

## CONSIDERACIONES ACTUALES DE LA VITAMINA D

## Vitamina D: visión desde el laboratorio

Mari Ángeles Busturia Jimeno

Responsable de Gestión y Estrategia, Hospital de Cruces - BioCruces, Bizkaia.

En los últimos quince años, se ha producido una verdadera revolución en cuanto a la relación de la vitamina D con diferentes patologías<sup>1-4</sup>.

Hemos sabido, que el 3% del genoma humano está regulado directa o indirectamente por la vitamina D<sup>5</sup>, que dos de cada tres adultos tiene un nivel insuficiente de vitamina D<sup>6</sup> y que el 7% de la mortalidad total se reduciría con niveles adecuados de vitamina D<sup>7</sup>.

Las publicaciones acerca de la vitamina D han aumentado de manera exponencial. Podríamos decir que la vitamina D se considera según algunos autores, el “analito del milenio”.

La medición de la vitamina D constituye un marcador biológico fiable para cuantificar su concentración plasmática. Requiere, por parte de los laboratorios, consideraciones y observaciones imprescindibles en la valoración de los diferentes métodos y el control de los mismos.

El grupo conocido bajo el nombre común de vitamina D, consiste en seis compuestos denominados D2 a D7. Desde el punto de vista médico, los que

tienen relevancia son: vitamina D3 (colecalciferol, “vitamina del sol”, Fig. 1) y vitamina D2 (ergocalciferol, “vitamina de la dieta”, Fig. 2).

Los niveles circulantes de vitamina D tienen su origen en dos fuentes: la luz solar y la alimentación.

El 80-90% se produce por la acción de los rayos ultravioleta sobre la piel. A través de la ingesta, solamente el 10-20% del total.

El sol actúa sobre la piel transformando el 7-dehydrocolesterol en colecalciferol (vitamina D3), el cual se deposita en el hígado, donde se hidroxila formando la 25-hidroxivitamina D que, en su paso por el riñón, sufre una segunda hidroxilación dando lugar a 1,25-dehidroxivitamina D, que constituye el metabolito activo (Fig. 3).

Son pocos los alimentos que aportan vitamina D.<sup>8,9</sup> Ver Tabla 1.

En algunos países existen numerosos alimentos suplementados con vitamina D. Generalmente, se realizan con D2<sup>10</sup>.



Figura 1. Vitamina del sol.



Figura 2. Vitamina de la dieta.

Tabla 1. Contenido de vitamina D según fuentes naturales (IU:25ng)

Aceite de hígado de bacalao	~400–1,000 IU/cucharadita de vitamina D3
Salmón salvaje fresco	~600–1,000 IU/3.5 oz vitamina D3
Salmón fresco de piscifactoría	~100–250 IU/3.5 oz vitamina D3, vitamina D2
Salmón en lata	~300–600 IU/3.5 oz vitamina D3
Sardinas en lata	~300 IU/3.5 oz vitamina D3
Caballa en lata	~250 IU/3.5 oz vitamina D3
Atún en lata	236 IU/3.5 oz vitamina D3
Setas Shiitake frescas	~100 IU/3.5 oz vitamina D2
Setas Shiitake secas	~1,600 IU/3.5 oz vitamina D2
Yema de huevo	~20 IU/yema vitamina D3 o D2

Holick F. *N Engl J Med* 2007; 357:266–281

Tanto D2 como D3 mantienen el balance de calcio y fósforo en el organismo a través de la acción de la hormona paratiroides (Fig. 4).

La capacidad de la piel para producir vitamina D va disminuyendo con los años y podríamos decir que a los 70 años esta capacidad está reducida al 30% <sup>11</sup>. El envejecimiento disminuye la concentración de 7-DHC en la piel.

Otros factores que afectan a la producción cutánea de vitamina D son la cantidad de melanina en la piel, la latitud geográfica, hora del día y estación del año <sup>11</sup>.

#### Parámetros a medir en el laboratorio

Los parámetros que, en relación al metabolismo de la 25(OH)D, vamos a medir en el laboratorio son los siguientes: calcio corregido por albúmina, calciuria, cloro, fósforo, PTH y vitamina D (Fig. 5).

En cuanto a la determinación de Vitamina D y dadas las características que a día de hoy tienen las diferentes metodologías utilizadas <sup>(12)</sup>, es fundamental la relación de los médicos clínicos con los laboratorios.

