

Métodos de determinación de vitamina D y sus metabolitos. Valor umbral de las manifestaciones óseas

Quesada Gómez JM

Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMBIC). Hospital Universitario Reina Sofía. Universidad de Córdoba. Fundación Progreso y Salud. CIBER de Fragilidad y Envejecimiento Saludable (CIBERFES). Córdoba (España)

Resumen

El sistema endocrino de la vitamina D (SEVD), por mediación del calcitriol regula más del 3% de todos los genes del organismo, con múltiples efectos tanto a nivel óseo como extraóseo. La concentración total de 25OHD circulante, (expresión de la suma de las concentraciones de 25OHD3 y 25OHD2), constituye un biomarcador robusto y confiable del estatus nutricional del SEVD, empleado por autoridades sanitarias y Sociedades Científicas en América y Europa. Los métodos actuales para medir los metabolitos del SEVD se clasifican básicamente en dos tipos: métodos de detección física, que incluyen cromatografía líquida de alta presión (HPLC) y cromatografía líquida de espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) y métodos de inmunoensayo. Aún, hoy en día, no disponemos de un consenso internacional uniforme que defina deficiencia y suficiencia de vitamina D para la salud ósea. Las personas en riesgo de deficiencia de 25OHD deben ser siempre analizadas para detectar la deficiencia, o insuficiencia e intensidad de estas, sin embargo no hay evidencia de un beneficio en el cribado poblacional general en personas sanas.

METABOLISMO DEL SISTEMA ENDOCRINO DE LA VITAMINA D

Desde su descubrimiento, hace un siglo, hemos avanzado en el conocimiento de la que fue denominada erróneamente “vitamina” D. Actualmente sabemos que no es una vitamina, la seguimos denominando así por costumbre y consenso tácito. De hecho, se trata de un sistema endocrino, el sistema endocrino de la vitamina D (SEVD), semejante al de otras hormonas esteroideas. El colecalfiferol o “vitamina” D₃, es el nutriente umbral (fisiológico) del sistema, sintetizado a partir del 7-dehidrocolesterol, que se produce, y encuentra, desde organismos unicelulares hasta la piel de animales superiores, incluyendo seres humanos. Esta vía representa alrededor del 90% del aporte fisiológico al organismo, el resto se obtiene dietéticamente. Existe otra isoforma, de aporte nutricional, o farmacológica, el ergocalciferol la “vitamina” D₂ o producida por irradiación ultravioleta del ergosterol contenido en hongos, levaduras, etc...¹.

La “vitamina” D₃ para ser activa hormonalmente precisa activaciones metabólicas secuenciales: mediante la acción de la enzima 25 hidroxilasa (*CYP2R1* y otros) fundamentalmente en el hígado, no regulada hormonalmente, pero sujeta a diversas influencias se convierte en calcifediol (o 25OHD3), el cual tiene una vida media larga (dos tres semanas). El 25OHD3 es sustrato para, mediante la acción de la enzima 1 alfa hidroxilasa (*CYP27B1*), sintetizar 1,25 dihidroxivitamina D₃ (calcitriol; 1,25(OH)2D3), hormona del sistema, en el riñón para su acción endocrina sistémica y en múltiples células y tejidos del organismo para su acción

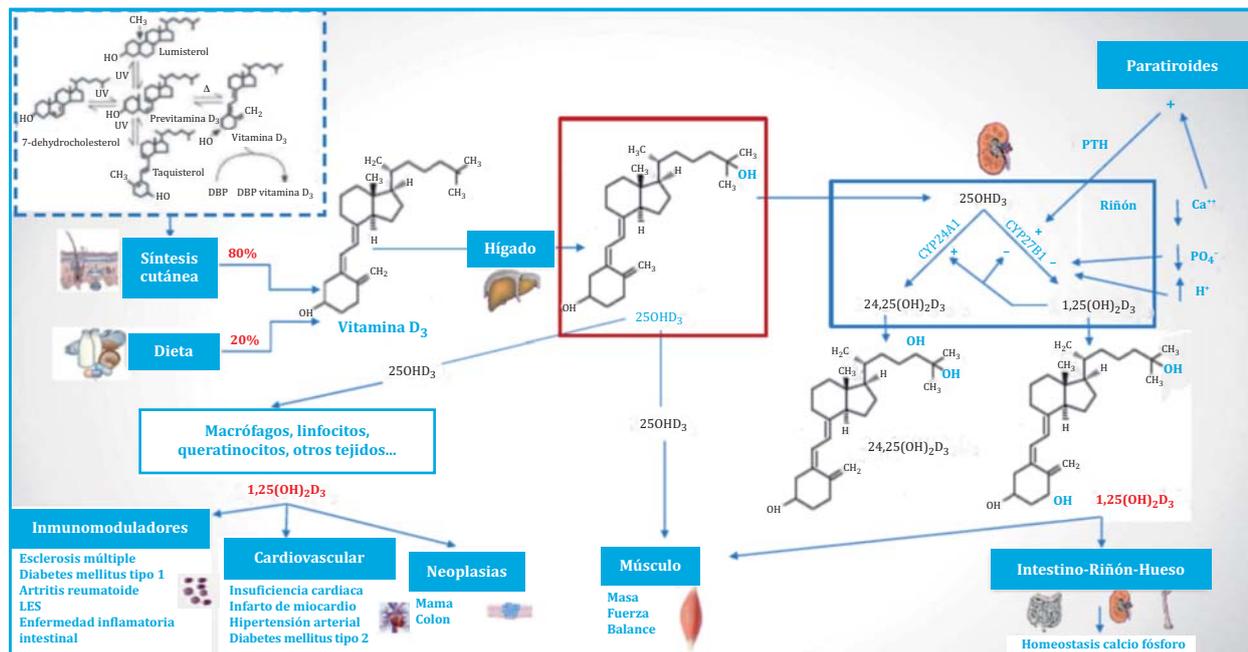
local auto/paracrina. La 1,25(OH)2D3, tiene una vida media corta y está hormonalmente regulada para mantener una concentración constante dentro de un margen estrecho. La 1,25(OH)2D estimula la 24 hidroxilasa (*CYP24A1*) para formar 24,25 hidroxivitamina D₃ o 1,24,25 trihidroxivitamina¹.

