

CONTRIBUCIONES ORIGINALES

Determinación de los niveles de vitamina D y su relación en la Densidad Mineral Ósea (DMO) en mujeres peri_menopáusicas.

Chávez RY*, Garzón N*, Wittingham E*, Estrada R**, Onatra W.***, Posso H.****

Resumen

Objetivos. Conocer en nuestro medio los niveles de vitamina D en mujeres durante el climaterio y su diferencia en los casos de osteopenia / osteoporosis confirmados por osteodensitometría.

Muestra. Se tomaron 27 pacientes que consultaron por síndrome climaterio a la Clínica de Climaterio del Instituto Materno Infantil (IMI) de Bogotá durante 1999: 3 osteoporóticas, 12 osteopénicas y 12 normales por osteodensitometría de acuerdo a los parámetros establecidos por la Asociación Internacional de Osteoporosis.

Metodología. Se utilizó la técnica de radioinmunoanálisis para la determinación cuantitativa de 1,25 (OH)₂D₂ en plasma humano, utilizando el kit Gamma b1, 25 dihydroxyvitamin de la casa IDS, por medio de inmunoextracción. Sensibilidad $\pm$ 2 Desviaciones estándar de 10 replicas del calibrador cero (5 pmol/L). Valor de referencia 46-110 pmol/L.

Estos datos se compararon con la Densidad Mineral Ósea (DMO) medida por densitometría a nivel de columna lumbar (L4) y fémur, considerando como osteoporosis un T-score de $\leq$ -2.5. Para el cálculo de la muestra se utilizó la prueba de T (22 grados de libertad), asumiendo igualdad de varianzas.

Resultados: El promedio para el grupo es 81.7 ± 18.9 pmol/L. El 68% de la muestra se encuentra entre 62.7 y 100.6 pmol/L dentro del promedio de lo esperado. El promedio de las mujeres normales es de 100.4 ± 13.56 pmol/L y las osteopénicas de 66.96 ± 9.5 pmol/L estos valores representan una disminución del 33% cuando se comparan las mujeres normales frente a las osteopénicas. Existe una diferencia significativa $p < 0.001$ entre las de DMO normales y las osteopénicas.

Conclusión: La determinación de vitamina D en mujeres climatéricas que consultaron en el IMI se encuentra dentro de los rangos de normalidad para la curva estándar. Las mujeres osteopénicas se encuentran un 33% por debajo de los promedios normales, con diferencia significativa en la DMO entre las normales y las osteopénicas. Se recomienda evaluar estos datos en áreas donde se recibe menos luz y confirmar la necesidad de vitamina D en la postmenopausia.

Palabras claves: Vitamina D, perimenopausia, Densidad Mineral Ósea, osteodensitometría.

SUMMARY

Objetives. To Investigate vitamin D levels in our area in climateric women and to stablish the difference between osteopenia and osteoporosis diagnosticated by osteodensitometry, DEXA.

Sample. We included 27 climateric women at the Climateric Clinic of the Materno-Infantil Hospital in Bogota during the year of 1999. The diagnosis were osteoporosis in 3 patients, osteopenia in 12 and 12 were normal, using the parameters of the International Association of Osteoporosis

Methods. Quantitative radioimmunoanalysis was done for determination of 1,25 (OH)₂D₃ in human plasma, utilizing the kit Gamma BI, 25 dihydroxyvitamin D through immunoextraction. Sensitivity was -2 standard deviations in 10 samples of zero calibrator (5 pmol/L). Reference value 41-110 pmol/L

These data were correlated with Bone Mineral Density (BMD) that was measured by DEXA at the lumbar spine (L4) and the hip. A T score -2.5 was considered as osteoporosis.

Results. The average value for the total group was 81.7 ± 18.9 pmol/L. 68% are in the average between 62.7 y 100.6 pmol/L. The median of normal women was between the range 100.4 ± 13.56 pmol/L and 66.96 ± 9.5 pmol/L in the osteopenic women. These data are a 33% lower in osteopenic versus normal women. There is a significant decrease of Bone Mineral Density ($p < 0.001$) in osteopenic women when compared with normal women.

