



UNIVERSIDAD DE GRANADA

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA CLÍNICA
Y SALUD PÚBLICA**

DEPARTAMENTO DE MEDICINA
FACULTAD DE MEDICINA

TESIS DOCTORAL

**VITAMINA D Y RESISTENCIA A LA INSULINA EN
MUJERES CON OSTEOPOROSIS
POSMENOPÁUSICA**

Verónica Ávila Rubio

Granada, 2018

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: Verónica Ávila Rubio
ISBN: 978-84-9163-988-6
URI: <http://hdl.handle.net/10481/53586>

El trabajo de investigación que se expone en esta Memoria Doctoral ha sido realizado en la Unidad de Endocrinología y Nutrición del Hospital Universitario San Cecilio de Granada, bajo la dirección del Prof. D. Manuel E. Muñoz Torres.

Este trabajo ha sido financiado por el Fondo de Investigación Sanitaria (PI12/02141).

*“Caminante, son tus huellas
el camino y nada más;
Caminante, no hay camino,
se hace camino al andar.”*

Antonio Machado.

A mis padres y hermanas

A José Luis que camina a mi lado día a día

A mis abuelos que llevo siempre en el corazón

AGRADECIMIENTOS

Mis agradecimientos a todas las personas que me han acompañado y apoyado en este largo y tortuoso camino. A todas las que, de alguna manera, me han hecho seguir adelante, levantarme tras tropezar y continuar hasta alcanzar la meta. Por todas ellas, a día de hoy, me dispongo a presentar y defender con orgullo mi Tesis Doctoral.

En primer lugar, me gustaría agradecer a mi director de tesis, el Dr. Manuel Muñoz Torres, por abrirme el camino hacia el mundo de la investigación y también por su nivel de exigencia que, sin duda, ha potenciado mi afán de superación.

A la Dra. Beatriz García Fontana, responsable en gran parte de que esta Tesis Doctoral pueda ver la luz, y a la futura Dra. Cristina Novo Rodríguez, que tomó el relevo cuando me tuve que marchar. Bea y Cristina, compañeras de viaje, de lágrimas y de risas, gracias por estar ahí siempre.

A la Dra. Sonia Morales Santana, con quien también di mis primeros pasos.

Agradecer el apoyo desinteresado de Dña. Trinidad Guardia Archilla, Trini, la enfermera todoterreno y de gran corazón siempre dispuesta a colaborar con agrado y prestar su experiencia y sabiduría. Y, cómo no, al Dr. Jesús Cantero Hinojosa, que puso el primer rayo de luz cuando ya lo daba todo por perdido. Gracias.

A Ana Martín, técnico del Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada y de la Unidad de Apoyo a la Investigación del Hospital, por su indispensable colaboración.

A las compañeras que anduvieron el camino antes que yo y cuya trayectoria me ha servido de inspiración, las doctoras Rebeca Reyes García y Toñi García Martín.

A mis compañeros de trabajo, por darme ánimos día a día, especialmente a Luisa.

A esas otras “doctoras”, mis doctoras, Cristina, Laura, Loli, Lorena y Natalia, amigas incondicionales desde nuestros primeros pasos en la Medicina y que me acompañan siempre a pesar del tiempo y la distancia.

Un inmenso agradecimiento a la persona que camina a mi lado día a día desde hace casi 16 años, José Luis, sobran las palabras.

Finalmente quiero dedicar estas últimas líneas a mi familia. A mis hermanas, Fabiola y Anabel, porque siempre habéis creído en mí, y a mis padres, a quienes les debo todo lo que soy. Gracias.

CONTENIDO

CONTENIDO

ABREVIATURAS.....	I
ÍNDICE DE FIGURAS	IV
ÍNDICE DE TABLAS.....	VI
1. INTRODUCCIÓN: PUESTA AL DÍA EN VITAMINA D	1
1.1. Metabolismo de la Vitamina D	3
1.2. Acciones genómicas y no genómicas	6
1.2.1. Acciones genómicas	7
1.2.2. Acciones no genómicas	9
1.3. Efectos esqueléticos de la Vitamina D	10
1.3.1. Intestino.....	11
1.3.2. Hueso	11
1.3.3. Glándula paratiroides	15
1.3.4. Riñón.....	16
1.4. Efectos extraesqueléticos de la Vitamina D	16
1.4.1. Vitamina D y diabetes mellitus tipo 1	20
1.4.2. Vitamina D y diabetes mellitus tipo 2.....	23
1.4.3. Vitamina D y obesidad.....	27
1.4.4. Vitamina D, homeostasis de la glucosa y riesgo cardiovascular	29
1.5. Definición de los niveles óptimos de Vitamina D.....	35
1.6. Prevalencia de deficiencia/insuficiencia de Vitamina D en España.....	38
1.7. Causas del déficit/insuficiencia de Vitamina D y cribado	39
1.8. Recomendaciones de ingesta de Vitamina D	41
1.9. Tratamiento con suplementos de Vitamina D	41
1.10. Vitamina D y osteoporosis posmenopáusica	43
1.10.1. Papel de la Vitamina D en el tratamiento de la osteoporosis posmenopáusica.....	44
1.10.2. Osteoporosis posmenopáusica y enfermedad cardiovascular	45
2. JUSTIFICACIÓN	47
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	51
4. PACIENTES Y MÉTODOS.....	55
4.1. Pacientes.....	57
4.2. Métodos.....	59

4.2.1. Diseño del estudio	59
4.2.2. Variables del estudio.....	60
4.3. Análisis estadístico.....	66
5. RESULTADOS	69
5.1. Estudio descriptivo: Características de la población de estudio	71
5.2. Estudio de asociación lineal.....	75
5.2.1. Relación entre las concentraciones séricas de 25OHD y el metabolismo de la glucosa	75
5.2.1.1. Asociación entre 25OHD y HOMA2-IR	76
5.2.1.2. Asociación entre 25OHD y HOMA2-%S.....	77
5.2.1.3. Asociación entre 25OHD y HOMA2-%B	77
5.2.1.4. Asociación entre 25OHD e insulinemia	78
5.2.2. Relación entre las concentraciones séricas de 25OHD y la composición corporal	79
5.3. Análisis de regresión lineal múltiple	80
5.4. Análisis por subgrupos según concentraciones séricas de 25OHD	82
5.4.1. Análisis según estatus de 25OHD insuficiente/suficiente	82
5.4.2. Análisis según percentiles de 25OHD	83
5.5. Relación entre 25OHD, homeostasis de la glucosa y riesgo de fractura.....	87
6. DISCUSIÓN	91
6.1. Discusión general.....	93
6.2. Fortalezas y limitaciones del estudio	102
7. CONCLUSIONES	105
BIBLIOGRAFÍA.....	110
RESUMEN	129
PRODUCCIÓN CIENTÍFICA	135
ANEXO: Higher Levels of Serum 25-Hydroxyvitamin D Are Related to Improved Glucose Homeostasis in Women with Postmenopausal Osteoporosis	146

ABREVIATURAS

AACE	American Association of Clinical Endocrinologists
Abs.	Valor absoluto
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AKT	Proteína quinasa B
APO	Apolipoproteína
BIA	Análisis bioeléctrico de impedancia
CaBP	Proteína de unión al calcio
CaSR	Receptor sensible al calcio
CF	Cuello femoral
CKD-EPI	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
CL	Columna lumbar
CLIA	ChemiLuminescent Immuno Assay
COX-2	Ciclooxigenasa 2
CT	Cadera total
CTX	Telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo 1
C β	Célula beta
DBP	Proteína de unión a la vitamina D (Vitamin D binding protein)
DE	Desviación estándar
DM	Diabetes mellitus
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DMO	Densidad mineral ósea
DXA	Absorciometría dual por rayos X
ECA	Ensayo clínico aleatorizado
ECV	Enfermedad(es) cardiovascular(es)
EGIR	European Group for the Study of Insulin Resistance
ELISA	Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas
FA	Fosfatasa alcalina
FG	Filtrado glomerular
FRCV	Factores de riesgo cardiovascular
FGF-R	Receptor para el FGF-23
FGF-23	Factor de crecimiento de fibroblastos 23
FOXO1	Forkhead Box O1
GB	Glucemia basal
GBA	Glucemia basal alterada
GH	Hormona de crecimiento
HA	Hidroxiapatita

HbA1c	Hemoglobina glicosilada
HDL	High density lipoprotein (Lipoproteínas de alta densidad)
HOMA	Homeostasis model assessment
HOMA2-IR	Índice de insulinoresistencia
HOMA2-%B	Índice de β -secreción
HOMA2-%S	Índice de insulinosensibilidad
HPLC	High performance liquid chromatography (cromatografía líquida de alta eficacia)
HR	Hazard ratio
HTA	Hipertensión arterial
IC	Intervalo de confianza
IDF	International Diabetes Federation
IGF-1	Factor de crecimiento insulínico tipo 1
IMC	Índice de masa corporal
InsR	Receptor de insulina
IOF	Fundación Internacional de Osteoporosis
IOM	Instituto de Medicina de los EEUU
ITG	Intolerancia a la glucosa
IU	International unit
LADA	Diabetes autoinmune latente del adulto
LDL	Low density lipoprotein (Lipoproteínas de baja densidad)
Max.	Valor máximo
MHO	Metabolically healthy obesity (Obesidad metabólicamente sana)
Min.	Valor mínimo
MRO	Marcador de remodelado óseo
NCEP/ATP	National Cholesterol Education Program/Adult Treatment Program
NCX1	Sodium-calcium exchanger tipo 1
NHANES III	Third National Health and Nutrition Examination Survey
NOD	Diabéticos no obesos
NPT2	Proteína cotransportadora de sodio-fosfato tipo 2
OC	Osteocalcina
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPG	Osteoprotegerina
OPPM	Osteoporosis posmenopáusica
OTP-PTP	Proteína tirosina fosfatasa osteotesticular
PI3K	Fosfatidilinositol-3-quinasa
PMG	Porcentaje de masa grasa
PPAR	Peroxisome proliferator-activated receptor
PTH	Parathormona

PTHi	Hormona paratiroidea intacta
P1NP	Propéptido aminoterminal del colágeno tipo 1
RANK	Receptor activador del factor nuclear kappa B
RANKL	Ligando del receptor activador del factor nuclear kappa B
RAPA	Rapid Assessment of Physical Activity (Cuestionario de evaluación rápida de la actividad física)
RIA	Radioinmunoanálisis
RNA	Ácido ribonucleico
RXR	Receptor X del ácido retinoico o Receptor retinoide X
SEEN	Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición
SEIOMM	Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral
SM	Síndrome metabólico
TAD	Tensión arterial diastólica
TAS	Tensión arterial sistólica
TMB	Tasa metabólica basal
TNF	Factor de necrosis tumoral
TRPV5	Transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 5
TRPV6	Transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 6
TSH	Hormona estimulante del tiroides
ucOC	Osteocalcina infracarboxilada
UGC	Unidad de Gestión Clínica
UI	Unidades internacionales
UVB	Ultravioleta B
VDR	Receptor de la 1,25-dihidroxitamina D3 (1,25OH ₂ D ₃)
VDRE	Elemento de respuesta a vitamina D
VDR-RXR	Receptor de la 1,25-dihidroxitamina D3 - Receptor X del ácido retinoico
1,25OH ₂ D ₃	1,25-hidroxitamina D3 o calcitriol
1 α OH	1 α -hidroxilasa
1 α OHD ₃	Alfacalcidiol
15-PGDH	15-hidroxi prostaglandina deshidrogenasa
24-OH	24-hidroxilasa
25OHD	25-hidroxitamina D, calcidiol o calcifediol