El calcitriol o 1,25(OH)2D3 se une con alta afinidad a su receptor (VDR), mientras que 25OHD3, 24,25 hidroxivitamina D₃ o 1,24,25 trihidroxivitamina D y otros metabolitos tienen una afinidad mucho menor. El VDR pertenece a la superfamilia de receptores nucleares esteroideos que usan el mismo compañero heterodímero (RXR) y co-activadores o represores, y se unen a secuencias hexanucleóticas similares en el ADN (elementos que responden a la hormona directa repetida) separados por tres o cuatro nucleótidos, respectivamente¹. Los metabolitos del SEVD, poco hidrosolubles, precisan unirse para su transporte a su proteína transportadora “vitamin D-binding protein” (o DBP), con distintos grados de afinidad, mayor para calcitriol y menor y decreciente para calcifediol, 24,25 hidroxivitamina D₃ o colecalfiferol o albumina¹.

El SEVD, por mediación del calcitriol regula más del 3% de todos los genes del organismo, con múltiples efectos, interactuando no solo sobre la salud ósea, y la homeostasis fosfo-cálcica, sino sobre múltiples procesos fisiológicos en músculo, sistema inmune innato y adaptativo, sistema cardiovascular; controlando el crecimiento y la diferenciación celular; la secreción hormonal, el metabolismo de xenobióticos y numerosos procesos biológicos en todo el organismo¹ (Figura 1).



Figura 1. Sistema endocrino de la vitamina D



Por lo cual, hoy en día, la deficiencia funcional del sistema debería relacionarse no solo con raquitismo u osteomalacia y osteoporosis, sino también con un riesgo potencial mayor de padecer enfermedades cardiovasculares, autoinmunes, diabetes, oncológicas, e infecciosas, entre otras^{1,2}. Actualmente, sabemos que la deficiencia de “vitamina D” es muy prevalente, incluso en países desarrollados o con gran potencialidad de adquisición de la misma, por exposición al sol, o por facilidad para acceder a la suplementación, como sucede en España³.

Por ello, la demanda de medición de los metabolitos de vitamina D empleados para el diagnóstico clínico e investigación del papel del SEVD en la salud humana ha aumentado significativamente en los últimos veinte años⁴.

MEDICIÓN DE METABOLITOS DEL SISTEMA ENDOCRINO DE LA VITAMINA D

El suero es la matriz habitual empleada para la medición de los metabolitos del SEVD. Tiene la ventaja de no estar contaminado con los anticoagulantes utilizados para la obtención de plasma, como la heparina, EDTA, o citrato. Los ensayos de los metabolitos del sistema son muy sensibles a las interferencias generadas por esas sustancias por lo que debe realizarse una validación apropiada cuando se considere emplear plasma para las determinaciones⁴.

Pese a que la vitamina D₃ es el nutriente umbral del SEVD la medida directa de vitamina D₃ (y/o D₂), propiamente dicha, circulante no constituye un buen marcador del estado nutricional del mismo. Inmediatamente después de su síntesis cutánea o absorción intestinal desaparece rápidamente de la circulación. A partir de entonces, reaparece como 25OHD, intensamente ligada a DBP, el cual tiene una vida media larga y una mayor concentración y además es el sustrato imprescindible para la síntesis de 1,25(OH)₂D₃, la hormona del sistema^{1,4}.

Por lo cual, la medición de la concentración total de 25OHD circulante, (expresión de la suma de las concentraciones de 25OHD₃ y 25OHD₂), constituye un biomar-

cadore robusto y confiable del estatus nutricional del SEVD, empleado por autoridades sanitarias y Sociedades Científicas en América y Europa para establecer el estatus de normalidad, la definición de deficiencia de “vitamina” D y los grados de insuficiencia de la misma, sobre los cuales establecer valores de ingesta de referencia dietética para la “vitamina” D, así como el control en la población de la deficiencia, insuficiencia o exceso de “vitamina”⁵⁻⁷. Es conveniente destacar que, en España, donde salvo muy puntuales excepciones no se toma vitamina D₂, cuando se dan resultados de 25OHD en la práctica se están indicando niveles de 25OHD₃.

