inferiores a 30 ng/ml pero igual o superiores a 20 ng/ml. Nivel insuficiente.

Categoría 3. Pacientes con niveles plasmáticos de 25OHD igual o superiores a 30 ng/ml. Nivel óptimo.

La figura 6 muestra la distribución del grado de deficiencia de 25OHD en la población incluida en nuestro estudio. Se puede observar que el 30% de las mujeres presentaron niveles deficientes, el 43% niveles insuficientes y sólo el 27% presentaron niveles óptimos (> 30 ng/mL).



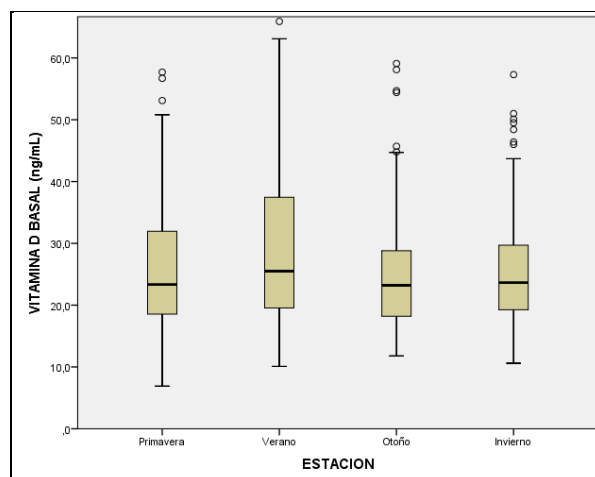
**Figura 6. Distribución de los niveles de 25OHD en suero**

Si se considera el criterio de que los niveles plasmáticos de 25OHD son óptimos cuando superan el nivel de 30 ng/ml, los resultados obtenidos en las pacientes estudiadas demuestran que la población global en su conjunto presenta un valor medio por debajo del valor óptimo, con una media de 26.60 (desviación estándar  $\pm$  12.2ng/ml), y una mediana de 23.8ng/ml (rango intercuartílico 18.8-31.4 ng/ml).

### 1.2.1. Distribución estacional de los niveles de 25OHD

Con el objeto de caracterizar de una forma más precisa el estatus de la 25OHD en la población estudiada se realizó un análisis más detallado, y dada la interrelación entre los niveles plasmáticos 25OHD y la intensidad de la irradiación solar, se tuvo en cuenta el periodo estacional en el que se realizaron las determinaciones. Que una mujer fuese examinada en un periodo u otro dependió únicamente de motivos de agenda.

Los resultados de este estudio (Figura 7) demostraron que los niveles plasmáticos de 25OHD variaban significativamente ( $p < 0,05$ ) entre el periodo de alta irradiación solar en verano, cuando alcanzaron niveles medios de  $30.84 \pm 16.81 \text{ ng/ml}$ , y el resto de estaciones del año con menor irradiación solar, siendo la media en primavera de  $25.94 \pm 11.24 \text{ ng/ml}$ , en otoño de  $25.73 \pm 11.29 \text{ ng/ml}$  y en invierno de  $24.91 \pm 10.99 \text{ ng/ml}$



**Figura 7. Niveles sanguíneos de 25OHD según la estación del año**

### 1.3. Niveles plasmáticos de otros parámetros del metabolismo óseo

La Tabla 3 muestra diferentes parámetros relacionados con el metabolismo óseo que fueron valorados en este estudio, calculando las medias de los niveles plasmáticos de dichos parámetros en sangre de forma estratificada en tres grupos según el valor de 25OHD de la paciente, para establecer si se evidenciaba algún tipo de repercusión en ellos cuando los niveles de 25OHD están por debajo del nivel óptimo.

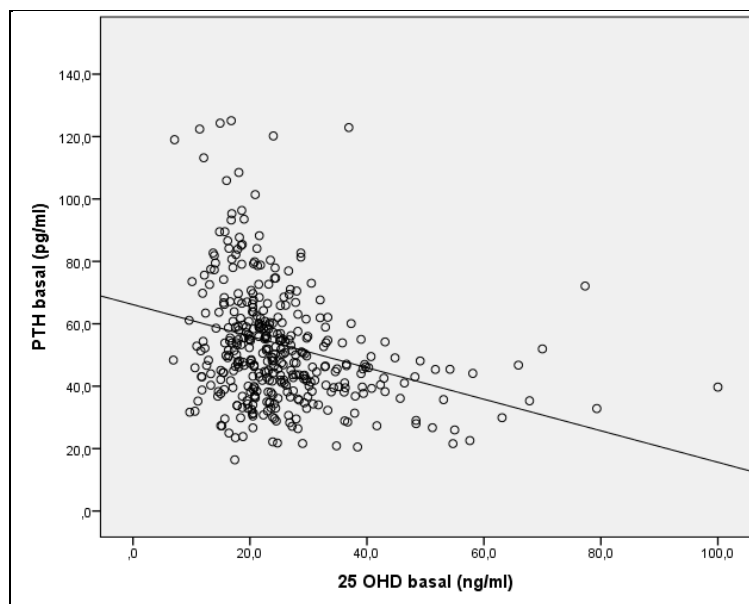
**Tabla 3. Diferencias en niveles de parámetros de metabolismo óseo**

PARÁMETRO	NIVELES DE 25OHD		
	DEFICIENTES (< 20ng/mL)	INSUFICIENTES (20-30ng/mL)	ÓPTIMOS (> 30ng/mL)
25OHD (ng/mL)	15.98±2.96 <sup>a</sup> (n=167)	24.32±2.83 (n=235)	42.20±12.45(n=148)
PTH (pg/mL)	59.98±24.26(n=127)*	53.11±25.61(n=182)*	43.39±14.45(n=76)*
β-CTX (ng/mL)	0.46±0.24(n=162)	0.44±0.23(n=214)	0.41±0.20(n=141)
Calcio total (mg/dL)	9.80±0.47(n=163)	9.83±0.41(n=230)	9.74±0.40(n=145)
Fósforo (mg/dL)	3.67±0.52(n=163)	3.66±0.52(n=231)	3.67±0.51(n=144)
Fosfatasa alcalina (U/L)	190.91±72.29(n=161)	172.84±45.67(n=225)	172.79±52.50(n=132)
DKK-1 (ng/mL)	4.19±3.17(n=62)	3.76±2.11(n=73)	4.38±1.84(n=32)
Esclerostina (pmol/L)	545.37±299.86(n=44)	682.64±211.48(n=62)	416.2±226.3(n=21)

<sup>a</sup>Media ± desviación estándar

\*p<0.05

Dado que los resultados del análisis sobre los niveles de 25OHD en la población estudiada demostraban niveles inferiores a los recomendables, y teniendo en cuenta que es bien conocida la existencia de una interrelación entre los niveles de 25OHD y los de hormona paratiroidea (PTH), se estudió entre otros, los niveles de PTH en las pacientes. Los resultados de este estudio demostraron que los niveles plasmáticos de PTH eran superiores en las pacientes con una deficiencia de 25OHD, con una diferencia estadísticamente significativa frente a la media de PTH en pacientes con niveles óptimos de 25OHD en suero, existiendo una correlación negativa entre ambos (Figura 8).