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Síntesis y metabolismo de la vitamina D	5
Figura 2. Principales mecanismos involucrados en las acciones genómicas y no genómicas de la 1,25OH ₂ D ₃	6
Figura 3. Mecanismo de acción molecular de la vitamina D	8
Figura 4. Síntesis y metabolismo de la vitamina D en la regulación del metabolismo del calcio, fósforo y hueso.....	10
Figura 5. Efectos de la vitamina D sobre el sistema óseo.....	12
Figura 6. Síntesis y carboxilación de osteocalcina	13
Figura 7. Regulación de la activación de osteocalcina y señalización del receptor de insulina en los osteoblastos	13
Figura 8. Representación esquemática de la relación entre metabolismo óseo y metabolismo energético.....	15
Figura 9. Metabolismo de la vitamina D y efectos extraesqueléticos.....	17
Figura 10. Efectos de la vitamina D sobre la inmunidad innata y adquirida	18
Figura 11. Principales causas de déficit de vitamina D y potenciales consecuencias sobre el estado de salud	20
Figura 12. Tasa de incidencia de DM1 por latitud en 51 regiones del mundo	22
Figura 13. Factores que pueden distinguir a individuos obesos metabólicamente sanos de sujetos obesos con disfunción metabólica	28
Figura 14. Evolución fisiopatológica desde la resistencia a la insulina hasta el SM y la DM2.....	32
Figura 15. Resistencia a la insulina y su asociación con los FRCV	33
Figura 16. Componentes del SM, relaciones complejas entre ellos y áreas que pueden verse afectadas por la hipovitaminosis D	33
Figura 17. Escala de clasificación visual de Genant	65
Figura 18. Asociación lineal entre 25OHD y HOMA2-IR.....	76
Figura 19. Asociación lineal entre 25OHD y HOMA2-%S.....	77
Figura 20. Asociación lineal entre 25OHD y HOMA2-%B.....	78
Figura 21. Asociación lineal entre 25OHD e insulinemia	79
Figura 22.A. Diagrama de cajas: HOMA2-IR en función del p75 de 25OHD	84
Figura 22.B. Diagrama de cajas: HOMA2-%S en función del p75 de 25OHD.....	85
Figura 22.C. Diagrama de cajas: HOMA2-%B en función del p75 de 25OHD	85
Figura 22.D. Diagrama de cajas: Insulinemia en función del p75 de 25OHD	86
Figura 23. Asociación entre HbA1c e Índice FRAX para fractura osteoporótica principal.	88

Figura 24. Esquema del posible mecanismo de aumento de la resistencia a la insulina en el músculo esquelético por ausencia o déficit de señalización Vitamina D/VDR.....	95
Figura 25. Esquema representativo de las relaciones complejas entre vitamina D, síndrome metabólico, homeostasis de la glucosa y resistencia a la insulina, enfermedad cardiovascular y fragilidad ósea.....	102

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Contenido de Vitamina D en los diferentes grupos de alimentos.....	4
Tabla 2. Órganos y tejidos en los que se expresa el receptor VDR.....	7
Tabla 3. Posibles mecanismos de acción y beneficios de la vitamina D en la fisiopatología de la DM2	24
Tabla 4. Criterios para el diagnóstico clínica del Síndrome Metabólico según diferentes organizaciones.....	30
Tabla 5. Concentraciones séricas de 25OHD y significación.....	36
Tabla 6. Mecanismos patogénicos implicados y causas de situaciones de carencia de vitamina D.....	39
Tabla 7. Indicaciones de cribado del déficit de vitamina D	40
Tabla 8. Criterios diagnósticos de osteoporosis de la OMS	43
Tabla 9. Estudio descriptivo: Datos demográficos y características clínicas	71
Tabla 10. Estudio descriptivo: Metabolismo mineral y fragilidad ósea.....	73
Tabla 11. Estudio descriptivo: Clasificación de las participantes según las concentraciones séricas de 25OHD.....	74
Tabla 12. Estudio descriptivo: Percentiles de 25OHD	74
Tabla 13. Resumen del modelo de Análisis de Regresión Lineal Univariante	75
Tabla 14. Resumen del estudio de correlación entre 25OHD y composición corporal.....	80
Tabla 15. Resumen del modelo de Análisis de Regresión Lineal Múltiple	81
Tabla 16. Análisis comparativo según estatus de 25OHD insuficiente/suficiente	82
Tabla 17. Análisis comparativo según p50 y p75 de 25OHD.....	83
Tabla 18. Resumen del estudio de correlación de las concentraciones de 25OHD y los parámetros del metabolismo de la glucosa con el índice FRAX.....	87
Tabla 19. Resumen del modelo de Análisis de Regresión Lineal Múltiple para el Índice FRAX.....	89

1. INTRODUCCIÓN

PUESTA AL DÍA EN VITAMINA D

Las vitaminas son sustancias esenciales que el organismo no puede sintetizar en concentraciones suficientes y que, por lo tanto, han de ser obtenidas a través de la ingesta. En este sentido, la vitamina D estaría mejor definida como una prohormona ya que en mayor proporción se produce en la epidermis tras la exposición a la luz solar y, posteriormente, sucesivos procesos de hidroxilación generan sus metabolitos activos. Así, para mantener niveles adecuados, un individuo sano con una exposición solar suficiente no necesitaría ingerir alimentos con vitamina D (1).

La acción más importante y estudiada de la vitamina D se relaciona con el metabolismo mineral óseo (2). Sin embargo, en los últimos años se ha producido un creciente interés por sus efectos extraesqueléticos, cada vez más conocidos. Diversas enfermedades como el cáncer, la esclerosis múltiple, la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), la enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedades autoinmunes, la hipertensión arterial (HTA) y diversas enfermedades cardiovasculares (ECV) podrían relacionarse con concentraciones séricas bajas de 25-hidroxivitamina D (25OHD) (1,3,4). Asimismo, se ha observado una alta prevalencia de deficiencia o insuficiencia de 25OHD en distintas poblaciones, tanto sanas como enfermas (5).

1.1. Metabolismo de la Vitamina D

El término vitamina D engloba distintas moléculas que difieren principalmente en su grado y lugar de hidroxilación, distinguiéndose la vitamina D₂ o ergosterol, la vitamina D₃ o colecalciferol, la 25-hidroxivitamina D o calcidiol (25OHD) y la 1,25-hidroxivitamina D₃ o calcitriol (1,25OH₂D₃). En los seres humanos, las principales fuentes de vitamina D provienen de la síntesis cutánea de vitamina D₃ (6) y, en menor proporción, de la ingesta de alimentos ricos en vitaminas D₂ y D₃ (2). El pescado azul es uno de los pocos alimentos que contienen vitamina D de forma natural (Tabla 1).

Tabla 1. Contenido de Vitamina D en los diferentes grupos de alimentos. Modificado de Valero y Hawkins (2007) (7).

Grupo de alimentos	Cantidad de Vitamina D*
Lácteos	
Leche entera	0.1
Leche semidesnatada	0.02
Helados	0.1
Nata	0.28
Queso fresco	0
Queso curado	0.9
Yogur	0.04
Yogur desnatado	0.01
Carne	
Cerdo, cordero y ternera	Trazas
Conejo y pollo	Trazas
Embutido	Trazas
Pescado	
Atún	25
Boquerones	7
Salmón	8
Sardina	7.9
Bacalao, besugo, lenguado, merluza, pescadilla, trucha	Trazas
Conservas de pescado	20-25

Huevos	1.75
Cereales	
Cereales del desayuno	0
Pasta italiana	0
Legumbres	0
Arroz	0
Fruta y Verdura	0
Aceites	
Aceite de hígado de bacalao	210
Aceites vegetales	0
Mantequilla	0
Margarina	7.94
Mayonesa	0.33
Repostería	2-2.8

*Cantidad de Vitamina D en μg por 100 g de porción comestible. $1\mu\text{g} = 40 \text{ UI}$.

Tanto la vitamina D₂ como la D₃ requieren de su posterior hidroxilación para convertirse en 1,25OH₂D₃, que es el metabolito responsable de la mayoría de las funciones de la vitamina D. En primer lugar, se requiere una hidroxilación a nivel hepático en posición C-25 para obtener la 25OHD. Posteriormente, tras la acción de la 1 α -hidroxilasa (1 α OH) renal se obtendrá la 1,25OH₂D₃. Esta vía metabólica de formación del complejo activo de la vitamina D está regulada a múltiples niveles para mantener concentraciones de vitamina D adecuadas y evitar su toxicidad (2).

Durante la exposición a la luz ultravioleta B (UVB), los fotones son absorbidos por el 7-dehidrocolesterol presente en la membrana de las células de la

epidermis y la dermis. La absorción de la radiación UVB abre el anillo B del 7-dehidrocolesterol, transformándose en pre-vitamina D3. Esta sustancia es inestable e inmediatamente se convierte en vitamina D3 (Figura 1) (7,8).

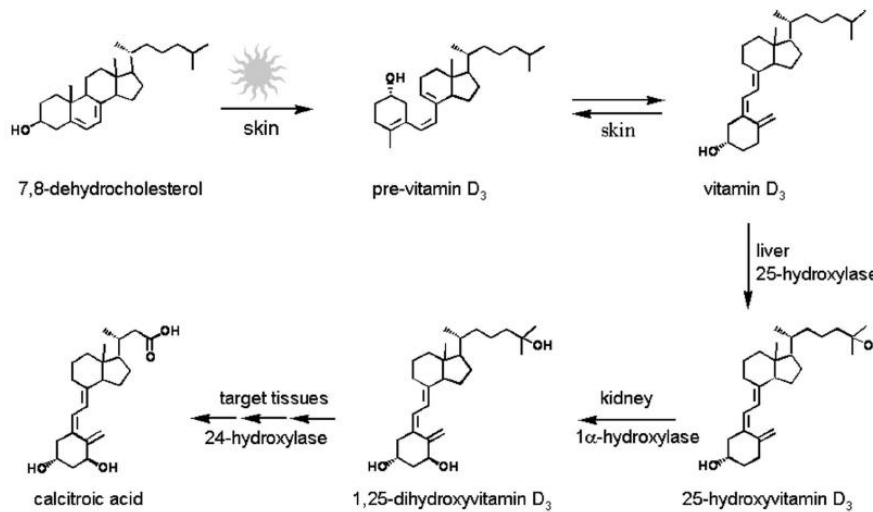


Fig. 1. Síntesis y metabolismo de la vitamina D (Dusso, Brown y Slatopolsky, 2005) (8).

La exposición excesiva a la luz del sol degrada la pre-vitamina D3 y la vitamina D3 en fotoquímicos inactivos, por este motivo la exposición solar no provoca intoxicación por vitamina D3. A medida que la vitamina D3 se sintetiza, se libera al espacio extracelular y penetra en el lecho vascular de la dermis.

Además de la síntesis cutánea, las vitaminas D2 y D3 procedentes de fuentes dietéticas son incorporadas a los quilomicrones y transportadas por el sistema linfático en la circulación venosa.