A veces en la práctica clínica habitual se solicita la cuantificación de niveles séricos de 1,25(OH)₂D₃ para evaluar el estatus nutricional del SEVD. Esto constituye una práctica errónea e inadecuada. La medición de 1,25(OH)₂D no es un marcador fiable para ese objetivo. Al regularse sus niveles circulantes, estrictamente, de modo endocrino, el organismo tiende a mantener sus valores dentro de un rango muy estrecho de normalidad (20-50 pg/mL, más de mil veces menor que la concentración sérica de 25OHD), incluso en situaciones de intensa deficiencia de sustrato (25OHD) imprescindible para su síntesis.

Por lo cual, no debe emplearse nunca para evaluar el estado nutricional del SEVD. La determinación de 25OHD es el marcador del estatus nutricional del sistema, o lo que coloquialmente damos en llamar de la vitamina D.

Sin embargo, la cuantificación de 1,25(OH)₂D puede ser útil como prueba de segundo nivel en la evaluación del SEVD especialmente en pacientes con enfermedad renal severa⁸, y nos permite identificar una serie de afecciones, incluida la deficiencia de 1 α -hidroxilasa o raquitismo vitamina D dependiente tipo 1, por defecto de la enzima 1 α -hidroxilasa, el raquitismo vitamina D dependiente tipo 2, o defecto del VDR, y en una serie de enfermedades granulomatosas o linfoproliferativas acompañadas de hipercalcemia. También en diagnóstico del hipo y pseudohipoparatiroidismo. La medición de

1,25(OH)₂D también ayuda a discernir entre los síndromes hipofosfatémicos mediados y no mediados por FGF23⁹.

La cuantificación de la fracción 25OHD₃ libre, que representa alrededor del 0,04% de la concentración total de 25OHD no constituye una práctica clínica habitual. La fracción libre y ligada a la albúmina se denomina 25OHD biodisponible¹⁰. El conjunto de las tres fracciones es la denominada 25OHD total, aunque el término "total" se refiere a menudo en la literatura a la suma de las formas 25OHD₂ y 25OHD₃. Las concentraciones de 25OHD libre medidas directamente generalmente oscilan entre 1,2 y 7,9 pg/mL y están fuertemente correlacionadas con las concentraciones totales de 25OHD y se ha informado que suponen entre el 0,02% y el 0,09% de las concentraciones totales de 25OHD¹⁰ (Figura 2).

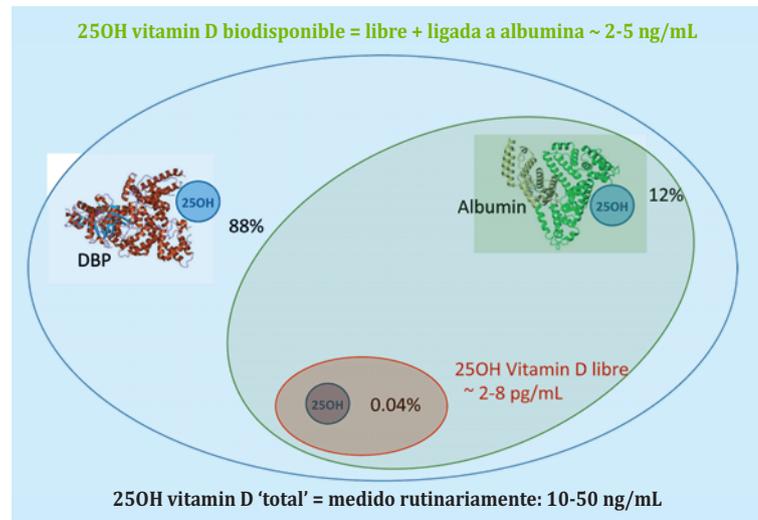
En la denominada hipótesis de la hormona libre se postula que solo la hormona libre atraviesa la membrana celular. En la medida en que esto sea válido, plantea la cuestión de si es la concentración libre la que debería medirse en lugar de la 25OHD total, especialmente en circunstancias en las que los niveles y/o afinidades de las proteínas de unión se alteran fisiológicamente (p. ej. embarazo), o fisiopatológicamente (enfermedad hepática, síndrome nefrótico, enfermedad aguda), o por mutaciones genéticas de la DBP^{10,11}.

El embarazo o la toma de anticonceptivos lleva a un aumento de los niveles de DBP en alrededor del 50%, mientras que, por ejemplo, la insuficiencia hepática y la enfermedad renal crónica dan lugar a una disminución de la concentración de DBP, también de alrededor del 50%. En el caso de una concentración elevada de proteínas de unión, la fracción de 25OHD libre es menor, y viceversa en el caso de una concentración baja de proteínas de unión. En estas condiciones, la medición de la 25OHD libre podría ser un mejor marcador del estatus nutricional en vitamina D que la medición clásica de la 25OHD total^{10,11}. La medición directa de la 25OHD libre está disponible desde el 2013 mediante un ELISA súper sensible¹². El método presenta un límite de detección de <3 pg/mL y un rango de medición que cubre 0,2-35 pg/mL. La repetibilidad y la reproducibilidad son representativas de la tecnología ELISA.