*Figura 8. Correlación entre los niveles basales de PTH y 25OHD*

En el resto de parámetros analizados relacionados con el metabolismo óseo, tanto iones, como  $\beta$ -CTX, como inhibidores de la vía Wnt, en los que se incluye DKK1 y esclerostina, no se establecieron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo con niveles óptimos de 25OHD y los grupos con niveles deficientes de 25OHD.

#### **1.4. Estudio de parámetros del metabolismo hidrocarbonado**

Se realizó también un estudio detallado de los niveles de glucemia e insulinemia, y con ello se calculó el índice HOMA (según se define en el apartado de “Material y Métodos”), para valorar si se podía evidenciar diferencias en estos parámetros bioquímicos en el grupo de pacientes con niveles deficientes de 25OHD.

En la Tabla 4 se exponen los valores medios obtenidos de glucemia e insulina en suero para cada grupo de pacientes según si los niveles de 25OHD en suero eran óptimos, insuficientes o deficientes.

Sí que se evidenció valores medios de insulina en sangre más altos en las pacientes con niveles deficientes o insuficientes de 25OHD, con una diferencia estadísticamente significativa frente a las pacientes con niveles óptimos de 25OHD. También se observó en el estudio que las pacientes con deficiencia de 25OHD tenían niveles de glucemia más elevados que las

## RESULTADOS

---

pacientes con valores óptimos de 25OHD, con una diferencia estadísticamente significativa.

**Tabla 4. Diferencias en valores medios en suero de parámetros de metabolismo hidrocarbonado**

PARÁMETRO	NIVELES DE 25OHD		
	DEFICIENTES (< 20ng/mL) (n= 164)	INSUFICIENTES (20-30ng/mL) (n= 230)	ÓPTIMOS (> 30ng/mL) (n= 143)
<b>Insulina (μU/ml)</b>	9.77 ± 6.4 <sup>a**</sup>	8.24 ± 4.5**	7.26 ± 5.6**
<b>Glucosa (mg/dl)</b>	104.27 ± 30.3**	99.09 ± 17.1	98.29 ± 14.7
<b>Índice HOMA</b>	2.60 ± 2.3**	2.04 ± 1.3	1.81 ± 1.6

<sup>a</sup>Media ± desviación estándar

\*\*p<0.05

Es por ello, en consecuencia, que el índice HOMA de las pacientes con hipovitaminosis era más elevado, con una diferencia estadísticamente significativa frente a las pacientes con niveles óptimos.

### 1.5. Estudio de parámetros del metabolismo lipídico

En nuestro estudio se incluyó también un análisis de parámetros bioquímicos del metabolismo lipídico. La Tabla 5 muestra los valores



medios de triglicéridos, colesterol total, HDL y LDL en los diferentes grupos de niveles de 25OHD ya descritos previamente.

*Tabla 5. Diferencias en valores medios en suero de parámetros de metabolismo lipídico*

PARÁMETRO	NIVELES DE 25OHD		
	DEFICIENTES ( $< 20\text{ng/mL}$ ) (n= 166)	INSUFICIENTES ( $20\text{-}30\text{ng/mL}$ ) (n= 233)	ÓPTIMOS ( $> 30\text{ng/mL}$ ) (n= 147)
<b>Colesterol total (mg/dl)</b>	224.33 $\pm$ 36.6 <sup>a</sup>	222.33 $\pm$ 36.2	217.14 $\pm$ 33.1
<b>HDL (mg/dl)</b>	66.98 $\pm$ 16.2	66.18 $\pm$ 13.5	66.63 $\pm$ 13.8
<b>LDL (mg/dl)</b>	134.73 $\pm$ 31.4	135.87 $\pm$ 32.9	131.06 $\pm$ 29.5
<b>Triglicéridos (mg/dl)</b>	114.98 $\pm$ 66.0**	104.34 $\pm$ 50.6	97.31 $\pm$ 37.1

<sup>a</sup>Media  $\pm$  desviación estándar

\*\*p<0.05

Se evidenció niveles medios de triglicéridos en suero más altos en las pacientes con niveles deficientes de 25OHD, con una diferencia estadísticamente significativa frente a las pacientes con niveles óptimos de 25OHD. En los valores de colesterol, tanto total como HDL y LDL, no se mostraron diferencias.

## **2. ESTUDIO LONGITUDINAL PROSPECTIVO**

La segunda parte de nuestro estudio consistió en un análisis clínico longitudinal, aleatorio y prospectivo, para valorar la eficacia de la suplementación con el preparado de Vitamina D calcifediol en las mujeres postmenopáusicas.

En este estudio se incluyó 240 pacientes distribuidas en dos grupos de forma aleatoria, resultando un grupo de 120 pacientes tratadas con Calcifediol y otro grupo de 120 pacientes a las que no se les administraba ningún preparado de Vitamina D.

### **2.1. Variables epidemiológicas de los grupos**

Las Tabla 6 muestra los datos epidemiológicos de las mujeres sin suplemento y las pacientes suplementadas con calcifediol. Las características epidemiológicas de ambos grupos eran similares, y no se evidenciaban diferencias estadísticamente significativas en la edad, peso, talla, IMC, paridad o años transcurridos desde la última menstruación.