Tanto la vitamina D3 sintetizada en la piel como las vitaminas D2 y D3 ingeridas en la dieta, pueden almacenarse en el tejido adiposo (si no hay deficiencia) y posteriormente ser liberadas a la circulación. Las vitaminas D2 y D3 en la circulación se unen a su proteína transportadora (DBP, *vitamin D binding protein*), que las lleva hasta el hígado, donde a través de la 25-hidroxilasa se transforman 25OHD. La 25OHD formada pasa a la sangre y circula unida a la DBP. Esta es la principal forma de vitamina D que circula en mayor cantidad y la empleada para determinar el nivel o estatus de vitamina D (5).

La 25OHD sufre una segunda hidroxilación mediante la 1α OH renal, dando lugar a la forma biológicamente más activa $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$. El calcio y fósforo séricos, el factor de crecimiento de fibroblastos 23 (FGF-23), y otros factores pueden aumentar o disminuir la producción renal de $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$. Además, la $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ puede inhibir su propia síntesis por retroalimentación negativa, así como la síntesis y secreción de parathormona (PTH) por las glándulas paratiroides. La $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ aumenta la expresión de 24-hidroxilasa (24-OH), la cual cataboliza la $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ a ácido calcitrico que es biológicamente inactivo, soluble en agua y se excreta en la bilis.

1.2. Acciones genómicas y no genómicas de la Vitamina D

La $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ actúa como un mensajero químico y puede inducir respuestas a nivel genómico (regulando la transcripción de genes) y no genómico (9) (Figura 2), a través de su receptor VDR, localizado en más de 30 tejidos (Tabla 2) (10,11).

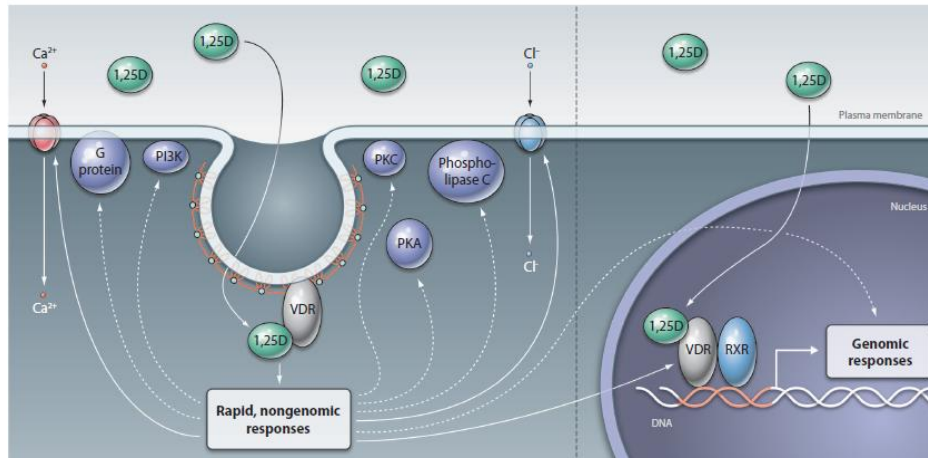


Fig. 2. Principales mecanismos involucrados en las acciones genómicas y no genómicas de la $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ (Mizwicki y Norman, 2009) (9). Este modelo esquemático muestra cómo la $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ puede interactuar con el receptor VDR localizado en el núcleo para generar respuestas genómicas a través de la regulación de la transcripción génica; o puede también unirse a los VDR asociados a caveolas (invaginaciones de la membrana ricas en lípidos) de la membrana plasmática para generar respuestas no genómicas, mediadas por

segundos mensajeros que inducen respuestas rápidas, o a través de la apertura de canales de calcio o cloro dependientes de voltaje. Estas acciones no genómicas pueden ser tan rápidas que se desencadenan en segundos, como el caso de la apertura de canales iónicos, o en 10-60 minutos, como en el caso de la formación de segundos mensajeros. En contraste, las acciones genómicas pueden tardar entre horas y días para manifestarse completamente, debido al proceso que implica la regulación de la transcripción.

Tabla 2. Órganos y tejidos en los que se expresa el receptor VDR. Adaptado de Verhave y Siegert (2010) (11).

Sistema/Aparato	Tejido
Endocrino	Glándulas paratiroides, células beta pancreáticas, células C tiroideas
Cardiovascular	Células musculares lisas arteriales, cardiomiocitos
Musculoesquelético	Osteoblastos, condrocitos, músculo estriado
Gastrointestinal	Esófago, estómago, intestino
Hepático	Hepatocitos
Renal	Túbulos, aparato yuxtaglomerular, podocitos
Reproductor	Testículos, ovarios, útero
Inmune	Linfocitos T y B, médula ósea, timo
Respiratorio	Alveolos pulmonares
Epidermis	Queratinocitos, folículos pilosos
Sistema nervioso central	Neuronas

1.2.1. Acciones genómicas:

El VDR pertenece a la superfamilia de receptores nucleares hormonales. Regula la transcripción génica por homodimerización y heterodimerización con el receptor retinoide X (RXR), receptor específico del ácido 9-cis-retinoico. Una vez dimerizado, el complejo VDR-RXR se une a las regiones promotoras de los genes diana o a otros lugares reguladores del genoma, para regular positiva o

negativamente la expresión génica (4,7) (Figura 3). El elemento de respuesta al que se une el dímero VDR-RXR se denomina elemento de respuesta a vitamina D (VDRE).

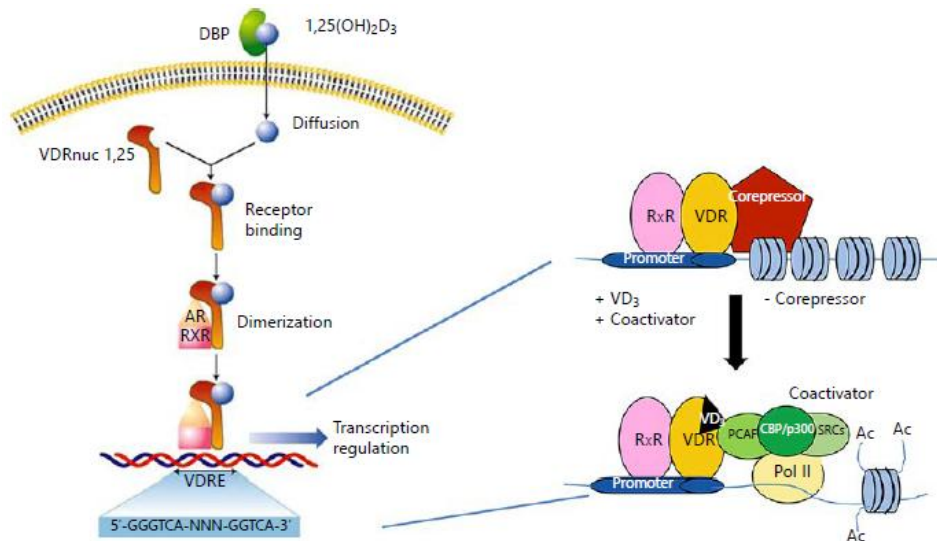


Fig. 3. Mecanismo de acción molecular de la vitamina D (Gil, Plaza-Díaz y Mesa, 2018) (4). DBP: Vitamin D binding protein; CBP/p300: CREB-binding protein binding protein p300; PCAF: P300/CBP-associated factor; SRC: Steroid receptor coactivators; VDRE: VDR element.

El papel del receptor VDR activado por su ligando es dirigir la maquinaria de la transcripción a lugares específicos del genoma, donde estos complejos pueden influir sobre la producción de RNA que codifica para proteínas con gran importancia biológica. De esta manera, la $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ juega un papel central en la regulación del metabolismo mineral óseo, por su acción sobre las células epiteliales intestinales, las células renales, los osteoblastos y los osteoclastos. Dentro de los principales genes diana que se han caracterizado en estos tejidos, se incluyen transportadores de calcio y fosfato, bombas iónicas en intestino y riñón, y el factor de diferenciación osteoclastogénica sintetizado por los osteoblastos, que estimula la actividad de los osteoclastos y la formación de nuevo tejido óseo. Además, la $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ suprime la expresión renal del gen de la $1\alpha\text{OH}$, cuyo producto proteico

es responsable de su síntesis, e induce la expresión de 24-OH, cuyo producto es responsable de la degradación de la $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ a ácido calcitrico (12).

La $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ también regula múltiples genes implicados en funciones clave de las células del sistema inmune innato y adaptativo, la degradación de compuestos xenobióticos, la diferenciación de los queratinocitos de la piel, el desarrollo de los folículos pilosos, la integridad de las barreras celulares, la función de la célula beta ($\text{C}\beta$) pancreática, los adipocitos, el control del ciclo celular, los cardiomiocitos y las células del músculo liso vascular, entre otros (4,12,13). Se cree que la $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ participa en la regulación de aproximadamente el 3% de todos los genes conocidos hasta el momento (9).

1.2.2. Acciones no genómicas:

La $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$, al igual que otras hormonas esteroideas, puede también inducir respuestas rápidas, que ocurren en un tiempo menor al correspondiente si se generasen cambios en la expresión génica. Esta rapidez en las respuestas indica que los efectos podrían estar mediados por receptores VDR localizados en la superficie celular, en lugar de receptores nucleares (10) (Figura 2).

El papel de las acciones no genómicas en la mayoría de las células no es del todo conocido (9). Las múltiples respuestas rápidas de la $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ se traducen en diversos efectos fisiológicos dentro de los que cabe citar la absorción intestinal rápida de calcio, la secreción de insulina por las $\text{C}\beta$ pancreáticas inducida por VDR, la apertura de canales de calcio y cloro dependientes de voltaje en los osteoclastos, y la migración rápida de células endoteliales, entre otros muchos efectos (14).

Así, mediante la inducción de segundos mensajeros o la apertura de canales iónicos, la $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ logra tener efectos en múltiples tipos celulares y se explica la diversidad de funciones de esta hormona (4,9,15).

1.3. Efectos esqueléticos de la Vitamina D

La $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ es un componente esencial de las interacciones entre riñón, hueso, glándula paratiroides e intestino, que mantiene la concentración de calcio intracelular y extracelular en rango fisiológico. Para ello (2) (Figura 4):

1. Estimula la resorción ósea;
2. Induce el paso de *stem cell* a osteoclastos maduros;
3. Aumenta la absorción intestinal de calcio;
4. Aumenta la síntesis de proteína transportadora de calcio intestinal;
5. Aumenta la absorción intestinal de fósforo; y
6. Aumenta la reabsorción renal de calcio y fósforo.