#### Preguntas al laboratorio

¿Qué podemos medir?

En los laboratorios, actualmente, podemos medir 25(OH)D2, 25(OH)D3, 1,25(OH)D y Epímero C3 <sup>23</sup>.

¿Qué debemos medir?

Para conocer el estado del paciente con relación a la vitamina D debemos medir 25(OH)D2 y 25(OH)D3.

El 3-epi-25(OH)D no debe medirse. Su efecto biológico es muy escaso, la concentración en niños y en adultos es muy diferente y tiene una gran dificultad técnica, lo que hace imposible su realización en laboratorios clínicos <sup>13</sup>.

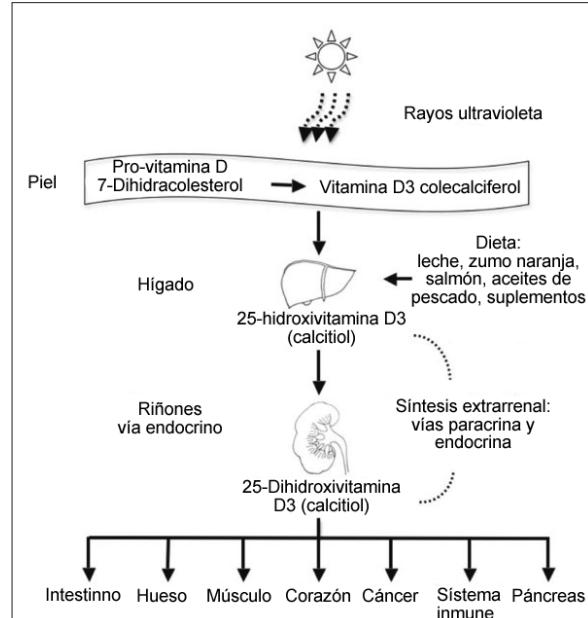
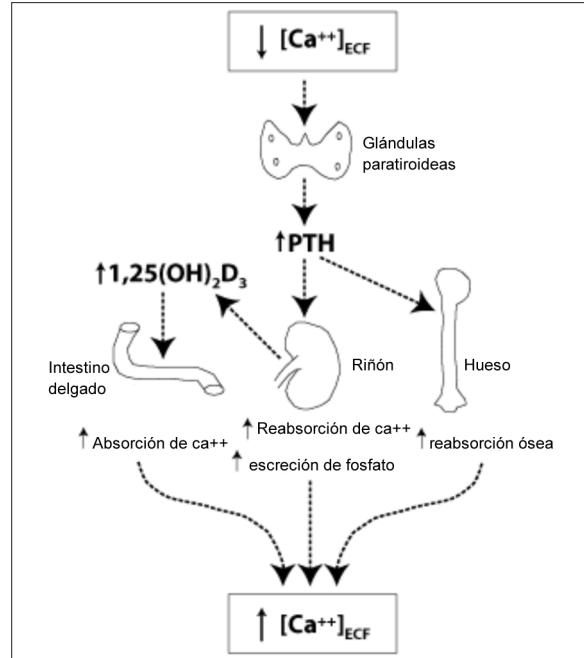
Figura 3. Grundmann M. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2011; 9:146.

Figura 4.