Conclusion. The levels of vitamin D in the climateric women from the study are normal and are in the normal standard value. Osteopenic women have 33% decrease of the vitamin D levels from average of normal patients with a significant decrease of BMD in osteopenic women compared with normals. We recommend to evaluate these data in areas with less exposure to the sun light trying to confirm to supplement with vitamin D in the postmenopause.

Key words: Vitamin D, perimenopause, Bone mineral density, osteodensitometry.

Introducción

La vitamina D fue descubierta en 1929 demostrándose que en su producción intervenían los rayos solares en la piel y la identificación y preparación química fue útil en las siguientes décadas en la prevención del raquitismo en niños y en la osteoporosis del adulto. La existencia de la vitamina D y sus metabolitos fue solo demostrada hasta 1967¹, este desarrollo permitió aislar e identificar la vitamina D y sus metabolitos.

La vitamina D es sintetizada a partir de precursores en la piel y debe ser activada por medio de dos pasos en el hígado y el riñón. Los precursores de la vitamina D en la piel incluyen el 7-dehidrocolesterol que por acción de la luz ultravioleta general el colecalfiferol o previtamina D₃. El colecalfiferol es transportado por vía sanguínea ligado a la proteína fijadora de vitamina D (PBVita D) el cual es captado por el hígado donde por acción de la 25-hidroxilasa D₃ del retículo endoplásmico la convierte en el primer compuesto activo la 25(OH)D₃ (Calcidiol). Este compuesto es almacenado en el hígado, en el tejido adiposo o en el músculo esquelético². Posteriormente, la 25(OH)D₃ sufre una hidroxilación en la posición 1 mediante la acción de la 1-alfa-hidroxilasa mitocondrial que tiene mayor actividad en los túbulos renales proximales pero que puede encontrarse en cantidades mínimas en el cartílago, intestino y placenta. La hidroxilasa es un complejo enzimático formado por una flavoproteína (ferredoxina reductasa) y una proteína que contiene hierro y azufre (ferredoxina renal) y el citocromo P 450 que para llevar a cabo su acción requiere de la NADPH, magnesio y oxígeno molecular. Por acción de esta enzima se produce la 1-alfa-25(OH)₂D₃ (Calcitriol) el metabolito activo. El aumento del Calcitriol inhibe su propia síntesis activando la 24-hidroxilasa que forma la 24-25(OH)₂D₃ un metabolito inactivo. Figura 1.

Mecanismo de acción

Las acciones biológicas de la vitamina D se ejercen por intermedio de receptores nucleares específicos, cuya estructura química ha sido establecida. Es una proteína en forma de dedos de zinc con un peso molecular de 55.000

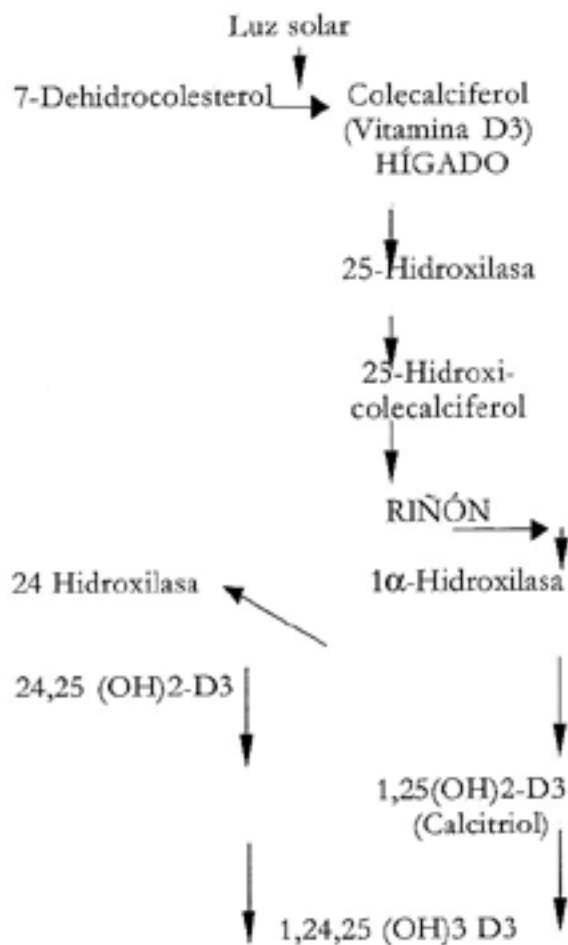
Daltons que se une a sitios específicos en el ADN conocidos como Elementos Respondedores a Hormonas (ERH). La unión específica conduce a un aumento en la transcripción genética de proteínas como la proteína transportadora de calcio, cuya función es conducir el calcio a través del enterocito para completar el proceso de absorción activa del elemento a nivel intestinal.