**Tabla 6. Características epidemiológicas de las pacientes controles y suplementadas con calcifediol**

	<b>Grupo control (n=120)</b>	<b>Grupo calcifediol (n=120)</b>	<b>P</b>
<b>Edad (años)</b>	56.57 ± 8.4 <sup>a</sup> (37-78) <sup>b</sup>	56.25 ± 7.3 (37-78)	0.8
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	26.1 ± 3.6 (17-34)	27.3 ± 4.9 (18-37)	0.06
<b>Gestaciones</b>	2.23 ± 1.3 (0-7)	2.27 ± 1.3 (0-6)	0.8
<b>Partos</b>	1.91 ± 1.1 (0-6)	1.93 ± 1.1 (0-6)	0.9
<b>Años desde la menopausia</b>	10.20 ± 7.2 (1-33)	10.69 ± 7.6 (1-36)	0.6

<sup>a</sup>Media ± desviación estándar<sup>b</sup>Rango

## 2.2. Niveles de 25OHD en suero

La Tabla 7 presenta los valores medios en suero de 25OHD previo al inicio del estudio, a los 3 meses y a los 6 meses de iniciar la suplementación con calcifediol.

Ambos grupos eran comparables en cuanto a la medida en suero de 25OHD basal al inicio del estudio, pues no se establecen diferencias estadísticamente significativas.

**Tabla 7. Valores de 25OHD en suero basales y tras suplementación**

25OHD(ng/ml)	Grupo control (n=120)	Grupo calcifediol (n=120)	P
<b>Basal</b>	21.66 ± 4.8 <sup>a</sup> (9.7 - 36.7)	20.38 ± 6.6 (6.9 - 40.3)	0.078
<b>Tras 3 meses</b>	22.51 ± 4.9 (4.4 - 41.0)	41.16 ± 18.2 (7.4 - 100)	0.001
<b>Tras 6 meses</b>	23.68 ± 7.9 (11.3 - 44.8)	40.96 ± 18.4 (10.8 - 100)	0.001

<sup>a</sup>Media ± desviación estándar

Se establecen claramente diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.001$ ) entre el grupo suplementado con calcifediol y el grupo no suplementado en cuanto a la media de niveles de 25OHD en suero a los 3 meses y 6 meses de iniciar el tratamiento, mostrando el primer grupo cifras más elevadas de 25OHD

Sin embargo, no se evidencia aumento de los niveles de 25OHD a partir de los 3 meses de suplementación con calcifediol.

### 2.3. Niveles de otros parámetros del metabolismo óseo

A continuación se exponen diversas tablas en las que se establecen las diferencias de los valores medios de otros parámetros relacionados con el

metabolismo óseo entre el grupo suplementado con calcifediol y el grupo control.

En la Tabla 8 se muestran los valores medios de  $\beta$ -CTX para ambos grupos, tanto basales como a los 3 y 6 meses de iniciar el tratamiento, no evidenciándose diferencias significativamente estadísticas entre ambos grupos.

**Tabla 8. Valores de  $\beta$ -CTX en suero basales y tras suplementación**

$\beta$ -CTX (ng/ml)	Grupo control (n=57)	Grupo calcifediol (n=66)	P
<b>Basal</b>	0.54 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	0.48 $\pm$ 0.2	0.14
<b>Tras 3 meses</b>	0.49 $\pm$ 0.3	0.45 $\pm$ 0.3	0.42
<b>Tras 6 meses</b>	0.46 $\pm$ 0.3	0.40 $\pm$ 0.2	0.19

<sup>a</sup>Media  $\pm$  desviación estándar

La Tabla 9 expone la media de niveles de PTH para ambos grupos, al igual que en análisis previos, basales como a los 3 y 6 meses de iniciar el tratamiento, no se evidencian diferencias significativamente estadísticas entre ambos grupos.

**Tabla 9. Valores de PTH en suero basales y tras suplementación**

PTH(pg/ml)	Grupo control (n=42)	Grupo calcifediol (n=65)	P
<b>Basal</b>	61.78 ±42.3 <sup>a</sup>	56.01±23.4	0.36
<b>Tras 3 meses</b>	57.27 ± 29.0	49.10 ± 19.8	0.09
<b>Tras 6 meses</b>	58.60 ± 31.52	50.16 ± 20.32	0.09

<sup>a</sup>Media ± desviación estándar

En la Tabla 10 se describen las medias de los niveles de iones relacionados con el metabolismo óseo. No se establecen diferencias significativas entre ambos grupos.

**Tabla 10. Valores calcio, fósforo y fosfatasa alcalina en suero**

	Grupo control (n=65)	Grupo calcifediol (n=72)	P
<b>Calcio (mg/dL)</b>			
Basal	9.89 ± 0.4 <sup>a</sup>	9.92 ± 0.4	0.5
3 meses	9.85 ± 0.4	10.02 ± 0.4	0.9
6 meses	9.88 ± 0.4	9.98 ± 0.4	0.9
<b>Fósforo (mg/dL)</b>			
Basal	3.70 ± 0.5	3.69 ± 0.5	0.4
3 meses	3.76 ± 0.5	3.79 ± 0.5	0.6
6 meses	3.75 ± 0.5	3.75 ± 0.5	0.2
<b>Fosfatasa alcalina (U/L)</b>			
Basal	193.32 ± 44.3	183.70 ± 53.4	0.4
3 meses	194.42 ± 54.3	174.42 ± 54.9	0.7
6 meses	192.12 ± 48.5	176.58 ± 50.7	0.8

<sup>a</sup>Media ± desviación estándar

La Tabla 11 muestra el estudio de los valores medios de inhibidores de la vía Wnt, DKK1 y esclerostina, tanto en el grupo suplementado con calcifediol como en el grupo control.

**Tabla 11. Valores de inhibidores Wnt en suero**

	<b>Grupo control (n=54)</b>	<b>Grupo calcifediol (n=61)</b>	<b>P</b>
<b>DKK1 (ng/ml)</b>			
Basal	3.91±1.9 <sup>a</sup>	4.09±3.6	0.2
3 meses	3.93±1.9	4.59± 3.6	0.2
6 meses	3.61±1.7	4.44±3.2	0.09
<b>Esclerostina (pmol/L)</b>			
Basal	445.63±269.4 <sup>a</sup>	783.74± 980.59	0.02
3 meses	487.62± 327.0	665.16± 685.5	0.2
6 meses	450.21±284.4	597.97±993.57	0.2

<sup>a</sup>Media ± desviación estándar

En el caso de los niveles de DKK1 no se evidencian diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en ninguna de las medidas realizadas.

Sin embargo, los niveles medios basales de esclerostina eran mayores en las pacientes suplementadas con calcifediol que en las pacientes a las que no se les dio tratamiento, con una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ). En cualquier caso, esta diferencia se establecía previamente a iniciar el tratamiento.