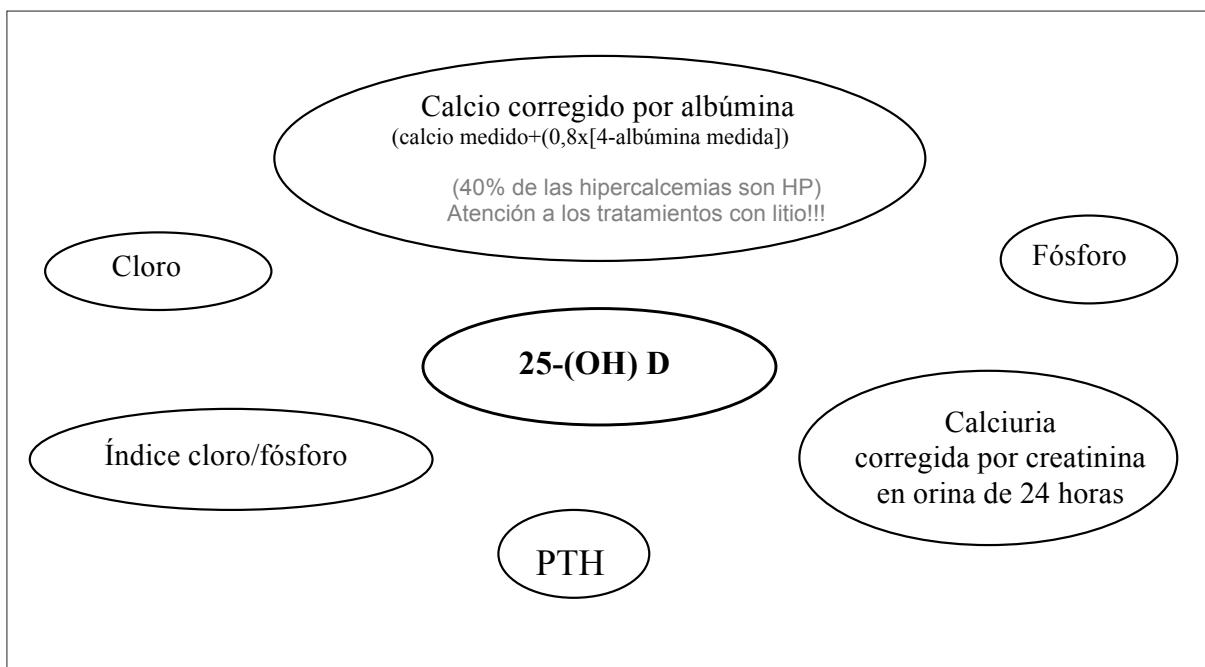


Figura 5. Parámetros a medir en el laboratorio.

**¿Cuándo se debe medir la vitamina D?**

Debemos medir D<sub>2</sub> + D<sub>3</sub> cuando haya sospecha de riesgo de deficiencia (20 ng/ml) o insuficiencia (21-29 ng/ml)<sup>35</sup>.

La medición de 1,25(OH)D está indicada en los casos en los que existe una patología con trastornos del metabolismo fosfocalcico/vitamina D<sup>14</sup>.

Se ha publicado recientemente una guía donde se recomienda con claridad cuando deben medirse estos parámetros<sup>14</sup>.

**Métodos para la cuantificación de vitamina D**

En los laboratorios podemos realizar la determinación de vitamina D mediante dos clases de métodos: inmunoquímicos y cromatográficos. Dentro de los inmunoquímicos y dependiendo del método de detección, disponemos de técnicas radioactivas, enzimáticas y quimioluminiscentes. Entre los cromatográficos, utilizamos HPLC y LC-MS-MS<sup>15,19</sup>.

El radio-inmunoensayo necesita disponer de instalación radioactiva para su desarrollo metodológico. Los procedimientos quimioluminiscentes están automatizados y son de más fácil manejo. Los métodos cromatográficos requieren de una mayor cualificación técnica, son más largos y laboriosos, con mayor dificultad de automatización.

Se han publicado numerosos trabajos (Tabla 2) que han evaluado los diferentes métodos, habiéndose encontrado buena correlación entre ellos. Todos miden D<sub>2</sub> y D<sub>3</sub><sup>20-22</sup>.

Tabla 2.

DiaSorin-Lyason / DiaSorin-RIA	r = 0,918
Roche Quimioluminiscencia/RIA	r = 0,871
Lyason y Roche/LC-MSMS	r = 0,836

Además de las comparaciones metodológicas, la técnica de elección debe estar controlada estrechamente por los responsables de los laboratorios<sup>31,32</sup>, ya que en numerosas ocasiones pueden aparecer interferencias no descritas y sorprendentes.

**Estabilidad de la vitamina D**

Este parámetro es muy estable en suero, incluso a temperatura ambiente. Permite congelación y descongelación sin que la molécula se deteriore.

En los casos en los que se realiza una fase de extracción, la estabilidad es mucho menor<sup>23,24</sup>.

**Valores de referencia**

Los niveles de vitamina D que se correspondan con el punto de inflexión normal de PTH deben ser interpretados como la situación óptima de la homeostasis del calcio y como marcador de valor suficiente de vitamina D.

En una gran mayoría de los casos, existe una relación inversa entre los niveles plasmáticos de vitamina D y la concentración de hormona paratiroides circulante (Fig. 6).