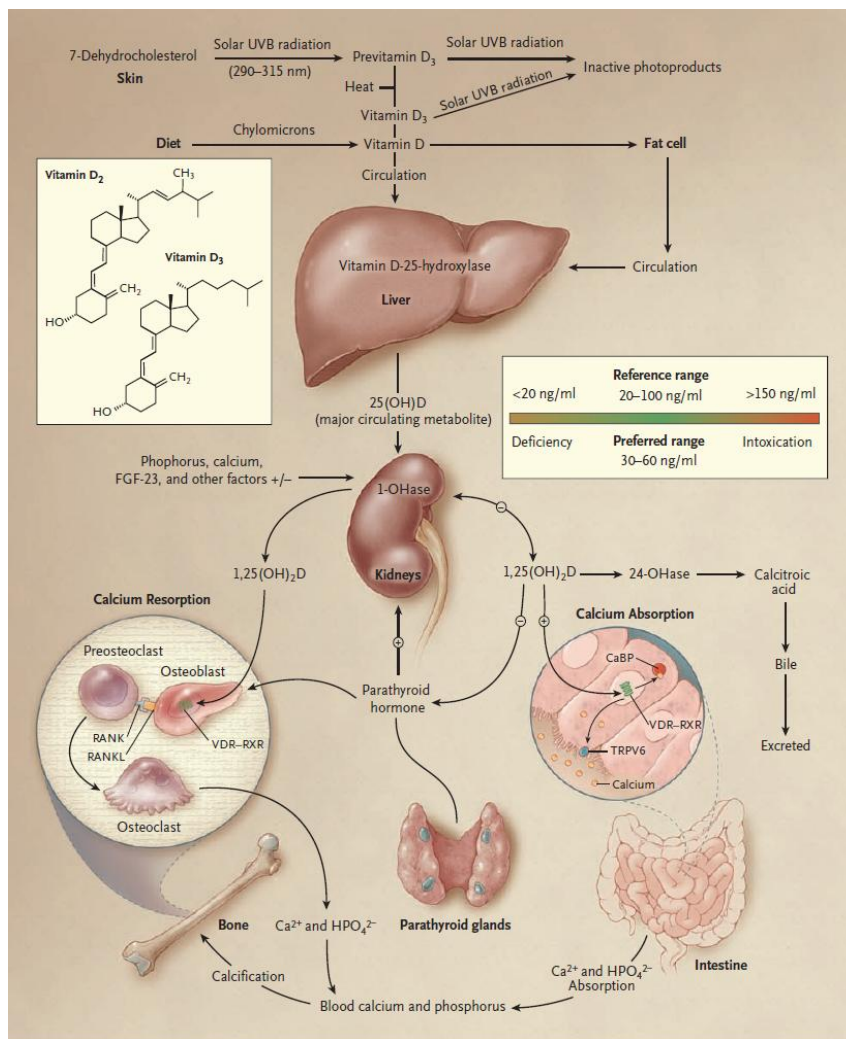


Fig. 4. Síntesis y metabolismo de la vitamina D en la regulación del metabolismo del calcio, fósforo y hueso (Holick, 2007) (2).

1.3.1. Intestino:

La $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ aumenta la absorción de calcio y fósforo en el intestino delgado.

Induce la expresión de canales y transportadores que aumentan la captación del calcio por mecanismos de transporte activos, a través de canales epiteliales TRPV6 (*transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 6*) y en menor proporción TRPV5, proteínas transportadoras de calcio (CaBP) o calbindinas, y transportadores sodio-calcio (NCX1), entre otros. Los canales TRPV6 y TRPV5 también se expresan en células renales, inducidos por la $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ (8).

Adicionalmente, incrementa el transporte de fosfato mediante el estímulo de la expresión de la proteína cotransportadora de sodio-fosfato tipo 2 (NPT2), en la superficie luminal de los enterocitos de yeyuno e íleon, y cambios en la composición de la membrana plasmática del enterocito que incrementan la fluidez de la captación de fosfato (8).

El efecto de la vitamina D es tan fundamental en estos procesos que sin una adecuada cantidad de esta hormona solo se absorbe el 10-15% del calcio y el 60% del fósforo ingeridos en la dieta. La interacción de la $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ con el receptor VDR-RXR aumenta la eficiencia de la absorción intestinal de calcio en, aproximadamente, el 30-40% y la de fósforo en cerca del 80% (2).

1.3.2. Hueso:

La $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ interviene en múltiples procesos que van desde el desarrollo de la placa de crecimiento hasta el control de la homeostasis ósea, al regular el equilibrio entre la formación y la resorción ósea (Figura 5) (4,16).

Es esencial para el desarrollo y mantenimiento del esqueleto mineralizado. Su deficiencia produce raquitismo en niños y adolescentes, por defecto en la mineralización del hueso y del cartílago en la placa de crecimiento, y osteomalacia en

adultos, por defecto en la mineralización del osteoide orgánico en huesos que ya no están en crecimiento (2).

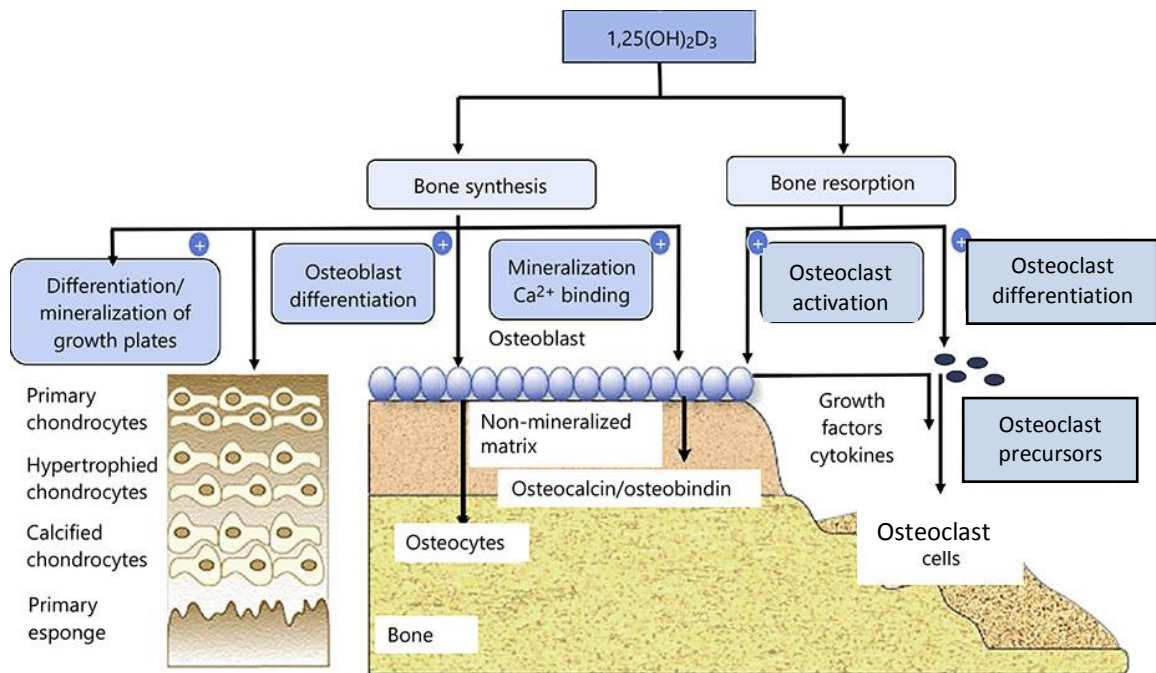


Fig. 5. Efectos de la vitamina D sobre el sistema óseo. Adaptado de Gil et al. (2018) (4).

Induce la diferenciación de los osteoblastos y la síntesis de diferentes proteínas de unión al calcio óseo, como la osteocalcina (OC), de la que se habla a continuación, y la osteopontina. Permite conservar las concentraciones séricas de calcio y fósforo en niveles suficientes para mantener la mineralización pasiva de la matriz ósea inicialmente no mineralizada, compuesta por colágeno y tejido osteoide sintetizados por los osteoblastos (4,16).

Por otra parte, cuando hay deficiencia de calcio sérico, induce la diferenciación y activación de los osteoclastos. La 1,25OH₂D₃ es reconocida por los receptores localizados en los osteoblastos, aumentando la expresión de la citoquina RANKL (ligando del receptor activador del factor nuclear kappa B). RANKL, al unirse a su receptor RANK (receptor activador del factor nuclear kappa B) localizado en los preosteoclastos, induce su maduración a osteoclastos. Además, reprime la expresión de osteoprotegerina (OPG), proteína que evita la unión del

RANKL a su receptor, para impedir interferencias en la osteoclastogénesis mediada por RANK (16,17) (Figuras 4 y 5). Los osteoclastos maduros inician el proceso de resorción ósea extrayendo calcio y fósforo del hueso hacia la circulación, manteniendo así los niveles de calcio y fósforo en sangre. Por su parte, la ingesta adecuada de calcio y fósforo promueve la mineralización del esqueleto (2,4).

La $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ interviene también en la regulación de la proliferación y apoptosis de otras células esqueléticas, incluyendo los condrocitos.

Osteocalcina: nexo entre metabolismo óseo y metabolismo energético

En los últimos años se ha producido un gran avance en el conocimiento de las acciones ejercidas por el hueso. Así, además de las acciones clásicas de soporte locomotor, protección de órganos y regulación de la homeostasis mineral, se ha caracterizado la relación entre las células óseas y el metabolismo energético.

Los estudios realizados en modelos animales han demostrado el papel de la OC en la regulación del metabolismo energético y de la glucosa (18,19). Se trata de una proteína no colágena producida por células de la estirpe osteoblástica y se relaciona con el proceso de mineralización ósea (20). Tras su síntesis, la mayor parte se incorpora a la matriz extracelular del hueso pero se liberan pequeñas cantidades a la circulación, por lo que se considera un marcador de formación ósea. Su modificación postraduccional mediante una gamma-carboxilación dependiente de vitamina K, le permite unirse fuertemente a los iones de calcio de la hidroxiapatita. Sin embargo, la fracción infracarboxilada (ucOC), con menos de 3 residuos carboxilados, tiene una menor afinidad por el hueso. Así, una mayor proporción de ucOC se encuentra en la circulación pudiendo actuar de forma directa sobre la $\text{C}\beta$ pancreática y el adipocito, incrementando la secreción de insulina, disminuyendo la glucosa plasmática, así como aumentando la sensibilidad a la insulina y el gasto energético (19,21–24) (Figura 6).

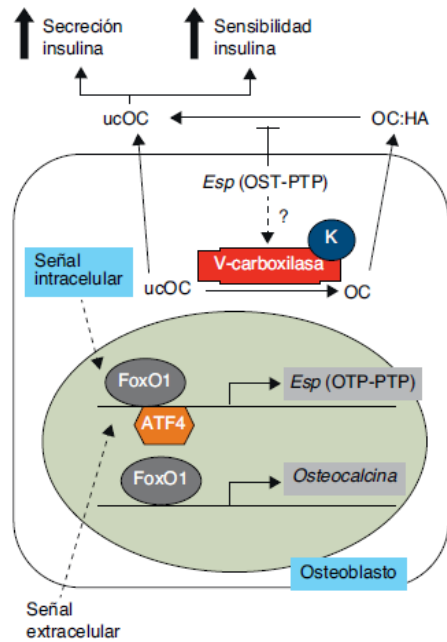


Fig. 6. Síntesis y carboxilación de la osteocalcina. Adaptado de Motyl, McCabe y Schwartz (2010) (23).

HA: Hidroxiapatita; K: Vitamina K; OC: Osteocalcina; OST-PTP: Proteína tirosina fosfatasa osteotesticular; ucOC: Osteocalcina infracarboxilada.

Pero el hueso no es solo un emisor de señales endocrinas, a su vez es receptor de estas señales. En los osteoblastos existen receptores para la insulina, cuya activación estimula la resorción ósea y, por tanto, la decarboxilación (o “activación”) de la OC que conlleva a un aumento de la secreción de ucOC (“metabólicamente activa”) (25,26) (Figura 7).