La determinación de 24,25(OH)₂D, ha suscitado poco interés en clínica y no demasiada en investigación. Este metabolito se forma mediante hidroxilación de 25OHD por la enzima *CYP24A1* de la familia del citocromo P450, y se ha considerado durante mucho tiempo como un catabolito puro de la vía catabólica del SEVD (Figura 1).

La determinación de 24,25(OH)₂D es útil en el diagnóstico de la hipercalcemia infantil idiopática donde está muy elevado (80-100 ng/mL) y tiene la potencial utilidad en la identificación de otras enfermedades, solo o como parte de una ratio de 24,25(OH)₂D/25OHD. Esta proporción es inferior a 0,09 en los pacientes con insuficiencia y/o deficiencia de vitamina D (niveles séricos de 25OHD <20 ng/mL)¹³. Históricamente, se ha utilizado la relación de PTH a 25OHD para estimar la suficiencia nutricional del SEVD, recientemente se ha propuesto que la proporción molar de la 25OHD/24,25(OH)₂D tiene mayor potencial. La disminución del catabolismo

Figura 2. Biodisponibilidad de la vitamina D



de la 25OHD también puede medirse mediante una menor concentración de 24,25(OH)₂D y se asocia con mayor riesgo de hiperparatiroidismo secundario y posiblemente de muerte¹⁴.

La C3-epi-25OHyvitamina D, también llamado epímero C3, es un estereoisómero que se diferencia por un solo centro quiral. La función hidroxilo en la posición 3 de la molécula se invierte mientras que los otros centros quirales permanecen inalterados. C3-epi-25OHD se forma a través de una vía de epimerización, paralela a la vía metabólica convencional¹⁵. El C3-epi-25OH D es más abundante en lactantes menores de un año y es de menor amplitud en adolescentes y adultos. Durante muchos años se cuestionó si la C3-epi-25OHD era tan importante como su análogo 25OHD en la actividad biológica de la vitamina D en el organismo. Sin embargo, varios grupos han informado de concentraciones y prevalencias variables, lo que dificulta la evaluación de su verdadera importancia^{16,17}.

TÉCNICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS METABOLITOS DE SEVD

Las primeras mediciones de 25OHD se remontan a principios los años 70 del pasado siglo, mediante el empleo de ensayos competitivos de unión a proteínas.

Los métodos actuales para medir los metabolitos del SEVD se clasifican básicamente en dos tipos:

- 1) Métodos de detección física, que incluyen cromatografía líquida de alta presión (HPLC) y cromatografía líquida de espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS);
- 2) Métodos de inmunoensayo, que abarcan radioinmunoensayos (RIA), actualmente obsoletos, y los ensayos inmuno absorbentes ligados a las enzimas (ELISA), inmunoensayos por quimioluminiscencia (CLIA), inmunoensayos de flujo lateral y los ensayos para analizadores de química clínica (CCA) (Figura 3).

Métodos de detección física

La cromatografía líquida (LC) de alta presión o de alto rendimiento (HPLC) y la LC-MS/MS son los métodos de detección física empleados, cada uno con sus fortalezas y debilidades⁴. En la primera, la detección ultravioleta (UV) gracias a su fuerte absorción a 264 nm es un poderoso método de detección para metabolitos del SEVD,

Figura 3. Métodos para medir 25OH vitamina D



pero diversos metabolitos del SEVD exhiben patrones UV similares y necesitan estar completamente separados por el paso de LC para al ser detectados, ser cuantificados adecuadamente. En la espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) se procede a la fragmentación de las moléculas que tienen la misma masa y afinidades similares que dificultan su separación cromatográfica, produciendo patrones de fragmentación diferentes para cada compuesto individual que permiten la detección y cuantificación de los metabolitos por separado; este es el caso, entre otros de la 1,25(OH)2D y la 24,25(OH)2D.

Los beneficios de usar estas técnicas para la medición de la 25OHD patrón oro de la determinación del estatus nutricional del SEVD son su alta sensibilidad (<1 ng/mL para LC-MS), alta precisión y excelente perfil de reproducibilidad (los coeficientes de variación van del 2% al 7-8%). Gracias a sus excelentes resultados, la LC-MS está reconocida actualmente como la referencia para la medición de la 25OHD.

La HPLC y la LC-MS también presentan inconvenientes, principalmente de naturaleza técnica. El coste instrumental y su mantenimiento son también a menudo un obstáculo. Ambas requieren el acceso a agua, disolventes y productos químicos de alta calidad y el suero o plasma necesita ser limpiado, antes de ser analizado⁴.

La presencia en el suero de C3-epi-25OH sigue siendo un problema incluso para muchos métodos de HPLC y LC-MS^{4,9}. Debido a su similar patrón UV e idénticos patrones de masa mono isotópica y de fragmentación no puede ser adecuadamente separada de la 25OHD por las técnicas de detección de UV o MS. Por lo tanto, se requiere el desarrollo de un protocolo de LC que separe completamente el metabolito C3-epi de la vitamina D 25OH deseada. Aunque existen soluciones técnicas y son utilizadas por varios laboratorios, la vitamina D C3-epi-25OH todavía interfiere en muchos métodos de HPLC y LC-MS⁴.