Los niveles de vitamina D son más importantes que la ingesta de calcio para mantener la PTH en concentraciones adecuadas<sup>25</sup>.

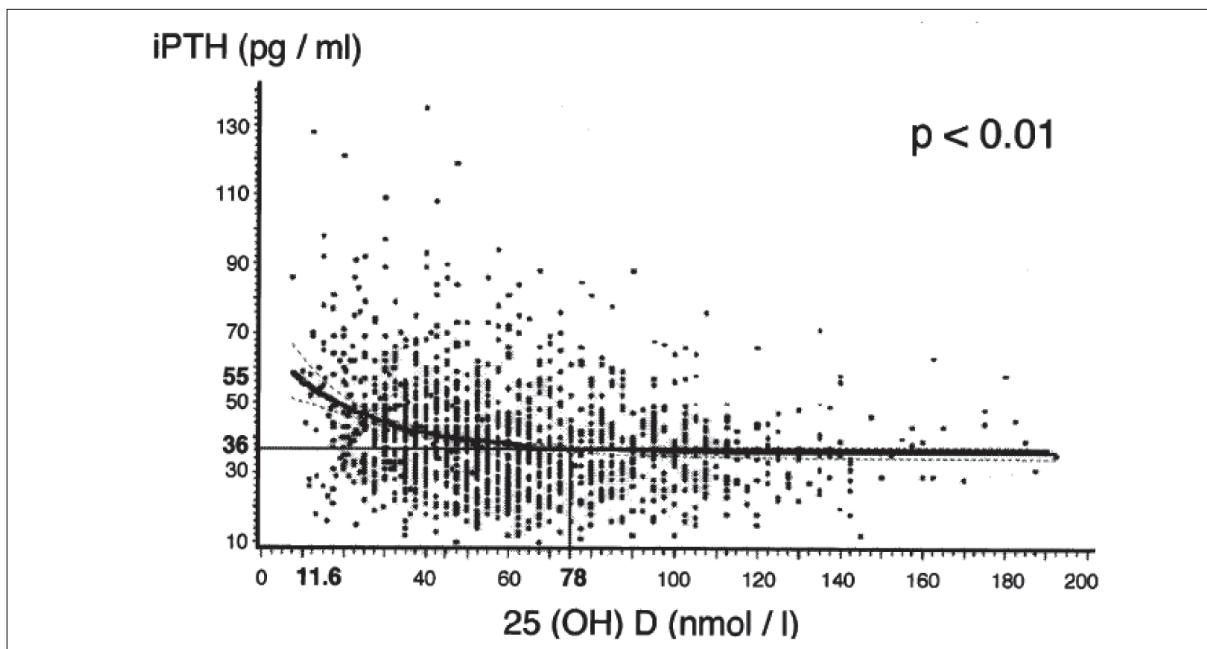


Figura 6. *Osteoporosis International*. 1997;7: 439-443

Existen algunas variaciones, en cuanto a valores de referencia, si tenemos en cuenta sexo, edad, raza y estación del año (tabla 3)<sup>23</sup>.

Tabla 3.

Sexo:	2%	Hombre/Mujer
Raza:	67%	Blancos/Negros
Edad:	33%	Jóvenes/Adultos mayores
Estación:	8%	Invierno/Verano

Schleicher. *Clinical Chemistry*. 2011<sup>23</sup>.

El valor de referencia más admitido es de 30ng/ml (75nmol) hasta 100ng/ml, siendo la intoxicación muy rara<sup>26-30</sup>.

Deficiencia vitamina D	< 20 ng/ml (< 50 nmol/l)
Insuficiencia vitamina D	20-30 ng/ml (50-75 nmol/l)
Suficiencia vitamina D	> 30 ng/ml (> 75 nmol/l) <sup>14</sup>

(F. Conversión: ng/ml x 2,5 = nmol/l)

En los laboratorios existe una regla de oro apoyada en numerosas publicaciones, en cuanto a la relación entre la dosis administrada al paciente y la medida de dicho analito en plasma.