#### 2.4. Estudio de parámetros del metabolismo lipídico e hidrocarbonado

Para valorar la interferencia de la suplementación con calcifediol en el metabolismo hidrocarbonado y lipídico, se analizó los niveles de Insulina y Glucosa en las pacientes, calculando con ello el Índice Homa (según se describe en el apartado de *Material y Métodos*), además de analizar también los niveles de triglicéridos, colesterol total, HDL y LDL. La Tabla 12 muestra los valores medios de estos parámetros.

**Tabla 12. Valores de Índice Homa y lípidos**

	<b>Grupo control (n=67)</b>	<b>Grupo calcifediol (n=74)</b>	<b>P</b>
<b>Índice Homa</b>			
Basal	2.65 ± 2.1 <sup>a</sup>	2.32 ± 1.7	0.2
3 meses	2.20 ± 1.8	2.28 ± 1.9	0.9
6 meses	2.63 ± 2.0	2.56 ± 2.5	0.7
<b>Colesterol total (mg/dl)</b>			
Basal	222.18 ± 35.5	227.54 ± 36.1	0.4
3 meses	218.87 ± 34.9	225.59 ± 36.7	0.3
6 meses	222.13 ± 38.5	222.22 ± 31.8	0.9
<b>HDL (mg/ml)</b>			
Basal	63.61 ± 14.7	69.68 ± 15.3	0.9
3 meses	65.16 ± 20.3	68.81 ± 13.9	0.7
6 meses	64.91 ± 12.9	68.00 ± 13.4	0.6
<b>LDL (mg/ml)</b>			
Basal	138.78 ± 32.0	135.63 ± 33.9	0.8
3 meses	133.70 ± 33.8	135.01 ± 34.3	0.9
6 meses	136.55 ± 35.1	131.59 ± 30.7	0.2
<b>Triglicéridos(mg/ml)</b>			
Basal	98.97 ± 38.9	112.78 ± 58.6	0.1
3 meses	103.66 ± 53.1	108.75 ± 47.9	0.5
6 meses	103.18 ± 37.8	111.77 ± 51.3	0.2

<sup>a</sup>Media ± desviación estándar



Tras evaluar los resultados obtenidos, no se evidencian diferencias estadísticamente significativas tanto en los parámetros bioquímicos relacionados con el metabolismo hidrocarbonado como en los relacionados con el metabolismo lipídico, por lo que no se considera que en el grupo suplementado con calcifediol se establezcan cambios en dichos parámetros.



## **IV. DISCUSSION**

---



## **1. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE NIVELES PLASMÁTICOS DE 25OHD**

El presente estudio ha permitido caracterizar el estatus de vitamina D en un sector de la población de mujeres postmenopáusicas mediante la determinación de los niveles sanguíneos de 25OHD, que es el metabolito circulante que ha sido descrito como el marcador que mejor refleja el status de la vitamina D en el organismo (Bischoff-Ferrari, 2008), encontrándose una elevada prevalencia de niveles insuficientes.

Aunque la valoración de los resultados obtenidos no es sencilla debido a que no existe un criterio totalmente consensuado sobre cuáles son los niveles que reflejan un estatus óptimo de 25OHD, una primera conclusión de nuestro estudio es que la población estudiada presenta en su conjunto un nivel medio no óptimo de vitamina D y que un porcentaje muy significativo de las pacientes postmenopáusicas presentan una deficiencia muy marcada.

Clásicamente se ha considerado que niveles en sangre de 25OHD por encima de 18-20 ng/ml suponían un estado de normalidad (Dawson-Hughes et al., 2005). Según este criterio, se hablaba de insuficiencia para niveles inferiores a 10-12 ng/ml y deficiencia para valores por debajo de 5-

7 ng/ml. Sin embargo este criterio fue revisado posteriormente por un número creciente de autores que consideraron que niveles normales desde el punto de vista estrictamente estadístico pueden ser en realidad insuficientes desde un punto de vista fisiológico y sanitario. Así, se ha descrito que un nivel sanguíneo de 20 ng/ml puede ser suficiente para asegurar una adecuada absorción de calcio (Heaney et al., 2003) pero no así para una adecuada actividad neuromuscular, para lo que es necesario un nivel más elevado, por encima de 30 ng/ml (Holick, 2007). Es por ello que consideramos que los resultados obtenidos en las pacientes de nuestro estudio muestran una insuficiencia de 25OHD, pues presentan un valor medio de 26.6 ng/ml.

Este mismo autor establece el concepto de insuficiencia de vitamina D para los pacientes que presentan niveles de 25OHD en suero entre 21 a 29ng/ml, y que valores de 25OHD por encima de 30ng/ml se consideran óptimos. De la misma forma y basándose en publicaciones posteriores (Holick et al., 2011), The Endocrine Society plantea tres categorías según los niveles de 25OHD en suero: deficiencia si niveles de vitamina D inferiores a 20 ng/ml ( $< 50$  nmol/l), insuficiencia si niveles entre 21 y 29 ng/ml (51-74 nmol/l) y suficiencia si niveles superiores a 30 ng/ml ( $\geq 75$  nmol/l). Aunque no es un criterio unánimemente aceptado, esta clasificación es la más utilizada en la actualidad para definir el estatus de

vitamina D, como reflejan otros autores que también definen el concepto de insuficiencia de vitamina D para pacientes que presentan niveles de 25OHD por debajo de 30ng/ml (Rosen, 2011). Es por ello que en el estudio descriptivo de nuestra población establecemos tres grupos, considerando que las pacientes que presentan niveles de 25OHD menores a 20ng/ml tienen una deficiencia de vitamina D, las pacientes que presentan niveles de 25OHD entre 20ng/ml y 30ng/ml tienen una insuficiencia de vitamina D, y las pacientes que presentan valores igual o superiores a 30ng/ml tienen niveles óptimos de vitamina D. Con ello mostramos que, en la población de nuestro estudio, el 30% de las mujeres postmenopáusicas presentan una deficiencia de vitamina D, en el 43% de las pacientes se aprecia una insuficiencia de vitamina D, y sólo el 27% de las mujeres postmenopáusicas presentan niveles óptimos.

La dificultad en la interpretación de todo resultado sobre la vitamina D radica en que ésta tiene un efecto pleiotrópico y los requerimientos para los distintos aspectos de su actividad no son homogéneos sino que parecen variar sustancialmente. Este aspecto se ha visto reforzado recientemente por el descubrimiento de que la vitamina D parece tener un efecto protector del organismo frente al desarrollo de procesos neoplásicos, pero tal efecto sólo tiene lugar cuando los niveles plasmáticos de 25OHD se elevan hasta valores extremadamente altos, del orden de más de 50 ng/ml. En este

sentido, se ha descrito recientemente que la elevación de los niveles plasmáticos de 25OHD hasta 52 ng/ml da lugar a una reducción en el 50% de los cánceres de mama (Garland et al., 2011).