Inmunoensayos competitivos para la medida de 25OH vitamina D y otros metabolitos del sistema

En los inmunoensayos competitivos cada metabolito, por ejemplo el 25OHD presente en la muestra, compite con un 25OHD marcado con un número limitado de sitios de unión en un anticuerpo. Se diferencian en el marcado del 25OHD competitivo y en el método de detección. El RIA se basaba en el yodo radiactivo marcando la 25OHD y empleaba para la detección contadores de rayos gamma. En el ELISA el marcado se efectúa con una enzima, la detección se basa

en una reacción colorimétrica y se cuantifica midiendo la absorbancia en un lector ELISA. Los métodos CLIA también se basan en 25OHD marcados con una enzima, pero la detección se basa en la emisión de luz por un sustrato específico y se cuantifica mediante un fotómetro.

Técnicamente los inmunoensayos precisan de la liberación de 25OHD de sus proteínas transportadoras DBP y albúmina, seguido inmediatamente de la unión del 25OHD por el anticuerpo y su competencia con el 25OHD marcado, pudiendo emplear en los inmunoensayos anticuerpos policlonales, monoclonales en incluso utilizar distintos tipos de DBP.

Después de 25OH la vitamina D ha sido liberada de sus proteínas aglutinantes diferentes moléculas biológicas pueden participar en inmunoensayos, incluyendo anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales y VDBP.

La especificidad de los anticuerpos, es decir, la reactividad cruzada contra los diversos metabolitos del SEVD es uno de los aspectos clave para la cuantificación del 25OHD y otros metabolitos en los inmunoensayos porque en el suero coexisten la vitamina D₃, excepcionalmente en España la 25(OH)D₂; 24,25(OH)2D₃/; 25,26(OH)2D y C3-epi-25OHD. Los anticuerpos policlonales por lo general suelen carecer de la especificidad necesaria, lo que limita la calidad de las determinaciones.

Para cualquier tipo de método a emplear en la valoración del estatus en vitamina D debe ser un objetivo de agencias estatales, de las sociedades científicas y de los laboratorios implicados participar en procesos eficientes de estandarización, como por ejemplo el DEQAS (acrónimo en inglés de Esquema de Evaluación de la Calidad Externa de la Vitamina D), para obtener resultados con precisión y exactitud, fundamentales en investigación y asistencia, que nos permitan definir adecuadamente los niveles deficientes e insuficientes de vitamina D, en todos los rangos de edad sexo y para cualquier objetivo de salud.

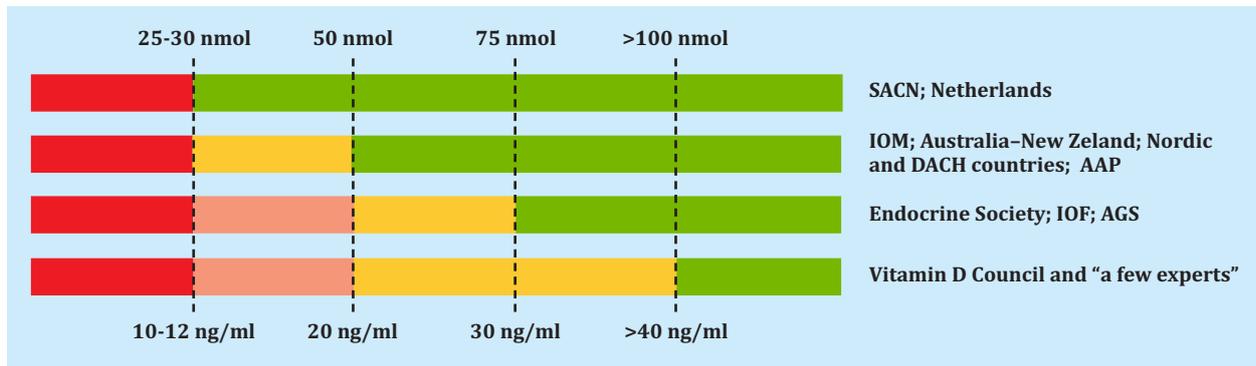
Actualmente el Programa de Estandarización de Vitamina D (VDSP) reconoce tres Procedimientos de Medición de Referencia (RMP) (Gante, NIST y CDC), que son todos ellos métodos de LC-MS⁴.

Definiciones de deficiencia y suficiencia de vitamina D para la salud ósea

Aún, hoy en día, no disponemos de un consenso internacional uniforme que defina deficiencia y suficiencia de vitamina D para la salud ósea¹⁸. Un grave problema para obtener estas definiciones es que dependen en gran medida de la precisión de la cuantificación de niveles en sangre de 25OHD y las discusiones sobre este aspecto continúan, sin avanzar constructivamente¹⁹.

El Reino Unido fue el primer país en 1998 que adoptó un punto de corte de niveles séricos de 25OHD para definir estatus deficiente, *Committee on Medical Aspects of Food and Nutrition Policy* (COMA). Más recientemente el Comité Asesor Científico sobre Nutrición (SACN) del Reino Unido, valorando objetivos de salud musculo esquelética (raquitismo, osteomalacia, caídas, fuerza y función muscular), propuso que el riesgo de una mala salud

Figura 4. Definiciones de deficiencia y suficiencia de vitamina D para la salud ósea



musculoesquelética era mayor con concentraciones séricas de 25OHD inferiores a ~ 10-12 ng/ml.