100 UI de vitamina D produce un aumento de sangre de 25(OH)D de 1 ng/ml<sup>34</sup>.

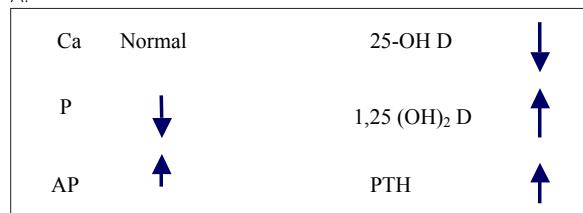
La influencia que, en la absorción del calcio, tienen los valores de vitamina D, se traduce en un ascenso de su absorción intestinal. Un aumento de los niveles de vitamina D de 20 a 32 ng/ml, eleva la absorción de calcio intestinal un 65%.

En las últimas publicaciones encontramos una ten-

dencia que indica que los valores no deben superar los 50-60 ng/ml ya que, a partir de dicha concentración, comienzan a revertir los efectos beneficiosos de la vitamina D<sup>8,9</sup>.

En los casos de deficiencia de vitamina D, moderada o severa, encontraremos alterados algunos parámetros bioquímicos (Fig. 7).

A.



B.

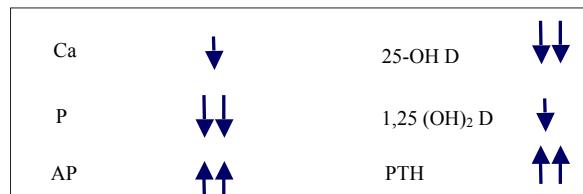


Figura 7. A. Deficiencia moderada de vitamina D. B. Deficiencia severa de vitamina D

#### Influencia de los protectores solares en los valores de vitamina D

Cualquier tipo de protector solar con un SPF (*Sun Protection Factor*) de 30 absorbe el 98% de la radiación UVB y paralelamente, en la misma proporción, disminuye la producción de vitamina D en el individuo.

## Monitorización de 25-(OH) D

El *screening* está justificado en los casos con sospecha de deficiencia de vitamina D<sup>35</sup>.

Se debe monitorizar en aquellos casos en los que existe un mayor riesgo de hipercalcemia e hipocalciuria.

La medida monitorizada, una vez establecida la dosis, está justificada en todas aquellas patologías donde existe mayor riesgo de hipercalcemia o hipocalciuria (enfermedad inflamatoria intestinal, fibrosis quística, enfermedades hepáticas y renales, bypass gástrico, hiperparatiroidismo primario, granulomatosis, o cuando se estén realizando tratamientos con gluocorticoides o anticonvulsivantes) (Tabla 4).

Tabla 4.

<b>Monitorización 25 (OH) D</b>
Enfermedad inflamatoria intestinal
Fibrosis quística
Enfermedades hepáticas y renales
Bypass gástrico
Tratamientos con
Anticonvulsivantes
Gluccorticoides
VIH
Hiperparatiroidismo primario
Granulomatosis

El laboratorio debe realizar una vigilancia continua del método elegido para la determinación de la vitamina D. Podemos encontrar, con relativa frecuencia, valores inadecuados a la clínica del paciente, debido a anticuerpos heterófilos, interferencias medicamentosas y otros<sup>31, 32</sup>, situaciones que son independientes de los criterios técnicos que definen la bondad de una metodología analítica.

Ante la discrepancia clínica o el hallazgo de valores inesperados en el resultado de un inmunoensayo, el laboratorio deberá realizar diluciones seriadas de la muestra, medir dicha muestra con métodos alternativos y tratar el espécimen con reactivos que bloquean los anticuerpos heterófilos. Así mismo, el laboratorio debe de conocer las interferencias específicas de cada ensayo y las características de los geles de separación en técnicas de HPLC-MCMC.

También consideramos importante, dentro de la vigilancia metodológica, la relación continuada y estrecha con los fabricantes de los productos con los que trabajamos, máxime en los casos con procedimientos automatizados, en los que es imprescindible conocer cualquier modificación in-

troducida en el proceso de fabricación, haciendo especial mención a los estándares de referencia utilizados.

## Control de calidad

En la actualidad, disponemos de un control externo de calidad para la vitamina D DEQAS (*The international External Quality Assessment Scheme for Vitamin D Metabolites*)<sup>33</sup>.

## Conclusiones

La vitamina D tiene un papel fundamental en la homeostasis del calcio y del fósforo.

La mayor fuente de aporte de vitamina D es la luz solar.