Algunos especialistas consideran que los valores óptimos de vitamina D varían entre los distintos grupos de una misma población, por lo que no es posible proponer un nivel óptimo de aplicación general. Además, muchos estudios centran sus objetivos en demostrar los niveles plasmáticos mínimos necesarios para prevenir el riesgo de fracturas, estableciendo en algunos casos la necesidad de mantener niveles de 25OHD por encima de 50ng/ml (Need, 2005). Así, un grupo considerado sin ninguna duda como de alto requerimiento de vitamina D es el constituido por las mujeres embarazadas. Diversas revisiones bibliográficas sugieren que un nivel bajo de 25OHD durante la gestación constituye un problema sanitario muy relevante (Bischoff-Ferrari et al., 2006; De-Regil et al., 2012).

La controversia sobre los niveles óptimos de vitamina D llega al extremo de que algunos autores sostienen que la insuficiencia crónica de vitamina D es un padecimiento que presentan prácticamente la totalidad de las personas, tanto en el mundo occidental como en el tercer mundo (Hollis et al., 2007). Estos autores basan su afirmación en el hecho de que los niveles del principio activo, la 1,25(OH)<sub>2</sub>D, apenas muestran variaciones



sustanciales ni siquiera en casos extremos donde el aporte del precursor de la vitamina D es muy alto, como sucede en jóvenes Hawaianos con importantes exposiciones solares o mujeres lactantes que recibían un complemento de 6.400 UI de vitamina D por día (Hollis et al., 2007). En estos casos se encontró que era necesario que los niveles de 25OHD superasen los 40 ng/ml e incluso los 50 ng/ml para empezar a detectar cambios en la concentración de forma final en la sangre. Este hallazgo fue interpretado en términos dinámicos como que la saturación de la reacción de producción del principio activo no se alcanzaba por debajo de niveles de 50 ng/ml de 25OHD en sangre. Este resultado implica que todo el 25OHD disponible se utiliza para generar el principio activo y que prácticamente nada se almacena. Sobre la base de este dato, estos autores han considerado que el nivel de 40 ng/ml e incluso el de 50 ng/m podría representar el límite inferior de los niveles de 25OHD normales, lo que implica que la mayoría de las personas presentan una insuficiencia crónica del precursor (Hollis et al., 2007). Consideramos que estos trabajos realizados en Hawai son relevantes para el análisis de los resultados de nuestro trabajo ya que Valencia tiene un clima soleado y caluroso. No obstante es relevante señalar que si bien las condiciones climáticas de nuestra población pueden ser próximas a las de la población hawaiana, los hábitos alimenticios son muy diferentes.

Es importante señalar que se ha descrito que la exposición solar es siempre un medio mucho más potente para la producción de vitamina D que la ingesta oral. Se ha estimado que la producción de vitamina D tras sólo unos minutos de exposición a la luz solar supera a las fuentes dietéticas en un orden de magnitud (Poskitt et al., 1979, Holick et al., 2007). Así, se ha calculado que cuando una persona joven de piel blanca expone su piel al sol en el verano se producen unos 20.000 UI de vitamina D en 30 minutos (Hollis, 2005), lo que es el equivalente de unos 200 vasos de leche o bien 50 tabletas estándar de multivitaminas (400 IU/tableta). Nuestros resultados son coherentes con esta línea pues demuestran que los niveles de 25OHD de nuestros pacientes varían sustancialmente dependiendo de que se realicen en el periodo de alta o baja irradiación solar. Los resultados obtenidos muestran que en el período de mayor irradiación solar, en verano, los valores medios de la población fueron de 30.8 ng/ml mientras que en el resto de estaciones del año, el valor medio de la población fue siempre menor a 30 ng/ml.

Se ha descrito que en las regiones situadas a una latitud de 45° norte o menos, la capacidad del sol para generar vitamina D está restringida a la primavera y el verano, y que por encima de aproximadamente 35° de latitud se produce poca o ninguna vitamina D<sub>3</sub> en la piel durante el invierno, cuando los rayos de sol son más oblicuos (Holick and Chen et al., 2007).

La latitud de Valencia es de 39.47° N (Longitud 0.38 W ), lo que implica que no existe síntesis de vitamina D durante los periodos de otoño e invierno por lo que en esos periodos toda la vitamina D procede de la dieta. Además, se ha descrito que en los países más meridionales, a pesar de su mayor irradiación solar, es donde la población presenta valores más bajos de 25OHD (Thacher et al., 2011). Esto último puede ser debido a que en zonas excesivamente cálidas se hace necesario evitar la exposición directa al sol debido a las altas temperaturas. También se ha descrito que hasta el 30% de las personas de 60 o más años que viven en latitudes por debajo de 45° N presentan insuficiencia para la vitamina D en invierno y que hasta el 26% de las personas que residen en regiones con latitud por encima de los 40° N presentan insuficiencia para la vitamina D en verano (Looker et al., 2002). Además, existe en el mundo occidental un hábito cada vez más extendido de protección frente a la irradiación solar, debido en parte al riesgo de melanomas malignos. Esto hace que en zonas como Miami, en Florida, que presenta un clima subtropical, exista una alta incidencia de déficit de vitamina D (Levis et al., 2005).

También se ha observado en estudios previos que la insuficiencia de 25OHD está generalmente asociada con un aumento en los niveles plasmático de PTH, y que la elevación del nivel de 25OHD por encima de

30ng/ml induce un descenso del nivel de la PTH, lo cual contribuye a la normalización del equilibrio formación/resorción ósea (Kuchuk et al., 2009; Olmos et al., 2015). En la misma línea, nuestro estudio muestra los mismos resultados, dado que se establece una correlación negativa entre los niveles de 25OHD plasmáticos y los niveles de PTH plasmáticos.