Otra de las funciones de la vitamina D fuera de la absorción de calcio a nivel intestinal es la de una función específica en la remodelación ósea. El osteoblasto sintetiza sustancias útiles para la matriz ósea como el colágeno tipo I y otros elementos no colágenos cuya síntesis es estimulada por la vitamina D. El efecto final de la vitamina D, es aumentar la síntesis de material osteoide que en presencia de niveles normales de calcio y fósforo se mineralizará y hará parte del hueso neoformado. Por otra parte, la vitamina D estimula la diferenciación y reclutamiento de los osteoclastos. En resumen, a nivel de hueso la vitamina D interviene tanto en la resorción como en la reabsorción manteniendo un equilibrio para el adecuado funcionamiento musculoesquelético.

La 1-25(OH)₂D₃ interviene en la regulación de la concentración de calcio (Ca⁺⁺) en el plasma, en funciones de la hormona paratiroidea (PTH), páncreas, hígado, hueso (movilización de calcio), piel, pulmón, riñón (reabsorción de calcio en el túbulo proximal) e intestino (reabsorción intestinal de

calcio). Cuando existe un déficit de vitamina D los niveles séricos de calcio disminuyen y se produce un aumento compensador de la PTH que incrementa la reabsorción de calcio. La hipofosfatemia induce también la activación de la vitamina D existiendo un equilibrio endocrino entre la hormona paratiroidea (PTH), el calcio (Ca^{++}), calcitonina (CT) y el fosfato inorgánico (Pi)².

Figura 1
Formación y metabolismo
de la vitamina D



La deficiencia de vitamina D (vita D), ya sea por síntesis disminuida, alteración de sus metabolitos, interacción de los mismos con la hormona paratiroidea (PTH) y la calcitonina (CT), variación en los órganos de respuesta modifican de alguna manera su absorción, la excreción renal de calcio con modificaciones en la masa ósea a medida que progresa la edad³.

Estudios en Europa, Japón, Estados Unidos, Australia han demostrado deficiencias de vitamina D en la población adulta. Su análisis permite afirmar que la $25(\text{OH})\text{D}_3$ se encuentra

disminuida en edades avanzadas y con osteoporosis. Teniendo en cuenta las diferencias étnicas, la regulación génica de dicha hormona y sus metabolitos, diferencias en la pigmentación de la piel, exposición a rayos solares, aportes de calcio en la dieta y medio ambiente, es importante determinar la vitamina D en la población adulta con el fin de evaluar la necesidad o no de su aplicación farmacológica⁴. Fue interés de los autores conocer cómo se encontraba la concentración de vitamina D en mujeres perimenopáusicas normales, osteopénicas y osteoporóticas.