Sobre esta base, el SACN definió en 2016 que las concentraciones séricas de 25OHD por debajo de 12 ng/ml eran deficientes para todos los grupos de edad, y concluyeron que este umbral es el único que ha demostrado ser beneficioso para cualquier resultado de salud relacionado con niveles de 25OHD y que no había pruebas suficientes para definir que niveles de 25OHD más altos fueran óptimos para la salud ósea o incluso general del organismo²⁰. Aunque Holanda adoptó estas recomendaciones, esta no es la opinión de la mayoría de las sociedades o expertos¹⁸.

El Instituto de Medicina (IOM) de los EE.UU. (renombrado posteriormente Academia Nacional de Medicina), seleccionó en 2011 la absorción de calcio, la densidad mineral ósea (BMD) y el raquitismo en niños u osteomalacia en adultos, para establecer niveles séricos adecuados de 25OHD y facilitar el desarrollo de sus recomendaciones de ingesta de vitamina D, las denominadas *Dietary Reference Intakes* (DRI)²¹. Definió una concentración sérica de 25OHD de 12 ng/ml (30 nmol/L) como el umbral por debajo del cual puede ocurrir una deficiencia clínica de vitamina D (deficiencia severa), y establecieron niveles de 25OHD de 12-20 ng/ml (30-50 nmol/l), para definir un estatus inadecuado, que representa un rango incierto que puede ser suficiente o no para un determinado individuo. Propone una concentración de 25OHD de 20 ng/mL (50 nmol/L) como el umbral de suficiencia, en términos de salud ósea, para el 97,5% de la población. Define suficiencia para niveles de 25OHD entre 20 y 30 ng/ml (50-75 nmol/l), e indica que niveles superiores a 20 ng/ml de 25OHD en suero satisfacerían las necesidades fisiológicas en vitamina D, sin que hubiera ningún beneficio añadido por encima de los 30 ng/ml (75 nmol/l), pero advierte que podría existir un daño potencial con niveles superiores a 50 ng/ml (>125 nmol/l)²². Posteriormente, los países nórdicos, la Comisión Federal Suiza de Nutrición y la European Food Safety Authority (EFSA) adoptaron las directrices de la IOM 2011 para interpretar las concentraciones de 25OHD²⁰. Aunque es importante destacar que los 20 ng/ml (50 nmol/L) sugeridos por la Academia Nacional de Medicina de Estados Unidos, no fueron propuestos con fines de diagnóstico de deficiencia de vitamina D, sino que se indicaron para respaldar la relación entre ingesta de vitamina D y el estatus de 25OHD, sobre la cual se establecen las recomendaciones dietéticas^{21,22}.

La Endocrine Society (ES) de EE.UU.⁷ publicó en 2011 otro conjunto de directrices que, desde entonces, se han

convertido en centro del debate y controversia con las directrices de Reino Unido e IOM. La ES estableció a través de su Grupo de Trabajo sobre vitamina D en los Estados Unidos una concentración de 25OHD para definir la deficiencia como niveles séricos de 25OHD <20 ng/ml (50 nmol/l), insuficiencia 21-29 ng/ml (52,5-72,5), suficiencia 30-100 ng/ml (75-250 nmol/l) y posible daño >100 ng/ml (>250 nmol/l), respectivamente. En resumen, la ES ha definido niveles séricos de 25OHD de 20 ng/mL (50 nmol/L) como el umbral de deficiencia y 75 nmol/L (30 ng/mL) como el umbral de suficiencia, para 97,5% de la población⁷. Varias sociedades médicas y organizaciones no gubernamentales han adoptado las directrices de la ES (Figura 4)²⁰.

Las pautas de la ES⁷ fueron bastante diferentes de las propuestas por las pautas de Reino Unido en 1991²⁰ o IOM 2011^{21,22} por lo que desencadenaron un intenso debate, que continúa desde entonces. La Endocrine Society declaró que sus guías fueron diseñadas para la práctica clínica y están dirigidas principalmente a pacientes con una amplia variedad de enfermedades y, por lo general, con un mayor riesgo de deficiencia de 25OHD, más que a la población sana (el principal grupo objetivo de la mayoría de las organizaciones gubernamentales). Sin embargo, no ofrecen argumentos consistentes, que justifiquen por qué el estado óptimo de vitamina D en los pacientes sería diferente del de la población sana⁷. Para mayor confusión, en 2016 el SACN objetó al afirmar que sus guías no eran para uso en la práctica clínica, sino guías de salud pública para la población general sana, no enferma²⁰.

Ambas directrices acuerdan que las recomendaciones requerirán una reconsideración en el futuro a medida que estén disponibles datos adicionales de estandarización de la cuantificación de niveles de 25OHD y ensayos aleatorios en curso.

Una minoría de expertos y organizaciones de base recomiendan niveles de 25OHD aún más altos (por encima de 40 ng/ml (100 nmol/l)), basado en el concepto que el estado "óptimo de vitamina D" se define mejor usando el presunto estatus de vitamina D de los primeros *Homo sapiens* que vivían en África ecuatorial. Estos niveles objetivo propuestos implican también que más del 90% de la población humana actual sería "deficiente o insuficiente de vitamina D" y requeriría suplementación con dosis elevadas de vitamina D por vía oral. Pero, debemos considerar, que es muy posible que las elevadas concentraciones séricas de 25OHD que se encuentran en tribus africanas primitivas no representen concentraciones séricas óptimas, sino las máximas toleradas en la evolución para evitar la toxicidad crónica de la vitamina D²³.