En nuestro estudio no se establecieron diferencias en los niveles plasmáticos de otros marcadores relacionados con el metabolismo óseo, como es  $\beta$ -CTX. Este resultado concuerda con el encontrado en otras publicaciones (Olmos et al., 2015), y discrepa en parte con los resultados de otros estudios. En el estudio realizado por Kuchuk et al., se evidenció niveles elevados de osteocalcina en pacientes ancianos con niveles bajos de 2OHD, en comparación con aquellos que presentaban niveles óptimos de 25OHD. El mismo grupo también mostraba que los niveles de osteocalcina y  $\beta$ -CTX eran significativamente más bajos en las pacientes postmenopáusicas osteoporóticas con los valores de 2OHD más elevados (Kuchuk et al., 2009). Sin embargo, el grupo de Nimitphong et al. No encontró ninguna correlación entre los niveles de 25OHD y los marcadores plasmáticos del metabolismo óseo (P1NP y  $\beta$ -CTX) medidos por electroquimioluminiscencia en 1734 pacientes (Nimitphong et al., 2015). Es por ello que cabe considerar que las características de la población

estudiada, el tipo de marcador analizado y otros aspectos metodológicos condicionan estas diferencias.

En la actualidad, el papel que desempeña la vitamina D en la homeostasis de la glucosa continúa siendo controvertido. Las diferencias en los trabajos publicados acerca de la relación entre los niveles de vitamina D y las alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono han de analizarse con cautela al tratarse de distintas poblaciones, áreas geográficas, rangos de IMC y diferencias metodológicas en el estudio del metabolismo de la glucosa (glucosa basal, sobrecarga oral de glucosa, índice HOMA). En nuestro trabajo, al igual que en otros muchos publicados, hemos empleado el modelo HOMA como medida indirecta de resistencia a la insulina. En nuestro estudio descriptivo, donde se comparan los niveles plasmáticos de insulina, glucosa e índice HOMA con los niveles de 25OHD en suero en las mujeres postmenopáusicas, se observó una correlación negativa entre los valores tanto de insulinemia como de glucemia y los niveles plasmáticos de 25OHD, al igual que con el índice HOMA, observando de las pacientes con hipovitaminosis presentaban valores más elevados. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en otros trabajos realizados también con mujeres postmenopáusicas (Sorkin et al., 2014).

En la misma línea, otros estudios establecen la relación entre 25OHD y parámetros bioquímicos del metabolismo lipídico. Dada la importancia del exceso de la concentración plasmática de triglicéridos en el síndrome metabólico, pues son la fuente primaria del acúmulo de grasas en sangre, se han publicado varios estudios que establecen la relación de éstos con la 25OHD en mujeres postmenopáusicas. El déficit de vitamina D ha sido relacionado con alteraciones en el perfil lipídico, estableciendo una asociación negativa entre niveles de 25OHD y triglicéridos. En el estudio “Third National Health and Nutrition Examination Survey” (Jorde et al., 2001), los adultos que se encontraban en el cuartil más bajo de 25-OH-vitamina D, tenían los niveles más altos de triglicéridos. Cuando el análisis fue estratificado por sexo, se evidenció una asociación positiva entre ambas variables sólo en mujeres. Nuestros resultados revelaron una correlación negativa entre los niveles de 25OHD y los valores de triglicéridos en la población de pacientes postmenopáusicas estudiada. Sin embargo, no se observó ningún tipo de asociación significativa entre las concentraciones séricas de 25OHD y las de colesterol total, HDL o LDL, al igual que sucede en otros estudios (Chacko et al., 2011).

## 2. ESTUDIO DE INTERVENCIÓN

La segunda parte de nuestro trabajo consiste en un estudio de intervención para valorar la modificación de distintos parámetros del metabolismo óseo y otras dianas tras la suplementación con calcifediol. Como ya hemos descrito previamente, la insuficiencia de vitamina D es un hallazgo habitual en mujeres con osteoporosis. Diversas guías recomiendan suplementos de vitamina D por encima de 800UI diarias para prevenir fracturas en este grupo de pacientes de alto riesgo (Bischoff-Ferrari et al., N Engl J Med, 2012).

En nuestro estudio se decidió intervenir con la suplementación de calcifediol. La ventaja de este fármaco es fundamentalmente su vida media larga, que permite que la administración sea quincenal, no precisa administración diaria. Ello hace que intervalos de administración espaciados puedan ser igual de eficaces y más prácticos (Vieth, 1999). La administración quincenal de una ampolla de 266 microgramos de 25-OHD-vitamina D3 aportaba 15960UI de 25OHD. Previo a la administración del fármaco se realizó un análisis de los niveles basales de 25OHD y se comprobó que, tanto el grupo que iba a ser suplementado con calcifediol como el grupo que no iba a recibir tratamiento, presentaba niveles plasmáticos medios por debajo del nivel óptimo de 30ng/ml, y que ambos grupos eran comparables entre sí, teniendo el grupo que iba a recibir el

tratamiento con calcifediol un nivel medio plasmático de 25OHD de 20.38ng/ml, mientras que el grupo que no iba a recibir el tratamiento presentaba un nivel medio plasmático de 25OHD de 21.66 ng/ml.

Al igual que demuestran otros trabajos (Bischoff-Ferrari et al., J Bone Miner Res, 2012), la suplementación con calcifediol incrementó los niveles plasmáticos de 25OHD a los 3 meses de forma significativa frente al grupo no suplementado, pues encontramos un nivel medio plasmático de 25OHD de 41.16ng/ml en el grupo de pacientes tratadas con calcifediol frente a un medio plasmático de 22.51ng/ml en el grupo de pacientes que no llevaron tratamiento, con lo que queda demostrada la efectividad del fármaco para incrementar la concentración plasmática de 25OHD.

Posteriormente, se analizó también las diferencias en otros parámetros relacionados con el metabolismo óseo, para ver la influencia que podía ejercer en ellos la suplementación con calcifediol. Al igual que ocurre en el trabajo realizado por el equipo de Bischoff-Ferrari et al., no se observaron diferencias significativas en el análisis sucesivo de los niveles plasmáticos de PTH a los 3 meses y 6 meses de iniciar el tratamiento. Lo mismo sucedió con los niveles plasmáticos de  $\beta$ -CTX, calcio total, fósforo y magnesio.



En nuestro estudio se realizó además a una parte de las pacientes un análisis de los niveles plasmáticos de inhibidores de la vía Wnt (DKK1 y esclerostina). A diferencia de otros trabajos en que sí que se evidenció un aumento significativo de los niveles de esclerostina en suero con una correlación positiva con los niveles de 25OHD, como ocurre en el estudio de Sankaralingam et al., en nuestro estudio no se consiguió encontrar resultados similares. Si bien, en el trabajo realizado por ese autor a diferencia del nuestro, se administra una dosis de 300.000UI de vitamina D<sub>2</sub> intramuscular, y se les indica a las pacientes continuar con su tratamiento habitual de calcio (1.2 gramos) y vitamina D<sub>3</sub> (800UI), por lo que no es comparable al efecto que pueda conseguir la 25-OHD-vitamina D<sub>3</sub> utilizada en nuestro estudio. Su trabajo cuenta con un número de pacientes menor al nuestro y un tipo de población distinta, pues incluye 34 pacientes entre los que se incluyen 21 mujeres y 13 hombres, a diferencia de nuestra muestra que incluía 65 mujeres postmenopáusicas, y no compara con un grupo control al que no se le administra el tratamiento.