Material y métodos

Es un estudio abierto no aleatorizado prospectivo de casos y controles en mujeres posmenopáusicas: osteoporóticas - osteopénicas versus mujeres normales evaluando la Densidad Mineral Ósea (DMO) por osteodensitometría a nivel lumbar y fémur, considerando T score ≥ 2.5 como osteoporosis y < 2.5 - < 1.5 como osteopenia.

Criterios de inclusión:

Se tomaron 27 mujeres de la consulta de climaterio del Instituto Materno Infantil durante el primer semestre de 1999. Los criterios incluían: mayores de 50 años, amenorrea mayor de 1 a 2 años, no modificaciones en hábitos alimenticios, no ingesta de medicamentos (estrógenos, progesterona, andrógenos, calcitonina, bifosfonatos, calcio, análogos de la vitamina D, corticoides, anticonvulsivantes), exposición solar según su costumbre, no sobrepeso ni obesidad. Osteoporosis, osteopenia o normales confirmadas por osteodensitometría (mayor de < 2.5) desviaciones estándar, osteoporosis, o menor de < 2.5 , hasta < 1.5 osteopenia.

Los criterios de exclusión fueron: mujeres que no cumplan el rango de edad establecido, sobrepeso, índice de masa corporal (IMC) mayor de 25, ingesta de medicamentos incluido el calcio, exposición solar permanente más de 4 horas al día y sin osteodensitometría.

Se conformaron 3 grupos: Grupo I: DMO normal, Grupo II DMO: T score < -1.5 / < -2.5 osteopenia y el Grupo III: T score < -2.5 , osteoporosis.

Metodología

Se toman 25 μL de suero o plasma (con EDTA o heparina) por duplicado para realizar el ensayo de $1,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$.

Se determina la dosificación cuantitativa de $1,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$ por quimioluminiscencia de tercera generación (IMMULITE). Este ensayo involucra una extracción rápida de $1,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$ a partir de suero o plasma con acetónitrilo y posteriormente se somete a radioinmunoanálisis (RIA)⁵. El

método de RIA se basa en un anticuerpo específico para la 1,25(OH)₂ D₃, para esto se incubaba la muestra, el anticuerpo y el marcador, luego se entrega un segundo anticuerpo precipitado al complejo anterior⁶. Para el cálculo de % de curva estándar del RIA se utiliza la siguiente fórmula:

Usando papel semilogarítmico se coloca el % del estándar de 1,25(OH)₂ D₃ en el eje vertical y la concentración conocida del estándar en el eje horizontal, se unen los puntos con una línea, se interpolan los niveles de 1,25(OH)₂ D₃ de la muestra para obtener la concentración, de acuerdo al resul-

tado si el valor es más alto del standard se diluye la muestra corrigiendo por el factor de dilución⁷.

Valores normales:

1,25-(OH)₂ D₃
18 - 122 pmol/L (7 - 47 pg/mL)

Sensibilidad y especificidad del intraensayo es del 99.8 %.

Tabla 1
Valores de densitometría normal y vitamina D

Casos	Edad	Columna	Z Score	Fémur	Z Score	Dx	1,25(OH) ₂ D ₃ pmol/L
1	58	1.152	-0.40	0.864	-0.82	Normal	75
6	42	1.095	-0.87	1.039	0.20	Normal	96
8	49	1.138	-0.81	1.048	-0.25	Normal	122
9	54	1.094	-0.86	1.042	-0.19	Normal	117
12	48	1.419	1.18	0.816	1.36	Normal	103
13	55	0.975	-1.48	0.982	-0.33	Normal	89
14	49	1.093	-0.87	0.746	-1.15	Normal	112
15	44	1.414	1.78	1.223	2.01	Normal	84
16	43	0.724	-0.27	0.966	1.39	Normal	117
19	48	1.087	-0.94	1.143	2.17	Normal	100
24	49	1.096	-0.75	1.136	1.87	Normal	92
26	52	1.184	2.08	1.395	1.57	Normal	88

Evaluación estadística. Para comparar los niveles de vitamina D entre los dos grupos I y II se usó la prueba T (22 grados de libertad), asumiendo la igualdad de varianzas.