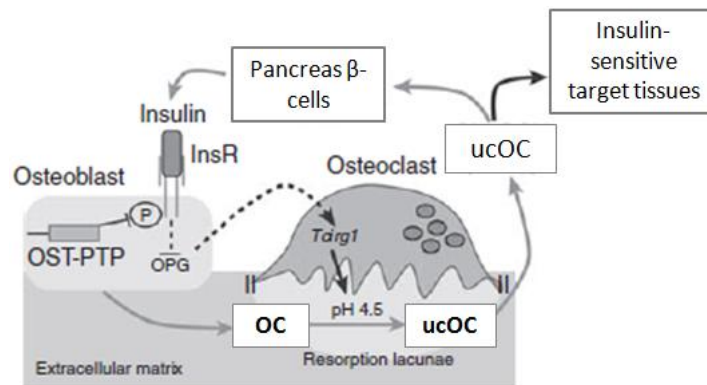


Fig. 7. Regulación de la activación de osteocalcina y señalización del receptor de insulina en los osteoblastos. Adaptado de Confavreux (2011) (26).

InsR: Receptor de insulina; OST-PTP: Proteína tirosina fosfatasa osteotesticular; OPG: Osteoprotegerina; OC: Osteocalcina (“inactiva”); ucOC: Osteocalcina infracarboxilada (“metabólicamente activa”).

De esta manera, se establece un sistema de retroalimentación positivo que, a su vez, estaría regulado de forma negativa por la activación del tono simpático mediada por la leptina secretada por los adipocitos (el tono simpático es un regulador negativo de la resorción ósea) (25,26) (Figura 8).

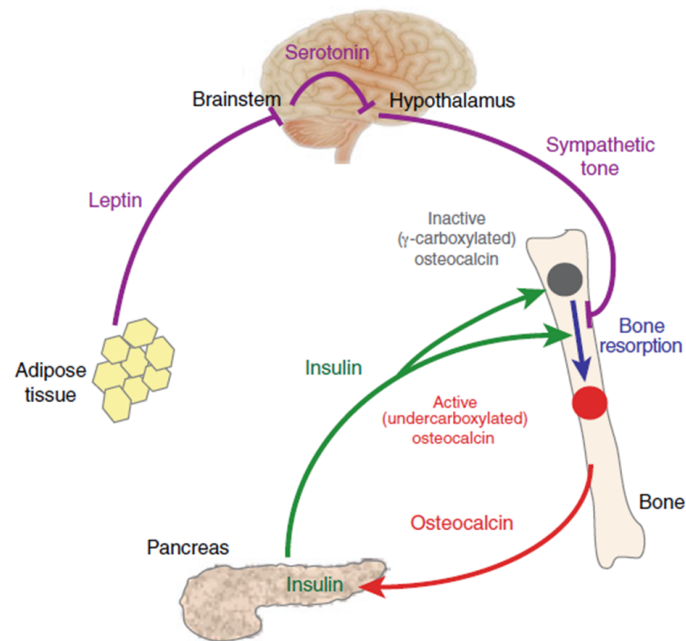


Fig. 8. Representación esquemática de la relación entre metabolismo óseo y metabolismo energético (Ducy, 2011) (25).

Estos hallazgos han dado lugar a un nuevo concepto del hueso como órgano endocrino mediante la secreción de OC. Sin embargo, los resultados procedentes de la investigación en humanos han sido muy variados y contradictorios (18,27,28), por lo que resulta controvertido establecer la relación de la OC, o su forma infracarboxilada, con el metabolismo energético y de la glucosa en humanos.

1.3.3. Glándula paratiroides:

La $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ ejerce un potente efecto modulador sobre la función de las glándulas paratiroides.

En las glándulas paratiroides existen 2 receptores clásicos conocidos a través de los que se modula tanto la síntesis y secreción de PTH como el tamaño glandular: el receptor VDR y el receptor sensible al calcio (CaSR). La $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ inhibe la síntesis de PTH, por represión de la transcripción del gen de la PTH, aumenta la expresión de VDR en las células paratiroides, así como la respuesta de estas al calcio sérico por inducción de la transcripción del CaSR, e inhibe el crecimiento glandular. Por este motivo, la vitamina D constituye un tratamiento efectivo para el hiperparatiroidismo secundario en la enfermedad renal crónica (10,16,17,29,30).

También se ha demostrado la presencia del receptor para el FGF-23 (FGF-R) y su correceptor, la proteína *Klotho*, que permite al FGF-23 ejercer una acción inhibitoria sobre la glándula paratiroides (29,30).

1.3.4. Riñón:

El efecto renal más importante de la vitamina D es la regulación de su propia homeostasis mediante la supresión de la $1\alpha\text{OH}$ y la inducción de la 24-OH . Además, aumenta la reabsorción tubular de calcio por un mecanismo similar al descrito a nivel intestinal, aumenta la expresión de calbindinas y activa el transporte de calcio en el túbulo distal inducido por la PTH. El TRPV5 es un canal muy importante para la reabsorción tubular del calcio y su expresión está inducida por la $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ (8).

1.4. Efectos extraesqueléticos de la Vitamina D

La $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ tiene múltiples acciones no calciotrópicas que explican la relación de su deficiencia con múltiples procesos tales como las enfermedades autoinmunes, la diabetes, las enfermedades cardiovasculares, las infecciones o el cáncer (4,16) (Figura 9).

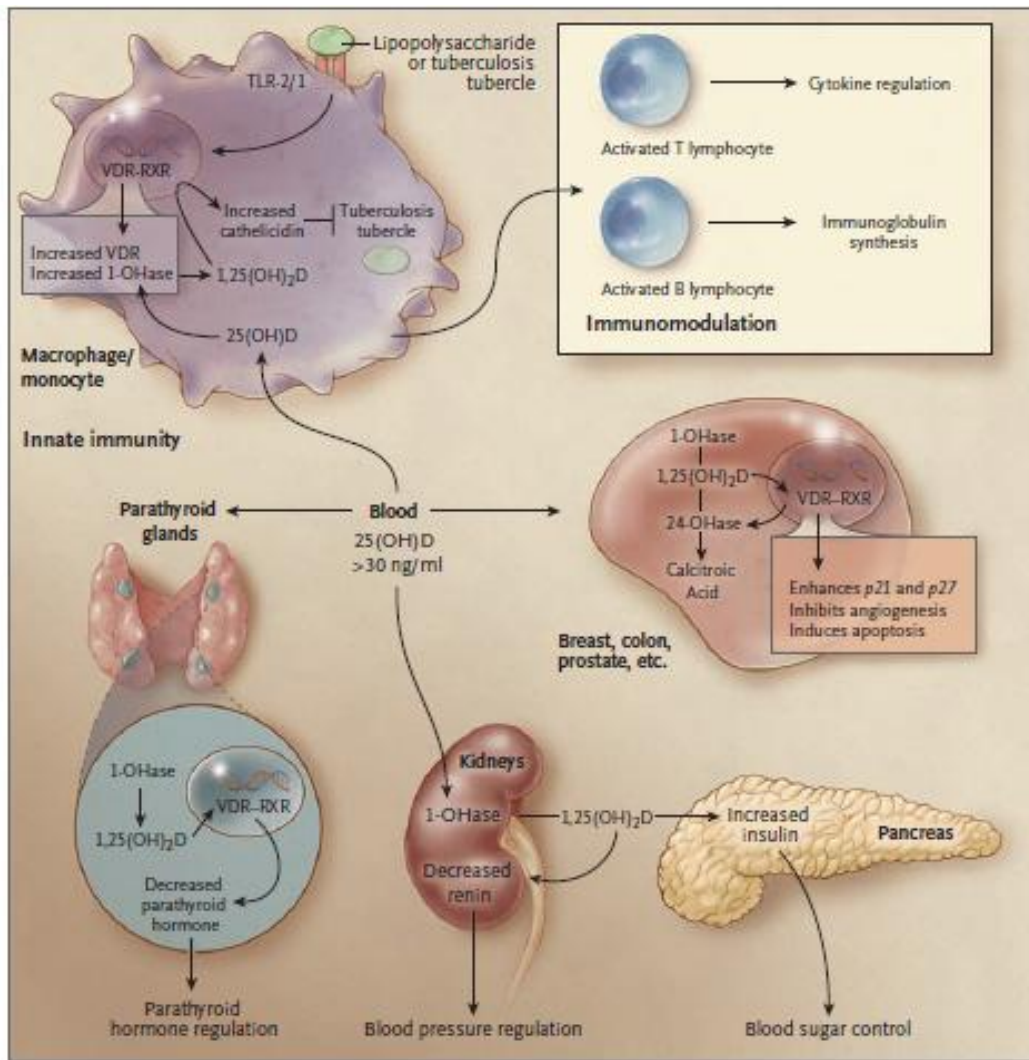


Fig. 9. Metabolismo de la vitamina D y efectos extraesqueléticos (Holick, 2007) (2).

El VDR está presente en casi todas las células organismo, incluyendo cerebro, corazón, piel, C β del páncreas, gónadas, próstata, mama, colon y células del sistema inmune, entre otras, por lo que son capaces de responder a la 1,25OH₂D₃. Además, algunos de estos tejidos y células expresan la enzima 1 α OH, por lo que son capaces transformar la 25OHD a su forma más activa.

Directa o indirectamente, la vitamina D controla más de 200 genes, incluyendo genes responsables de la regulación de la proliferación, la diferenciación y la apoptosis celular, y de la angiogénesis. Disminuye la proliferación celular tanto

de células normales como de células cancerosas e induce su diferenciación. Así, se ha observado que la vitamina D y sus análogos inhiben la proliferación, la angiogénesis, la migración y la invasión de líneas celulares malignas de los cánceres de colon, próstata y mama, e inducen su diferenciación y apoptosis (13). La síntesis de prostaglandinas y la vía de señalización Wnt/ β -catenina están también influenciadas por la vitamina D, que suprime la expresión de COX-2 y aumenta la de 15-PGDH, reduciendo de ese modo los niveles de prostaglandinas inflamatorias e inhibiendo la promoción de la carcinogénesis mediada por ellas. Este efecto sobre la síntesis de prostaglandinas también da lugar a una supresión de la angiogénesis tumoral. La vitamina D, además, regula la señalización de los receptores androgénicos y estrogénicos, y de este modo inhibe el crecimiento tumoral de algunos tumores hormonodependientes, como son el de próstata y el de mama. Adicionalmente, en este último, reduce la expresión de aromatasa, lo que contribuye a la inhibición de su crecimiento (13).

La vitamina D es también un potente inmunomodulador (2,4,13,31) (Figura 10).