También se evidencia una inhibición de la producción de DKK1 y de la resorción ósea en mujeres tratadas con terapia hormonal sustitutiva o con raloxifeno (Pineda et al., 2011), si bien esos tratamientos tienen un mecanismo de acción diferente al de la 25OHD utilizada en nuestro estudio, por lo que no son comparables.

Finalmente se hizo un análisis detallado de los parámetros relacionados con el metabolismo lipídico y el metabolismo hidrocarbonado. En otros estudios realizados a mujeres postmenopáusicas sí que se evidencia una mejoría del perfil lipídico, con un descenso de los niveles plasmáticos de colesterol total, LDL y triglicéridos en las pacientes que recibían un suplemento de Calcio y vitamina D (Schatz et al., 2014). Si bien, dicho estudio se trataba de un ensayo clínico que valoraba la suplementación con 1000 miligramos de calcio y 400UI de vitamina D<sub>3</sub>, a diferencia de nuestro estudio que estudia el efecto de la administración de calcifediol de 25-OHD-vitamina D<sub>3</sub> de forma aislada. También se demostró la mejoría del perfil lipídico en pacientes postmenopáusicas con osteopenia y dislipemia a las que se les administraba calcifediol semanalmente, pero estas pacientes llevaban además tratamiento con atorvastatina (Catalano et al., 2015).

## **VII. CONCLUSIONES**

---



## CONCLUSIONES

---

1. Los niveles plasmáticos de 25OHD de las mujeres postmenopáusicas de nuestra población son insuficientes.
2. Se evidencian cambios estacionales en los niveles plasmáticos de vitamina D en nuestra población.
3. Los niveles plasmáticos bajos de vitamina D se correlacionan con niveles altos de PTH.
4. La suplementación con calcifediol determina una elevación significativa de los niveles de 25OHD en sangre.
5. Tras la administración de calcifediol no se evidencian alteraciones en los parámetros del metabolismo óseo, ni del metabolismo hidrocarbonado o lipídico.



## **VIII. BIBLIOGRAFÍA**

---





Aubin JE, Bonnelye E. Osteoprotegerin and its ligand: A new paradigm for regulation of osteoclastogenesis and bone resorption. *Osteoporosis Int* 2000; 11: 905-913.

Baron R. General principles of bone biology. En: Favus MJ (ed). *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. Washington D.C.: American Society for Bone and Mineral Research 2003; 1-8.

Baron R, Rawadi G. Wnt Signaling and the regulation of bone mass. *Curr Osteoporos Rep* 2007; 5:73-80

Brincat M, Gambin J, Calleja-Agius J et al. The role of vitamin D in osteoporosis. *Maturitas* 80 (2015) 329-332

Burger H G, Dudley E C, Hopper J L et al. Prospectively measured levels of serum FSH, estradiol and the dimeric inhibins during the menopausal transition in a population-based cohort of women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4025–30.

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

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

Bischoff-Ferrari HA, von Eckardstein A, Egli A et al. Oral supplementation with 25(OH)D3 versus vitamin D3: effects on 25(OH)D levels, lower extremity function, blood pressure, and markers of innate immunity. *J Bone Miner Res*, 2012; 27(1):160-9.

Bischoff-Ferrari HA, Theiler R, Dawson-Hughes B et al. A pooled analysis of vitamin D dose requirements for fracture prevention. *N Engl J Med* 2012; 367:40-9.

Catalano A, Morabito N, Basile G, Cucinotta D, Lasco A. Calcifediol improves lipid profile in osteopenic atorvastatin-treated postmenopausal women. *Eur J Clin Invest*, 2015; 45(2):144-9

Cauley JA, Danielson ME, Greendale GA. Bone resorption and fracture across the menopausal transition: the Study of Women's Health Across the Nation. *Menopause* 2012; 19(11): 1200-1207.

Chacko SA, Song Y, Manson JE. Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in relation to cardiometabolic risk factors and metabolic syndrome in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*, 2011; 94(1):209-217.

Clifford J, Rosen MD. Vitamin D Insufficiency. *N Engl J Med* 2011; 364:248-54.

Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int* 2005;16:713-6.

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.

Deftos LJ. Calcitonin. En: Favus MJ (ed). *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. Washington D.C.: American Society for Bone and Mineral Research 2003; 137-141.

Finkelstein JS, Brockwell SE, Mehta V, Bone mineral density changes during the menopause transition in a multiethnic cohort of women, *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2008; 93: 861–868.

Garland CF, French CB, Baggerly LL, Heaney RP. Vitamin D supplement doses and serum 25-hydroxyvitamin D in the range associated with cancer prevention. *Anticancer Res*, 2011; 31(2):607-11.

Hale GE, Burger HG. Perimenopausal reproductive endocrinology. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2005; 34: 907-922.

Hale GE, Burger HG. Hormonal changes and biomarkers in late reproductive age, menopausal transition and menopause, *Best Practice & Research in Clinical Obstetrics & Gynaecology* 23 (1) (2009) 7–23.

Hale GE, Robertson DM, Burger HG. The perimenopausal woman: Endocrinology and management. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 2014;142:121-31

Hart GR. Overview of vitamin D measurement and methodologies. *Immunodiagnostic Systems (IDS)*. 2005; 2:1-9. “Review Series”

Harlow SD, Executive summary of the Stages of Reproductive Aging Workshop+10: addressing the unfinished agenda of staging reproductive aging, *Menopause* 19 (4) (2012) 387–395.

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

Holick MF, Garabedian M, Favus MJ. Vitamin D: photobiology, metabolism, mechanism of action, and clinical applications. In *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. 6th ed. Washington, DC: American Society for Bone and Mineral Research, 2006:129-37.

Holick MF, Chen T, Lu Z, Sauter E Vitamin D and Skin Physiology: A D-Lightful Story. *J Bone Miner Res* 2007; 22:S2; V28–V33.

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

Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(7):1911-30.

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

Hollis BW, Wagner CL, Drezner MK, Binkley NC. Circulating Vitamin D<sub>3</sub> and 25-hydroxyvitamin D in Humans: An Important Tool to Define Adequate Nutritional Vitamin D Status. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2007; 103(3-5): 631-634.