Tabla 1. Casos que deben ser siempre analizados para detectar la deficiencia de 25OHD

- Raquitismo-osteomalacia
- Osteoporosis
- Enfermedad renal crónica
- Insuficiencia hepática
- Hiperparatiroidismo
- Síndromes de malabsorción:
 - Fibrosis quística
 - Enfermedad inflamatoria intestinal
 - Enfermedad de Crohn
 - Cirugía bariátrica
 - Enteritis por radiación
- Fármacos:
 - Anticonvulsivos
 - Glucocorticoides
 - Anti-HIV
 - Antifúngicos, vg. Ketoconazol
 - Colestiramina
- Color oscuro de piel
- Embarazadas y mujeres lactando
- Ancianos con antecedentes de caídas
- Ancianos con antecedentes de fracturas no traumáticas
- Obesos (niños y adultos IMC: >30 kg/m²)
- Granulomas
- Sarcoidosis
- Tuberculosis
- Histoplasmosis
- Beriliosis
- Linfomas

Además de las recomendaciones citadas para la población general y con distintas patologías²⁴, los principales ensayos clínicos aleatorizados de fármacos antiosteoporosis, osteo activos, utilizaron suplementos

de vitamina D y calcio en ambos brazos de estos estudios, lo que indica que se deben administrar suplementos de vitamina D/calcio a todos los pacientes que reciben bifosfonatos o denosumab^{25,26}.

Cuantificación de niveles de 25OHD

Las personas en riesgo de deficiencia de 25OHD deben ser siempre analizadas para detectar la deficiencia, o insuficiencia e intensidad de estas (Tabla 1). Como en estos pacientes se espera que el tratamiento de sustitución de vitamina D produzca un rápido efecto favorable de salud. Desde la perspectiva de la salud pública, la determinación de niveles de 25OHD es absolutamente rentable.

Aunque se describe con frecuencia, en todo el mundo, niveles séricos de 25OHD disminuidos en personas sanas, no hay evidencia de un beneficio en el cribado poblacional general en personas sanas en busca de deficiencia en 25OHD por lo que se recomiendan estudios de detección selectiva de deficiencia de vitamina D en pacientes pertenecientes a poblaciones de riesgo⁷.

Por tanto, se recomienda realizar mediciones de 25OHD además de en osteoporóticos con antecedentes o no de fracturas no traumáticas (particularmente antes de comenzar tratamiento con agentes osteo activos, anticatabólicos o anabólicos^{25,26}), en los procesos recogidos en la tabla 1²⁷. Pacientes con el diagnóstico clínico de raquitismo u osteomalacia; ancianos con antecedentes de caídas; mujeres embarazadas y lactantes, obesos (niños y adultos); personas con insuficiente exposición al sol; pacientes con síndromes de malabsorción (congénitos o adquiridos); maldigestión y sometidos a cirugía bariátrica; enfermedad renal crónica, insuficiencia hepática, fibrosis quística; hiperparatiroidismo primario y o secundario. También es conveniente evaluar niveles de 25OHD en pacientes sometidos a tratamientos que interfieren con el metabolismo del sistema endocrino de la vitamina D (fármacos anticonvulsivos, glucocorticoides, medicamentos para el SIDA, antimicóticos y colestiramina, entre otros) y en granulomas y algunos linfomas (en estos casos, también se aconseja evaluar niveles séricos de 1,25 (OH)2D).



Conflicto de intereses: El autor declara no tener conflicto de intereses.