La deficiencia de vitamina D no produce síntomas a corto plazo pero, no obstante, numerosos estudios demuestran que la falta de vitamina D a largo plazo aumenta el riesgo de varios cánceres y está relacionada con un gran número de patologías.

Debe tenerse en cuenta a la hora de interpretar los valores normales, el color de la piel, la latitud en la que viva el paciente, embarazo, obesidad y otros.

Como valores de referencia, la mayoría de los autores establecen en 30 ng/ml el valor ideal. En las últimas publicaciones se nos indica que pasar de 50-60 ng/ml puede ser perjudicial.

En los laboratorios, por cada 100 UI de vitamina D que se suministra al paciente, se mide 1ng/ml.

La mejor manera de conocer la situación del paciente en relación a los niveles de vitamina D es solicitar la determinación de 25(OH)D asegurándose que se mide D2 y D3. Debemos tener en cuenta que no todas las personas necesitan ser sometidas a una prueba de *screening*, solamente los pacientes con riesgo de deficiencia.

Debe repetirse la determinación de 25(OH)D durante el tratamiento de la deficiencia, para poder comprobar la respuesta individual a dicho tratamiento.

Es fundamental que exista una estrecha relación entre los médicos clínicos y los laboratorios para la correcta interpretación de los resultados analíticos.

## Bibliografía

1. Holick MF. Vitamin D deficiency in 2010: health benefits of vitamin D and sunlight: a D-bate. *Nat Rev Endocrinol* 2011; 7:73–75.

2. Bikle DD. Vitamin D regulation of immune function. *Vitam Horm* 2011; 86:1–21.
3. Davis CD, Milner JA. Vitamin D and colon cancer. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2011;5:67–81.
4. Grant WB, Boucher BJ. Requirements for vitamin D across the life span. *Biol Res Nurs* 2011;13:120–133.
5. Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, Van Etten E, Verstuyf A, Luderer HF, Lieben L, Mathieu C, Demay M. Vitamin D and Human Health: Lessons from Vitamin D. *Endocrine Reviews*. 2008; 29(6): 726-776.
6. Norman AW, Bouillon R, Whiting SJ, Vieth R, Lips P. 13th Workshop consensus for vitamin D nutritional guidelines. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2007;103:204-5.
7. Autier P, Gandini S. Vitamin D Supplementation and Total Mortality. *Arch Intern Med*. 2007;167 (16):1730-1737.
8. Aloia JF. Review: The 2011 report on dietary reference intake for vitamin D: Where do we go from here? *J.Clin. Endocrinol. Metab.* 2011;96(10):2987-2996.
9. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM. 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(1):53-58.
10. Araki T, Holick MF, Alfonso BD, Charlap E, Romero CM, Rizk D, Newman LG. Vitamin D Intoxication with Severe Hypercalcemia due to Manufacturing and Labeling Errors of Two Dietary Supplements Made in the United States. *J Clin Endocrinol Metab*, December 2011, 96(12):3603–3608.
11. Holick MF, Matsuoka LY, Wortsman J. Age, Vitamin D and Solar Ultraviolet. *The Lancet* 1989; 8671(334):1104-1105.
12. Lai JKC, Lucas RM, Banks E, Ponsonby AL. Variability in vitamin D assays impairs clinical assessment of vitamin D status. *Internal Medicine Journal*. 2012; 1(42):43-50.
13. Ouwehand JMV, Beijers AM, Daal H. Fast Separation of 25-Hydroxyvitamin D3 from 3-epi-25-Hydroxyvitamin D3 in Human Serum by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry: Variable Prevalence of 3-Epi-25-Hydroxyvitamin D3, in Infants, Children, and Adults. *Clinical Chemistry*. 2011; 57:11.
14. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH and Weaver CM. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*, July 2011, 96(7):1911–1930.
15. Van den Ouwehand JMW, Beijers AM, Demacker PNM, Van Daal H. Measurement of 25-OH-vitamin D in human serum using liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*. 2010; 878:1163–1168.
16. Netzel C, Cradic W, Bro T, Girtman B, Cyr R. Increases Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Throughput by Mass Tagging: A Sample-Multiplexed High-Throughput Assay for 25-Hydroxyvitamin D2 and D3. *Clinical Chemistry*. 2011;57: 3(431-440).
17. Kimball SM, Vieth R. A Comparison of Automated Methods for the Quantitation of Serum 25-Hydroxyvitamin D and 1,25-Dihydroxyvitamin D. *Clinical Biochemistry*. 2007;40:1305–1310.
18. Stepman H, Vanderroost A, Van Uytfanghe K, Thienpont L. Candidate Reference Measurement Procedures for Serum 25-Hydroxyvitamin D3 and 25-Hydroxyvitamin D2 by Using Isotope-Dilution Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Clinical Chemistry*. 2011;57:3 (441-448).
19. El-Khoury J, Reineks E, Wang S. Progress of liquid chromatography-mass spectrometry in measurement of vitamin D metabolites and analogues. *Clinical Biochemistry*. 2011; 44: 66-76.
20. Wagner D, Hanwell EC, Vieth R. An Evaluation of automated methods for measurement of serum 25-hydroxyvitamin D. *Clinical Biochemistry*. 2009;42: 1549–1556.
21. Terry AH, Sandrock T, Meikle AW. Measurent of 25-Hydroxivitamin D by the Nichols Advantage, DiaSorin Liaison, Diasorin RIA, and Liquid Chromatography- Tandem Mass Spectrometry. *Clinical Chemistry*. 2005; 51:1565-1566.
22. Ersfeld DL, Rao DS, Body JJ, Sackrison JL, Millar AB, Parikh N, Eskridge TL, Polinske A, Olson GT, MacFarlane GD. Analytical and clinical validation of the 25 OH vitamin D assay for the Liaison automated analyzer. *Clinical Biochemistry*. 2004; 37: 867– 874.
23. Schleicher RL, Eisman J, Bouillon R, Singh RJ, Hokick MF. Clinical Applications for Vitamina D Assays: What Is Known and What Is Wished for. *Clinical Chemistry*. 2011;57:9:1227-1232.
24. Wielders JP, Wijnberg FA. Preanalytical Stability of 25(OH)-Vitamin D3 in human blood or serum at