Hosseini-Nezhad A, Holick MF. Vitamin D for Health: A Global Perspective. *Mayo Clin Proc*, 2013; 88.7: 720-55.

Jorde R, Grimnes G. Vitamin D and metabolic health with special reference to the effect of vitamin D on serum lipids. *Prog Lipid Res* 2011; 50(4):303-12.

Kamiya N, Ye L, Kobayashi T, Mochida Y et al. BMP signaling negatively regulates bone mass through sclerostin by the canonical Wnt pathway. *Development* 2008; 135:3801-11

Klein NA, Houmard BS, Hansen KR, Age-related analysis of inhibin A, inhibin B, and activin relative to the intercycle monotropic follicle-stimulating hormone rise in normal ovulatory women, *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 89 (6)(2004) 2977–2981.

Kuchuk NO, Van Schoor NM, Pluijm SM, Chines A, Lips P. Vitamin D status, parathyroid function, bone turnover, and BMD in postmenopausal women with osteoporosis: global perspective. *J Bone Miner Res*, 2009; 24:693–701

La Marca A, Giulini S, Orvieto R. Anti-Mullerian hormone concentrations in maternal serum during pregnancy. *Hum Reprod* 2005; 20: 1569-1572.

Levis S, Gómez A, Jiménez C. Vitamin D deficiency and seasonal variation in an adult South Florida population. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:1557-62

Lips P. Vitamin D physiology. *Progress in Biophysics & Molecular Biology*. 2006; 92(1):4-8.

- Looker AC, Dawson-Hughes B, Calvo MS, Gunter EW, Sahyoun NR. Serum 25-hydroxyvitamin D status of adolescents and adults in two seasonal subpopulations from NHANES III. *Bone*. 2002; 30(5):771-7.
- Liu Z, Wu S, Ho S et al. The Role of vitamin D in blood pressure, endothelial and renal function in postmenopausal women. *Nutrients* 2013; 5: 2590-2610
- Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev* 2000; 21: 115-137.
- Metcalf MG, Donald RA, Livesey JH. Pituitary-ovarian function in normal women during the menopausal transition, *Clinical Endocrinology*, 1981; 14 (3): 245–255.
- Mundy GR, Chen D, Oyajobi OO. Bone remodeling. En: Favus MJ (ed). *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. Washington D.C.: American Society for Bone and Mineral Research 2003; 46-58.
- Need AG. Bone resorption markers in vitamin D insufficiency. *Clinica Chimica Acta*, 2006; 368: 48-52

NIH Consensus Development Paper on Osteoporosis Prevention, Diagnosis and Therapy. JAMA, 2001;285:785–95.

Nimitphong H, Sritara C, Chailurkit LO, Chanprasertyothin S, Ratanachaiwong W, Sritara P, Ongphiphadhanakul B. Relationship of vitamin D status and bone mass according to vitamin D-binding protein genotypes. Nutr J, 2015. Mar 24; 14:29

Olmos JM, Hernández JL, García-Velasco P, Martínez J, Llorca, González-Macías J. Serum 25-hydroxyvitamin D, parathyroid hormone, calcium intake, and bone mineral density in Spanish adults. Osteoporos Int. 2015 Jul 2. [Epub ahead of print]

Parfitt AM, Mundy GR, Roodman GD, Hughes DE, Boyce BF. A new model for the regulation of bone resorption, with particular reference to the effects of bisphosphonates. J Bone Miner Res 1996; 11:150-159.

Pineda B, Hermenegildo C, Tarín JJ, Cano A, García-Pérez MA. Effects of administration of hormone therapy or raloxifene on the immune system and on biochemical markers of bone remodeling, Menopause, 2012; 19(3): 319–327.



Poskitt EM, Cole TJ, Lawson DE. Diet, sunlight, and 25-hydroxy vitamin D in healthy children and adults. *British Medical Journal*. 1979; 1(6158):221-223.

Prior JC. Perimenopause: the complex endocrinology of the menopausal transition. *Endocr Rev* 1998; 19: 397–428.

Recker RR. Osteoporosis in women. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2002; 2: 194.

Rico H. Pico de masa ósea. *Osteo Update* 1992; 4: 1-5.

Robertson DM. Changes in serum antimullerian hormone levels across the ovulatory menstrual cycle in late reproductive age, *Menopause* 18 (5)(2011) 521–524.

Rosen CJ. Vitamin D insufficiency. *N Engl J Med*. 2011; 364:248-54.

Sankaralingam A, Roplekar R, Turner C, Dalton RN, Hampson G. Changes in Dickkopf-1 (*DKK1*) and Sclerostin following a Loading Dose of Vitamin D2 (300.000 IU). *J Osteoporos*. 2014:682763. Epub 2014 Nov 24

Schmidt KL, Kryger-Baggesen N, Byskov AG. Anti-Mullerian hormone initiates growth of human primordial follicles in vitro. *Mol Cell Endocrinol* 2005; 234: 87–93.

Schnatz PF, Kritchevsky S, Manson JE et al. Calcium/vitamin D supplementation, serum 25-hydroxyvitamin D concentrations, and cholesterol profiles in the Women's Health Initiative calcium/vitamin D randomized trial. *Menopause*, 2014; 21(8):823-33

Smith DM, Nance WE, Kang Kw, Christian JC, Johnston CC. Genetic factors in determining bone mass. *J Clin Invest* 1973; 52: 2800-2808.

Sorkin JD, Vasaitis TS, Streeten E, Ryan AS, Goldberg AP. Evidence for Threshold Effects of 25-Hydroxyvitamin D on Glucose Tolerance and Insulin Resistance in Black and White Obese Postmenopausal Women. *J Nutr*, 2014; 144(5):734-742.

Soules MR, Sherman S, Parrott E, Rebar R, Santoro N, Utian W, et al. Executive summary: Stages of Reproductive Aging Workshop (STRAW). *Climacteric* 2001;4(December (4)):267-72.

Sun L, FSH directly regulates bone mass, *Cell* 125 (2) (2006) 247-260.

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

Vieth R. Vitamin D supplementation, 25-hydroxyvitamin D concentrations, and safety. *Am J Clin Nutr*, 1999; 69(5):842-56

World Health Organization. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Geneva, Switzerland. Technical report series 1994, 843.

World Health Organization. Research on the Menopause in the 1990s. Geneva, Switzerland. Technical report series 1996; 866.