Bibliografía

- Bouillon R, Marcocci C, Carmeliet G, Bikle D, White JH, Dawson-Hughes B, et al. Skeletal and extraskeletal actions of vitamin D: Current evidence and outstanding questions. *Endocr Rev.* 2019;40:1109-1151. doi: 10.1210/er.2018-00126.
- Bikle DD. Extraskeletal actions of vitamin D. *Ann N Y Acad Sci.* 2016;1376:29-52. doi:10.1111/nyas.13219.
- Quesada-Gómez JM, Diaz-Curiel M, Sosa-Henriquez M, Malouf-Sierra J, Nogues-Solan X, Gomez-Alonso C, et al. Low calcium intake and inadequate vitamin D status in postmenopausal osteoporotic women. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2013;136:175-7. doi: 10.1016/j.jsbmb.2012.10.013.
- Heureux N. Vitamin D testing-where are we and what is on the horizon. *Adv Clin Chem.* 2017;78:59-101. doi: 10.1016/bs.acc.2016.07.002.
- Institute of Medicine (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium. Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB, editors. Washington, DC: National Academies Press. 2011. pp. 1115. (entrada Junio 2020).
- Scientific Advisory Committee on Nutrition (SACN). SACN vitamin D and health report. Public Health England, 2016. (Entrada Junio 2020).
- Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM. Endocrine Society. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: An Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:1911-30. doi: 10.1210/jc.2011-0385.
- Dusso AS. Kidney disease and vitamin D levels: 25-hydroxyvitamin D, 1,25-dihydroxyvitamin D, and VDR activation. *Kidney Int. Suppl.* 2011;1:136-141.
- Feldman D, Pike JW, Bouillon R, Giovannucci E, Goltzman D, Hewison M (eds.). Vitamin D. Volume 1: Biochemistry, Physiology and Diagnostics. London; Elsevier Academic Press: 2018.
- Quesada Gómez JM, Heureux N. Vitamina D libre: una determinación en aumento. *Rev Osteoporos Metab Miner.* 2019;11:30-34. doi: 10.4321/s1889-836x2019000100006.
- Bikle DD. The free hormone hypothesis: when, why, and how to measure the free hormone levels to assess vitamin D, Thyroid, sex hormone, and cortisol status. *JBM Plus.* 2020;5(1):e10418. doi: 10.1002/jbm4.10418.
- Schwartz JB, Lai J, Lizaola B, Kane L, Markova S, Weyland PA, et al. Comparison of measured and calculated free 25(OH) vitamin D levels in clinical populations. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99:1631-7. doi: 10.1210/jc.2013-3874.
- Cashman KD, Hayes A, Galvin K, Merkel J, Jones G, Kaufmann M, et al. Significance of serum 24,25-dihydroxyvitamin D in the assessment of vitamin D status: a double-edged sword? *Clin Chem.* 2015; 61:636-45. doi: 10.1373/clinchem.2014.234955.
- Bosworth CR, Levin G, Robinson-Cohen C, Hoofnagle AN, Ruzinski J, Young B, et al. The serum 24,25-dihydroxyvitamin D concentration, a marker of vitamin D catabolism, is reduced in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2012;82:693-700. doi: 10.1038/ki.2012.193.
- Cashman KD, Kinsella M, Walton J, Flynn A, Hayes A, Lucey AJ, et al. The 3 epimer of 25-hydroxycholecalciferol is present in the circulation of the majority of adults in a nationally representative sample and has endogenous origins. *J Nutr.* 2014 Jul;144(7):1050-7. doi: 10.3945/jn.114.192419.
- Al-Zohily B, Al-Menhali A, Gariballa S, Haq A, Shah I. Epimers of vitamin D: a review. *Int J Mol Sci.* 2020 Jan 11;21(2): 470. doi: 10.3390/ijms2102 0470.
- Van den Ouweland JM, Beijers AM, van Daal H. Overestimation of 25-hydroxyvitamin D3 by increased ionisation efficiency of 3-epi-25-hydroxyvitamin D3 in LC-MS/MS methods not separating both metabolites as determined by an LC-MS/MS method for separate quantification of 25-hydroxyvitamin D3, 3-epi-25-hydroxyvitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D2 in human serum. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2014 Sep 15;967: 195-20.
- Bouillon R. Comparative analysis of nutritional guidelines for vitamin D. *Nat Rev Endocrinol.* 2017;13:466-479. doi: 10.1038/nrendo.2017.31.
- Sempos CT, Binkley N. Hydroxyvitamin D assay standardisation and vitamin D guidelines paralysis. *Public Health Nutr.* 2020;23:1153-1164. doi: 10.1017/S1368980019005251.
- Scientific Advisory Committee on Nutrition (SACN) (2016) Vitamin D and Health. <https://www.gov.uk/government/groups/scientific-advisory-committee-on-nutrition> (entrada Junio 2020).
- Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington DC: The National Academies Press 2011 (entrada Junio 2020).
- Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:53-8. doi: 10.1210/jc.2010-2704.
- Durazo-Arvizu RA, Camacho P, Bovet P, Forrester T, Lambert EV, Plange-Rhule J, et al. 25-Hydroxyvitamin D in African-origin populations at varying latitudes challenges the construct of a physiologic norm. *Am J Clin Nutr.* 2014;100:908-14. doi: 10.3945/ajcn.113.066605.
- Fuleihan Gel-H, Bouillon R, Clarke B, Chakhtoura M, Cooper C, McClung M, Singh RJ. Serum 25-hydroxyvitamin D levels: variability, knowledge gaps and the concept of a desirable range. *J Bone Miner Res* 2015; 30:133-140
- Carmel AS, Shieh A, Bang H, Bockman RS. The 25(OH)D level needed to maintain a favorable bisphosphonate response is ≥ 33 ng/ml. *Osteoporos. Int.* 2012;23:2479-2487. doi: 10.1007/s00198-011-1868-7.
- Díez-Pérez A, Olmos JM, Nogués X, Sosa M, Díaz-Curiel M, Pérez-Castrillón JL, et al. Risk factors for prediction of inadequate response to antiresorptives. *J Bone Miner Res.* 2012;27:817-24. doi: 10.1002/jbmr.1496.
- Varsavsky M, Rozas Moreno P, Becerra Fernández A, Luque Fernández I, Quesada Gómez JM, Ávila Rubio V, et al; en representación del Grupo de Trabajo de Osteoporosis y Metabolismo Mineral de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición. Recomendaciones de vitamina D para la población general. *Endocrinol Diabetes Nutr.* 2017; 64 Suppl 1:7-14. doi: 10.1016/j.endinu.2016.11.002.