Resultados

En el grupo I (normal): 26 casos, Grupo II (osteopénicas) 27 casos y Grupo III (osteoporosis) 3 casos. En el Grupo I los niveles de vitamina D oscilaron entre 75 y 117 pmol/L, sus valores están dentro de los límites normales. La DMO tanto a nivel lumbar como fémur se encuentran en niveles de T score alrededor de cómo se muestra en la tabla 1.

El grupo II, muestra valores de vitamina D en rango normal pero sus niveles están en el límite bajo. La DMO tanto en fémur como en columna el T score está por debajo de -2.5, como lo muestra la tabla 2.

El grupo III, con valores de vitamina D dentro de límites normales y la DMO con T score > de -2.5, por ser tan escaso en número de casos de este grupo no se tuvo en cuenta para el análisis estadístico, tabla 3.

Al hacer las pruebas de significancia se encuentra una media de 99.5 ds 14.8 para los casos normales para DMO y de 69.4 con una DS de 10.5 (Tabla 4). Al aplicar la prueba de muestras independientes la p<0.001, demostrándose una diferencia significativa entre las pacientes con DMO normales y las osteopénicas en relación con los niveles de 1,25(OH)₂ D₃. Figura 2.

Discusión

La vitamina D es fundamental en el metabolismo del calcio y en el proceso de remodelación ósea que se encuentra alterado en la osteoporosis. - La osteoporosis tipo I en su

Tabla 2
Valores de densitometría, osteopenia y vitamina D

Casos	Edad	Columna	Z Score	Fémur	Z Score	Dx	1,25(OH) 2D3 pmol/L
2	57	1.063	-1.51	0.771	-0.93	Osteopenia	57
3	51	0.931	-2.24	1.042	-0.19	Osteopenia	70
5	52	0.963	-1.98	0.744	-2.00	Osteopenia	60
10	49	1.057	-0.97	0.954	-0.31	Osteopenia	79
11	54	0.915	-2.37	0.948	-1.41	Osteopenia	74
17	56	0.984	-1.80	0.863	-0.21	Osteopenia	75
20	54	0.972	-1.90	0.761	-2.17	Osteopenia	80
21	58	1.086	-0.95	0.837	-1.85	Osteopenia	48
22	52	0.953	-2.06	0.888	-1.16	Osteopenia	69
23	47	1.179	-0.55	0.841	-1.80	Osteopenia	64
25	56	0.932	-2.23	0.857	-1.52	Osteopenia	84
27	48	0.633	-2.22	0.772	-1.23	Osteopenia	73

Tabla 3
Valores de densitometría, osteoporosis y vitamina D

Casos	Edad	Columna	Z Score	Fémur	Z Score	Dx	1,25(OH) 2D3 pmol/L
4	52	0.855	-2.87	0.728	-2.71	Osteoporosis	65
7	58	0.893	-2.56	0.728	-2.62	Osteoporosis	57
18	60	0.893	-2.56	0.721	-2.62	Osteoporosis	73

etiología es debida a la deficiencia de estrógenos y el tipo 2 en pacientes de edad avanzada y determinada por un hiperparatiroidismo secundario el cual estimula la resorción ósea de hueso cortical y trabecular manifestándose clínicamente por un aumento de fracturas de cadera por encima de 70 años⁸⁻¹⁰. En el tipo 2 hay un incremento de los niveles de PTH relacionado con la insuficiencia de vitamina D y baja ingesta de calcio, alteración en la función renal con disminución de la actividad de la 1- α -hidroxilasa, disminución de la absorción de calcio por síndrome de mala absorción, resistencia paratiroidea a la inhibición de la PTH por la 1-25(OH) $_2$ D $_3$, aumento de los marcadores óseos, todo lo cual es reversible en sus manifestaciones tempranas. En su evolución final se presentará un cuadro de osteomalacia¹¹⁻¹³. La determinación de 25(OH) $_2$ D $_3$ permitirá un diagnóstico temprano indirecto de la función ósea.