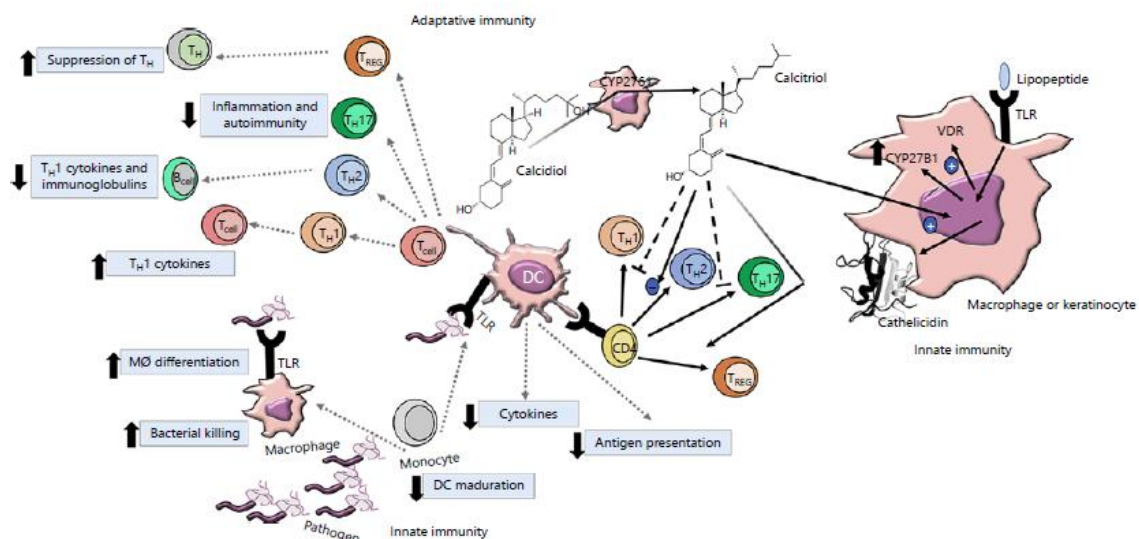


Fig. 10. Efectos de la vitamina D sobre la inmunidad innata y adquirida (Gil, et al., 2018) (4).

CYP: Citocromo; MØ: Macrófago; TH: Célula T-helper; TLR: Receptor toll-like; TREG: Célula T reguladora; VDR: Receptor de vitamina D.

Los VDR están presentes en todas las células del sistema inmune, y un gran número de genes relacionados con la inmunidad están regulados por la vitamina D. Se ha demostrado su participación tanto en la inmunidad natural o innata como en la adquirida. La vitamina D mejora los efectos antimicrobianos de los macrófagos y los monocitos, así como la quimiotaxis y la capacidad fagocitaria de estas células. Respecto a la inmunidad adquirida, la vitamina D regula la diferenciación y proliferación de linfocitos T y B, especialmente cuando estos han sido activados. En cuanto a los linfocitos T activados, la vitamina D los conduce a una situación de mayor tolerancia inmune, suprimiendo la proliferación y diferenciación de los linfocitos *T-helper* y modulando la producción de sus citoquinas (inhibe las citoquinas proinflamatorias y promueve la producción de citoquinas antiinflamatorias). En consecuencia, no es de extrañar la relación descrita por diversos autores entre la deficiencia de vitamina D y las enfermedades autoinmunes, tales como la diabetes mellitus tipo 1 (DM1), la artritis reumatoide, el lupus eritematoso sistémico, la esclerosis múltiple, la psoriasis o la enfermedad inflamatoria intestinal crónica (2,4,13) (Figura 11).

La vitamina D interviene también en numerosos procesos metabólicos y en las enfermedades cardiovasculares (Figura 11): aumenta la producción de insulina y disminuye la resistencia a esta, inhibe la síntesis de renina y aumenta la contractilidad del miocardio, entre otros (13).

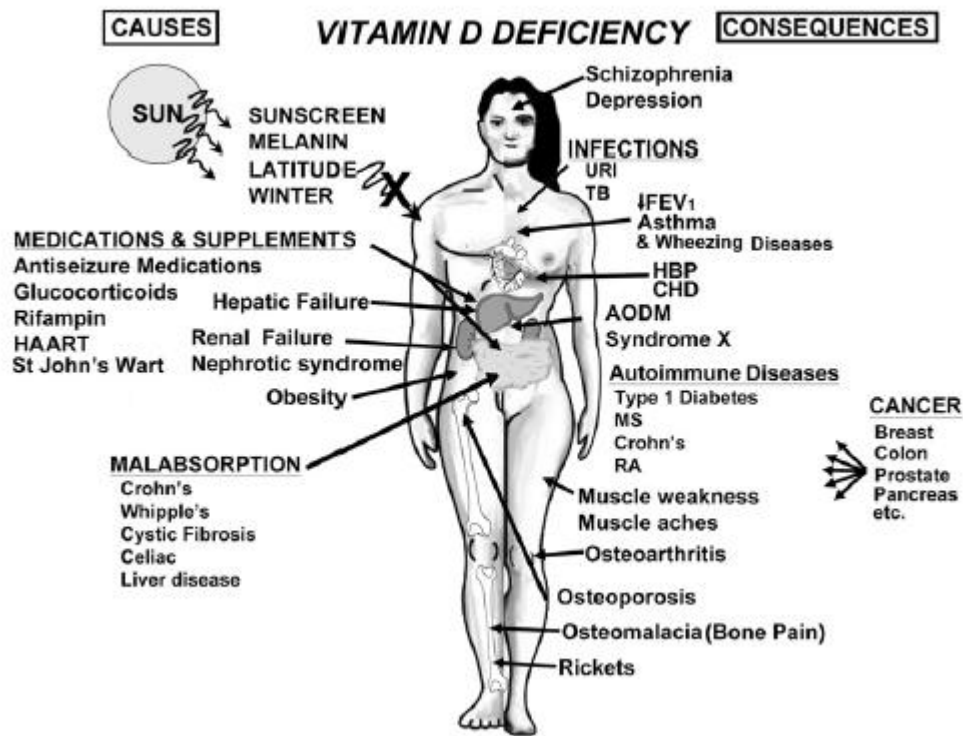


Fig. 11. Principales causas de déficit de vitamina D y potenciales consecuencias sobre el estado de salud (Holick M.F., 2010) (13).

A continuación, nos centraremos con más detalle en el papel de la vitamina D en la regulación del metabolismo energético y de la glucosa.

1.4.1. Vitamina D y diabetes mellitus tipo 1:

El estado de insuficiencia de vitamina D se reconoce cada vez más como uno de los factores asociados al riesgo de DM1 (32–35). De etiopatogenia distinta a la DM2, la DM1 puede tener conexiones con la vitamina D y su metabolismo a través de la acción de esta sobre el sistema inmune (36,37) y la funcionalidad de las células de la médula ósea (35).

Littorin et al. (2006) (38) observaron que adultos jóvenes con reciente diagnóstico de DM1 tenían niveles más bajos de vitamina D que los sujetos sin la enfermedad que participaron como controles. Sorensen et al. (2012) (39) realizaron

un seguimiento a 29072 mujeres embarazadas y sus descendientes. Observaron que los hijos de las mujeres que tenían niveles más bajos de vitamina D durante el embarazo tenían el doble de riesgo de sufrir DM1 que aquellos de madres con niveles más altos. En 2016, este mismo grupo publicó un estudio de casos y controles sobre las concentraciones de DBP durante la gestación y su asociación con el riesgo de DM1 en la descendencia (40). Encontraron que concentraciones bajas, particularmente en el tercer trimestre, tendían a asociarse con mayor riesgo de DM1 en la descendencia. Sin embargo, estos datos proceden de estudios observacionales y resultan controvertidos (41).

También se han evaluado los efectos de la suplementación con vitamina D. Un estudio realizado sobre una cohorte de recién nacidos con seguimiento durante un año (Hypponen, et al., 2001) (42), mostró que los niños que tomaron suplementos de vitamina D, tanto regular como irregularmente, tuvieron menos riesgo de padecer DM1 que los que no lo hicieron (RR = 0.12, 95% IC [0.03-0.51]; y RR = 0.16, 95% IC [0.04-0.74], respectivamente). Li et al. (2009) (43) estudiaron a 35 pacientes con diabetes autoinmune latente del adulto (LADA) que fueron aleatorizados a un grupo de tratamiento solo con insulina frente a un grupo de tratamiento con insulina y vitamina D durante un año. Al final del estudio, los niveles de péptido C disminuyeron en el grupo tratado solo con insulina ($p = 0.006$), mientras que en el grupo tratado con insulina y vitamina D se mantuvieron estables. El 70% de los pacientes tratados con vitamina D mantuvieron o incrementaron sus niveles de péptido C, frente al 22% de los tratados solo con insulina ($p = 0.01$) (43). Un resultado similar se ha obtenido en un reciente ensayo clínico aleatorizado (ECA) doble ciego de 6 meses de duración, realizado en el sur de la India (Sharma, et al., 2017) (44), en 52 niños con DM1 (26 tratados con insulina y vitamina D3 frente a 26 tratados solo con insulina) de uno a 18 años de edad. Sin embargo, a pesar del aumento de la función residual de la $C\beta$ y el aumento de la producción de insulina (aumento del péptido C) observado en el grupo de intervención, no hubo diferencias en cuanto a HbA1c ni en cuanto a los requerimientos de insulina exógena (44).

Un metaanálisis realizado a partir de estudios observacionales concluyó que los suplementos de vitamina D en edades tempranas podrían proteger frente al desarrollo de DM1 (45). Sin embargo, otros autores no han encontrado este efecto protector de la vitamina D sobre los sujetos con DM1 de inicio reciente (46,47).

Por otra parte, se ha descrito una asociación entre la latitud y la DM1, de tal manera que las poblaciones que viven más alejadas del ecuador presentan una mayor incidencia de esta enfermedad (Baggerly, et al., 2015) (48). Esto podría estar relacionado con el hecho de que en las zonas de mayor latitud hay menor radiación UVB y, por tanto, menor producción endógena de vitamina D3 (49) (Figura 12).

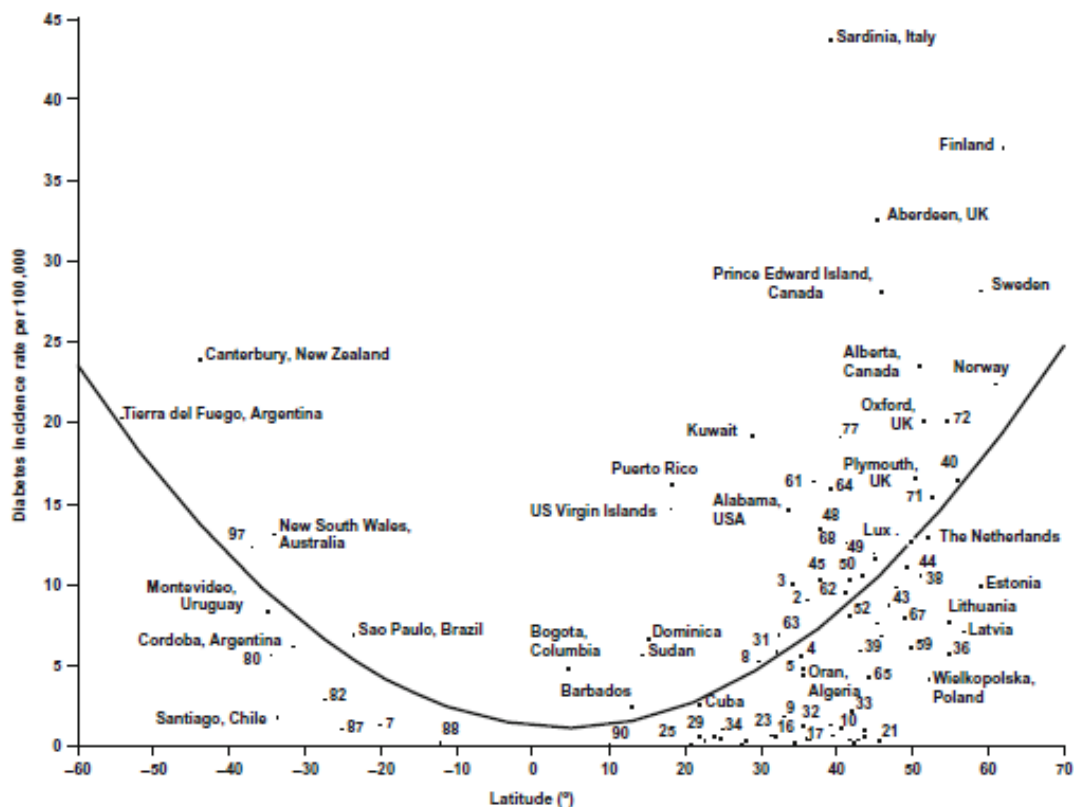


Fig. 12. Tasa de incidencia de DM1 por latitud en 51 regiones del mundo (Mohr, et al., 2008) (49). Tasa por 100000 niños menores de 14 años para el año 2002; $R^2 = 0.25$, $p < 0.001$.