- room temperature: Solid as rock. *Clinical Chemistry*. 2009; 55(8): 1584-1595.
25. Steingrimsdottir L. Relationship Between Serum Parathyroid Hormone Levels, vitamin D Sufficiency and Calcium Intake. *Jama* 2005; 294:2336-2341.
26. Engelman CD. Vitamin D Recommendations: The Saga Continues. *J Clin Endocrinol Metab*, October 2011, 96(10):3065-3066.
27. Bevilacqua M, Invernizzi M, Righini V, Carda S, Cisari C. Different vitamin D substrate–product relationship after oral vitamin D supplementation in familial benign hypercalcemia, primary hyperparathyroidism, and healthy controls. *European Journal of Endocrinology*. 2011;164: 833–838.
28. 13-3.- Holick MF. Vitamin D deficiency. *New England Journal of Medicine*. 2007; 357:266-281.
29. 13-4.- Holick MF. Vitamin D: a D-lightful health perspective. *Nutr Rev*. 2008; 66 (10 Suppl 2):S182-S194.
30. 13-5.- Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr*. 2008; 87:1080S– 1086S.
31. Cavalier E, Carlisi A, Bekaert AC, Rousselle O, Chapelle JP. Human anti-animal interference in DiaSorin Liaison total 25(OH)-vitamin D assay: Towards the end of a strange story?. *Clinica Chimica Acta*. 2012;413:527–528.
32. Holmes EW, Garbincius J, McKenna KM. Non-linear Analytical Recovery in the DiaSorin Liaison ImmunoAssay for 25-hydroxy Vitamin D. *Clinica Chimica Acta*. 2011;412: 2355–2356.
33. Miller VG, Jones G RD, Horowitz GL, Wwykamp C. Proficiency Testing/External Quality Assessment: Current Challenges and Future Directions. *Clinical Chemistry*. 2011;57(12):1670-1680.
34. Holick MF, Biancuzzo RM, Chen TC, Klein EK, Young A, Bibuld D, Reitz R, Salameh W, Ameri A, and Tannenbaum AD. Vitamin D2 Is as Effective as Vitamin D3 in Maintaining Circulating Concentrations of 25-Hydroxyvitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*, March 2008, 93(3):677–681.
35. Holick MF. The D-lemma: To Screen or Not to Screen for 25-Hydroxyvitamin D Concentrations. *Clinical Chemistry* 2010; 56 (5): 729-731.