En el presente trabajo, de las 27 mujeres perimenopáusicas se encontraron 12 osteopénicas, 3 osteoporóticas con una edad promedio de 53.7 años y se compara con 12 normales desde el punto de vista osteodensitométrico, edad

promedio 48.6 años. Los niveles séricos de 1,25(OH) $_2$ D $_3$ se encuentran dentro de límites normales en ambos grupos con un promedio de 81.71 pmol/L. De las mujeres osteopénicas _osteoporóticas fue de 66.96 pmol/L. Frente a las normales con promedio de 100.45 pmol/L. Esta disminución corresponde a un 33%. En el grupo de las normales con niveles séricos por encima de lo normal con promedio de 114.2 mol/L, por ser una muestra pequeña (18.5%) se puede inferir que en nuestro medio tendríamos una población con buenos niveles de vitamina D, haciendo innecesario la administración de esta hormona, para este grupo de edad.

Estudios europeos demuestran esta observación de encontrar niveles de 1.25 (OH) $_2$ D $_3$ dentro de límites normales en población madura y bajos en casos de osteopenia¹⁵⁻¹⁶. El presente estudio demuestra como a medida que la DMO disminuye, los niveles de vitamina D disminuyen pero dentro de rangos normales.

La administración de vitamina D sola o de calcio solo o de ambos durante el climaterio y la vejez ha sido contro-

Figura 2. Niveles de vitamina D en pacientes con osteodensitometría normal y osteopénicas

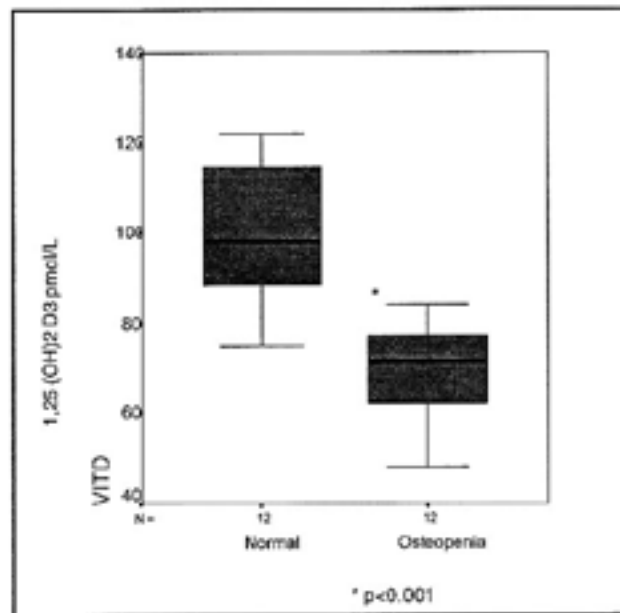


Tabla 4
Prueba de significancia T

Estadísticos del grupo					
ESTADO		N	Media	Desviación tip.	Error tip. de la media
VIT D	Normal	12	99.58	14.89	4.30
	Osteopenia	12	69.42	10.50	3.03

Tabla 5
Pruebas de muestra independiente

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error tip de Diferencia	Intervalo de confianza para la diferencia	
								Inferior	Superior
VIT D Se han asumido varianzas iguales	2.086	.163	5.735	22	.000	30.17	5.26	19.26	41.07
No se han asumido varianzas iguales			5.738	19.772	.000	30.17	5.26	19.19	41.15

versial con relación a la disminución del riesgo de fractura a pesar que se demuestra la disminución de la PTH y los marcadores de recambio óseo. En consenso reciente se ha recomendado el uso profiláctico de vitamina D en pacientes mayores de 60-65 años, 5 años después de la menopausia, a dosis de 400 a 600 Unidades Internacionales al día y de administración obligatoria por encima de los 70 años 18-19. Por los efectos benéficos de la administración de la vitamina D, se recomienda además en estados carenciales por exposición solar baja, síndrome de mala absorción con diarrea y en lactantes hospitalizados por largos períodos. También en pacientes que van a ser sometidos a cirugía con inmovilizaciones prolongadas, los que reciben corticoides y en los diferentes tipos de osteoporosis 17,20.