En modelos animales, la vitamina D ha demostrado ejercer efectos importantes sobre la disminución del riesgo de DM1. En concreto, se observó que

la administración de $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ inhibía el desarrollo de insulinitis y la aparición de DM1 en ratones NOD (ratones diabéticos no obesos, modelo murino de DM1) (50–52). Adicionalmente, Gregori et al. (2002) (53) mostraron que la administración de un análogo de $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ a ratones NOD que ya habían desarrollado diabetes autoinmune, frenó la progresión de la inflamación de las $\text{C}\beta$ pancreáticas por modulación de la respuesta de linfocitos T. Más recientemente, un estudio realizado sobre un modelo de ratas diabéticas (Mazanov, et al., 2018) (35) ha demostrado una relación entre la deficiencia de 25OHD asociada a la DM1 y alteraciones de la expresión renal y extrarrenal de $1\alpha\text{OH}$ y de VDR. La administración de vitamina D3 contrarrestó las anormalidades del sistema endocrino, paracrino y autocrino relacionadas con la deficiencia de vitamina D en este modelo de ratas diabéticas. Estos hallazgos sugieren un posible papel de la deficiencia de vitamina D y las alteraciones de su metabolismo sobre el desarrollo óseo y la disfunción de las células de la médula ósea en la DM1 (35).

En humanos, los resultados obtenidos hasta la fecha se basan sobre todo en estudios observacionales (Maddaloni, et al., 2018) (54). Son necesarias investigaciones complementarias mediante ECA con adecuado tamaño muestral y largos periodos de seguimiento que ayuden a dilucidar si la vitamina D puede ejercer un beneficio añadido en el tratamiento de los pacientes con DM1, o en su prevención.

1.4.2. Vitamina D y diabetes mellitus tipo 2:

La hipótesis de que la vitamina D puede ser un factor relevante sobre el riesgo de DM2 parece consistente, dados los numerosos estudios que han demostrado una asociación inversa entre la deficiencia de vitamina D y la DM2. La evidencia científica reciente relaciona la acción de la vitamina D con la secreción de insulina y la sensibilidad a la misma, por lo que la vitamina D podría desempeñar un papel clave en la regulación de la homeostasis de la glucosa tanto en la prediabetes como en la DM2 establecida (54). Esto se explica porque las $\text{C}\beta$ pancreáticas

expresan VDR y su estímulo por parte de la $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ favorece la producción de insulina. Además, el VDR se expresa en los tejidos diana de la insulina, aumentando su sensibilidad a la misma (13,31,37,55–58) (Tabla 3).

Tabla 3. Posibles mecanismos de acción y beneficios de la vitamina D en la fisiopatología de la DM2. Modificado de Zuluaga-Espinosa et al. (2011) (31).

Mecanismos	Evidencia
Mejoría en la función de la Cβ pancreática	
Efecto directo de la vitamina D sobre la secreción de insulina	Presencia de VDR en las C β pancreáticas
	Expresión de $1\alpha\text{OH}$ en las C β pancreáticas
	Deterioro en la respuesta de secreción de insulina en ratones <i>knockout</i> para el VDR
	Presencia de VDRE en la región promotora del gen de la insulina
	Activación transcripcional del gen de la insulina por la $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$
	La deficiencia de vitamina D deteriora la respuesta de secreción de insulina inducida por glucosa
	Restauración de la secreción de insulina tras la suplementación con vitamina D (modelos animales)
Efecto indirecto de la vitamina D sobre la secreción de insulina	Modulación del flujo de calcio y de la concentración intracelular de calcio en la C β pancreática mediante la regulación de la calbindina.
	¿Aumento de secreción de OC por los osteoblastos durante el proceso de mineralización ósea? La OC se ha relacionado con aumento de la secreción de insulina en modelos animales
Mejoría en la acción de la insulina	
Efecto directo de la vitamina D en la acción de insulina	Asociación inversa entre niveles de $1,25\text{OH}_2\text{D}_3$ y sarcopenia
	Presencia de VDR en el músculo esquelético
	La vitamina D estimula la expresión del receptor de insulina y aumenta la respuesta a la insulina para el transporte de glucosa
	La vitamina D activa directamente el PPAR- δ , factor de transcripción implicado en la regulación del metabolismo de los ácidos grasos en el músculo esquelético y en el tejido adiposo
Efecto indirecto de la vitamina D en la acción de insulina	Regulación del aumento de la PTH (el aumento de los niveles de PTH puede inducir resistencia a la insulina)
	¿Aumento de secreción de OC por los osteoblastos durante el proceso de mineralización ósea? La OC se ha relacionado con aumento de la sensibilidad a la insulina en modelos animales

Mejoría en la inflamación sistémica	
Efecto de la vitamina D sobre las citoquinas	Interacción con los VDRE en la región promotora de los genes de las citoquinas al interferir con factores de transcripción implicados en la generación y acción de las citoquinas
	Infrarregulación del factor nuclear kappa B, importante modulador de genes que codifican para citoquinas proinflamatorias implicadas en la resistencia a la insulina
	Interferencia con la generación de citoquinas por la sobreexpresión de calbindina, y por tanto, protección contra la apoptosis inducida por citoquinas que podría ocurrir tras un aumento del calcio libre citosólico

C β : Célula beta; VDR: Receptor de la vitamina D; 1 α OH: 1 α -hidroxilasa; VDRE: Elemento de respuesta a vitamina D; 1,25OH₂D₃: 1,25-hidroxivitamina D₃ o calcitriol; PPAR- δ : Peroxisome proliferator-activated receptor- δ ; PTH: Parathormona; OC: Osteocalcina.

La relación clínica entre el estatus de vitamina D y las alteraciones de la homeostasis de la glucosa, intolerancia a la glucosa (ITG) y DM2, ha sido evaluada en múltiples estudios con resultados contradictorios.

Una revisión sistemática y metaanálisis publicado en 2011 (59) mostró que el riesgo de desarrollar DM2 era un 43% más bajo en sujetos con concentraciones de 25OHD >25 ng/ml frente a aquellos con concentraciones <14 ng/ml. Del mismo modo, la suplementación con >500 UI/día de vitamina D₃ se asoció con un riesgo de DM2 un 13% más bajo comparado con <200 UI/día (59). Otro metaanálisis (Song, et al., 2013) (60) concluyó que las concentraciones más altas 25OHD se asociaban con una reducción del 38% del riesgo de sufrir DM2 frente a las concentraciones de 25OHD más bajas (RR = 0.62, 95% IC [0.54-0.70]). En el *Nurses' Health Study* se realizó un seguimiento a más de 83000 mujeres y se observó que una ingesta diaria >1200 mg de calcio junto con suplementación de vitamina D₃ >800 UI/día se asoció con un menor riesgo de padecer DM2 (RR = 0.67, 95% IC [0.49-0.90]), comparado con una ingesta de calcio <600 mg/día y 400 UI/día de vitamina D₃ (56,61). Otro estudio prospectivo con más de 2000 participantes (Deleskog, et al., 2012) (62), mostró que el riesgo de progresión de prediabetes a diabetes fue un 62% menor en aquellos sujetos con concentraciones de 25OHD en

el cuartil más alto frente al cuartil más bajo. Publicaciones más recientes (Li, et al., 2018 y Upreti, et al., 2018) (63,64) también apuntan que la suplementación con vitamina D en pacientes con DM2 reduce la resistencia a la insulina de manera efectiva y se asocia con un mejor control glucémico así como de otros parámetros metabólicos.

Todas estas evidencias apoyan el efecto antidiabético de la vitamina D en humanos (65). El VDR está expresado en las C β pancreáticas, y la vitamina D estimula la secreción de insulina (66,67). Además, diversos estudios han demostrado que los suplementos de vitamina D favorecen la sensibilidad a la insulina (68–70), mediante el incremento de la expresión de receptores insulínicos (66). También modula la inflamación, que juega un papel importante en la fisiopatología de la DM2 (66,71).

Sin embargo, existen evidencias contradictorias. Una revisión sistemática y metaanálisis (George, Pearson y Witham, 2012) (72) no encontró evidencias suficientes sobre el efecto beneficioso de la suplementación con vitamina D como medida para mejorar la glucemia o la resistencia a la insulina en pacientes con DM2. En 2015 se publicaron los resultados del ensayo clínico *SUNNY-Trial* (73). Se trata de un ECA doble ciego, controlado con placebo, realizado en 275 pacientes adultos con DM2 sin terapia insulínica, que fueron aleatorizados a recibir suplementos de vitamina D3 (50000 UI/mes) o placebo durante seis meses con el objetivo de evaluar cambios en la HbA1c y otros parámetros del metabolismo de la glucosa. El estudio concluyó que la administración de dosis altas intermitentes de suplementos de vitamina D3 en pacientes con DM2 bien controlada no mejoró el control glucémico. En otro ECA recientemente publicado (*The Vitamin D for Established Type 2 Diabetes [DDM2] Study*, 2018) (74), la suplementación con 4000 UI/día de vitamina D3 durante 48 semanas, no modificó la tasa de secreción de insulina ni la HbA1c en 127 pacientes con DM2 bien controlada con metformina.

Por tanto, a pesar de que los datos observacionales apoyan la función de la vitamina D en la fisiopatología de la DM2, los resultados de los principales ECA

que evalúan la eficacia de la suplementación con vitamina D para la mejora de la homeostasis de la glucosa en personas en riesgo o con DM2 no son concluyentes.

1.4.3. Vitamina D y obesidad:

Existen datos que sugieren la implicación de la hipovitaminosis D en el desarrollo de la obesidad. La vitamina D es capaz de inhibir la diferenciación de los adipocitos a través de su interacción con el VDR presente en estas células (75). Además, en sujetos obesos, se ha observado que la suplementación con vitamina D disminuye los niveles de hormona de crecimiento (GH) y de factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1), por lo que los efectos adversos del eje GH-IGF-insulina sobre el metabolismo de la glucosa y el síndrome metabólico (SM) podrían, en parte, estar asociados al estado deficitario de vitamina D (76).