Referencias

1. Satumara K, Tanaka H. The effect of purification procedures on the determination of serum level of 1,25-dihydroxyvitamin D. *Nippon* 1988; 64: 514-22.
2. Bikle DD. The vitamin D endocrine system. *Adv Intern Med* 1982; 27: 45-52.
3. Pogue SJ. Vitamina D synthesis in the elderly. *Dermatol Nurs* 1995; 7: 103-5.
4. Hesck RD, Heck J, Delling G. Results of stimulatory therapy of low bone metabolism in osteoporosis with HPTH and disphosphotne, EHDP. *Klin Wochenschi* 1988; 19: 976-82.
5. Automated inmunoassay system operator. Manual version 2.0 Inmmulite. Diagnostic. Products corporation (CDP) 1995.
6. INCSTAR 25-hydroxyvitamin D Y 125 RIA kit. Instruction manual INCSTAR corporation stillwater. Minnesota. USA. 1966: 1-107.
7. Gloth III FM, Gundberg CM, Hollis BN, et al. Vitamin D deficiency in homebaund elderly persons. *JAMA* 1995; 274: 1983-86.
8. Marcell E, Jan C, Ross P, et al. Prevention of bone loss by vitamina D supplementation in elderly women: A randomized double blind trial. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 12: 105-7.
9. Masada S, Numa K. Bone narrow and serum concentrations of 20-25 dihydroxyvitamin D and 1 alpha,25 didydroxyvitamin D in patients with leukemia and normal subjects.
10. Mark R, Foley PA, Jolley D, et al. The effect of regular sunscreen use in vitamin D levels in on Australian population. *Arch Dermatol* 1995; 131: 415-21.
11. Dequeker J, Lin-thoudth H, Vanschovbrosck Y, et al. Prevention of post-menopausal bone loss by 1 alpha vitamin D3. *Akt Rheumatol* 1994; 19: 19S-22S.
12. Orino TT. Clinical aplicacion of 1 alpha (OH) D3 in japan. *Akt Rheumatol* 1994; 19: 27S-30S.
13. Bell NH. Vitamin D metabolism, aging and bone loss. Editorial. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 1051.
14. Pettifor JM, Bikle DD, Coraleros M, et al. Serum levels of free 1,25-dihydroxyvitamin D in vitamin D toxicity. *Ann Intern Med* 1995; 122: 511-13.
15. Omms ME, Ross JC, Bezemer PD, et al. Prevention of bone loss by vitamin D supplementation inelderly women: A randomized double blind trial. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 1052-58.
16. Dawson-Hughes B, Harris SS, Krall EA, et al. Rates of bone loss in postmenopausal women randomly assigned to one of two dosages of vitamin D 1.4. *Am J Clin Nutr* 1995; 61: 1140-5.
17. Dechant KL, Goa KL. Calcitriol: A review of its use in the treatment of postmenopausal osteoporosis and its potencial in corticosteroid -induced osteoporosis. *Drug & Aging* 1994; 5: 300-17.
18. Dawson-Hughes B., Falconer G, Dollar GE, et al. Effect of calcium and vitamin D supplementation on bone density in men and women 65 years of age or older. *N Engl J Med* 1997; 337: 670-6
19. Gallagher JC, Golgar D. Treatment of postmenopausal osteoporosis with hight doses of synthetic calcitriol. A randomized controlled study. *Ann Inter Med* 1990; 113: 649-55.
20. Sambrook P, Birmingham J, Kelly P, et al. Prevention of corticosteroid osteoporosis. *N Engl J Med* 1993; 328: 1747-52.