Se ha demostrado que los sujetos obesos tienen concentraciones de 25OHD más bajas que los no obesos (71,76–80). Esto se ha explicado, entre otros factores, por el almacenamiento o “secuestro” de la vitamina D en la grasa corporal (81,82). Además, los sujetos obesos responden peor a la suplementación con vitamina D, obteniendo un menor incremento de las concentraciones séricas de 25OHD frente a los sujetos no obesos en respuesta a las mismas dosis de suplemento. Esto implica, por tanto, mayores necesidades (71,79,80).

Los resultados de los estudios que tratan de establecer la relación entre las concentraciones séricas de 25OHD y la masa grasa corporal no son concluyentes. También son contradictorios los datos obtenidos de los ECA que tratan de determinar la influencia de la suplementación con vitamina D sobre la masa grasa corporal (83–85). Una reciente revisión sistemática y metaanálisis (Golzarand, et al., 2018) (83) concluye que las concentraciones séricas de 25OHD se correlacionan inversamente con el porcentaje de masa grasa (PMG) corporal; sin embargo, la suplementación con vitamina D3 no tiene ningún efecto sobre el PMG.

Los datos de correlación entre vitamina D y masa grasa corporal publicados por otros autores (86,87) tienen justificación en el marco del SM. Un estudio prospectivo realizado en 4727 jóvenes sanos, con seguimiento de 20 años, observó que la prevalencia de la mayoría de los componentes del SM (obesidad abdominal, hiperglucemia y concentraciones séricas bajas de HDL-colesterol) fue descendiendo significativamente a medida que aumentaban los quintiles de ingesta de vitamina D. Además, hubo una asociación inversa significativa entre la ingesta dietética o por suplementación de vitamina D y el riesgo de SM a los 20 años (88). Otro estudio de seguimiento durante cinco años de 11547 adultos sanos, mostró una correlación inversa entre las concentraciones séricas de 25OHD y el mayor riesgo de SM, mayor circunferencia de cintura, mayores concentraciones de glucosa y triglicéridos séricos, y mayor resistencia a la insulina (89). En conexión con estos hallazgos, algunos estudios han demostrado que la corrección del déficit de vitamina D en sujetos obesos mejora la sensibilidad a la insulina; si bien otros autores no han encontrado este efecto (76,90).

Cabe también mencionar el fenotipo de obesidad metabólicamente sana (MHO, *metabolically healthy obesity*), definida como la presencia de obesidad ($\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) sin ningún componente del SM asociado (91) (Figura 13).

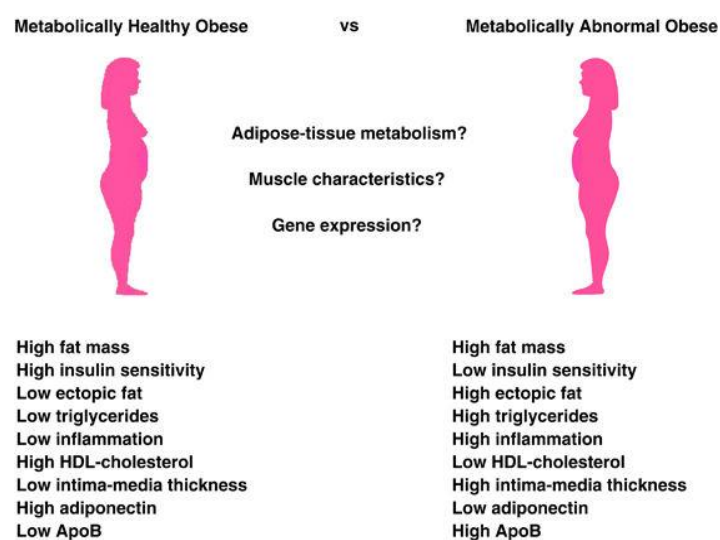


Fig. 13. Factores que pueden distinguir a individuos obesos metabólicamente sanos de sujetos obesos con disfunción metabólica, a pesar de tener una masa grasa similar (Primeau, et al., 2011) (91).

Un estudio prospectivo recientemente publicado (Al-Khalidi, et al., 2018) (92), realizado a partir de 11333 participantes de la NHANES III (*Third National Health and Nutrition Examination Survey*), con 19 años de seguimiento, ha evaluado la asociación entre MHO, vitamina D y riesgo de mortalidad cardiometabólica y por todas las causas. Los resultados de este estudio apoyan la hipótesis de que el fenotipo MHO es una condición benigna que no se asocia con un mayor riesgo de mortalidad por todas las causas (hazard ratio [HR] = 0.89, 95% IC [0.52-1.51]) ni con un mayor riesgo de mortalidad cardiometabólica (HR causa-específica = 1.21, 95% IC [0.33-4.46]); y que la deficiencia de vitamina D puede aumentar el riesgo de mortalidad cardiometabólica asociado con la disfunción metabólica tanto en individuos con peso normal como en obesos.

1.4.4. Vitamina D, homeostasis de la glucosa y riesgo cardiovascular:

El SM es una entidad compleja caracterizada por la presencia de distintos factores de riesgo cardiovascular (FRCV) en un mismo individuo y supone un aumento del riesgo de ECV y DM2 (93). La creciente prevalencia de obesidad abdominal y de HTA, así como de las alteraciones del metabolismo lipídico y de la glucosa, incluso en la población infantil, hace que el SM, independientemente de los criterios diagnósticos utilizados, sea cada vez más frecuente en nuestro medio y represente uno de los principales problemas de salud pública del siglo XXI. Este hecho tiene una enorme trascendencia clínica, ya que el reconocimiento y diagnóstico del SM identifica un fenotipo de pacientes con un elevado riesgo cardiovascular y, por tanto, susceptibles de recibir medidas terapéuticas, tanto de modificación del estilo de vida como farmacológicas.

Existen varias definiciones del SM (94) (Tabla 4), pero, independientemente de los criterios utilizados, los factores de riesgo metabólico incluyen la dislipemia aterogénica (elevación de triglicéridos, disminución de colesterol-HDL, aumento de APO-B y un predominio de las partículas pequeñas y densas de colesterol-LDL), la elevación de la glucemia, la elevación de la presión arterial, el estado protrombótico y el estado proinflamatorio.

Tabla 4. Criterios para el diagnóstico clínico del síndrome metabólico según diferentes organizaciones. Adaptado de Strange, Shipman y Ramachandran (2015) (94).

	OMS 1998	EGIR 1999	NCEP/ATP III 2001	AACE 2003	IDF 2005	IDF (de 10 a <16 años) 2007
Definición	GBA, ITG, DM2 o baja sensibilidad a la insulina, más 2 de los siguientes	Insulinemia >p75, más 2 de los siguientes	3 de los siguientes	GBA o ITG, más cualquiera de los siguientes		
Perímetro cintura (cm)	CC>0.9H, >0.85M; o IMC>30 kg/m ²	≥94H, ≥80M	≥102H, ≥88M	IMC>25 kg/m ²	≥94H, ≥80M; o IMC>30 kg/m ² , más 2 de los siguientes	>p90, más 2 de los siguientes
Triglicéridos (mg/dl)	>150	>150	≥150	>150	>150	≥150
HDL-c (mg/dl)	<35H, <39M	<39	<40H, <50M	<40H, <50M	<40H, <50M	<40
Presión arterial (mmHg)	≥140/90	≥140/90 o en tratamiento	≥130/85	≥130/85	TAS≥130 o TAD≥85 o en tratamiento	TAS≥130 y/o TAD≥85
Glucosa (mg/dl)	GBA, ITG o DM2	GBA o ITG (pero no diabetes)	≥100 o diabetes	GBA o ITG (pero no diabetes)	≥100	≥100 o DM2 conocida
Otros	Microalbuminuria AC >30 mg/g			Otros datos asociados con resistencia a la insulina ¹		

¹ Incluye síndrome de ovario poliquístico, historia familiar o grupo étnico susceptible de DM2, estilo de vida sedentario y edad avanzada.

OMS: Organización Mundial de la Salud; EGIR: European Group for the Study of Insulin Resistance; NCEP/ATP: National Cholesterol Education Program/Adult Treatment Program; AACE: American Association of Clinical Endocrinologists; IDF: International Diabetes Federation; HDL: Lipoproteínas de alta densidad; GBA: Glucemia basal alterada; ITG: Intolerancia la glucosa; DM2: Diabetes mellitus tipo 2; CC: Ratio cintura/cadera; H: Hombre; M: Mujer; IMC: Índice de masa corporal; AC: Ratio albúmina/creatinina; TAS: Tensión arterial sistólica; TAD: Tensión arterial diastólica.

En España, la prevalencia de prediabetes y SM se sitúa en el 25% y el 31.2%, respectivamente. La prevalencia de SM en las mujeres españolas se ha mantenido estable en la última década (28.5%), mientras que se ha incrementado ligeramente en los varones (34.2%). También se ha constatado un incremento del riesgo de ECV en los sujetos con ITG y en aquellos con SM (95).

Por otra parte, en la actualidad las características y el perfil de riesgo cardiovascular de los pacientes con DM1 se asemejan cada vez más a los de la DM2. Esto puede atribuirse a diferentes factores, entre los que cabe destacar otras complicaciones de la DM1 como la nefropatía, la menor edad de inicio de la DM1 y, en consecuencia, un mayor período de exposición a los principales FRCV junto a su documentado deficiente control (96–98). En la población norteamericana la prevalencia de SM en pacientes con DM1 oscila entre el 21% según la definición de la OMS, el 12% según los criterios del NCEP/ATP-III y el 8% según los de la IDF. Los estudios realizados en Europa en pacientes con DM1 revelan una prevalencia de SM según los criterios del NCEP/ATP-III del 38% en varones y del 40% en mujeres. Se han referido datos similares en el área mediterránea, donde la prevalencia de SM es del 24.5% y el 43.2% en varones y mujeres con DM1, respectivamente, tasas que contrastan con el 58.8% y el 80.8% descritos en pacientes, hombres y mujeres respectivamente, con DM2 (96–98).

Por tanto, dado que el término SM se asocia en general a la DM2, también es necesario considerar su posible presencia en sujetos con DM1, así como el impacto de la resistencia a la insulina sobre sus complicaciones micro y macroangiopáticas.

1.4.4.1. Resistencia a la insulina:

El nexo patogénico entre el SM, la DM2 y las complicaciones cardiovasculares es la resistencia a la insulina, presente durante años antes del inicio de la DM2 (Figura 14).

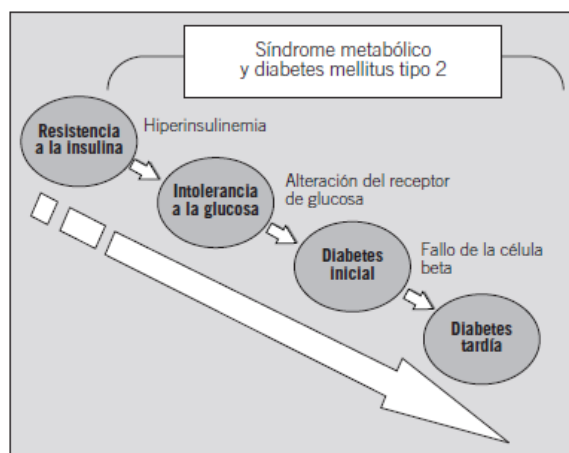


Fig. 14. Evolución fisiopatológica desde la resistencia a la insulina hasta el SM y la DM2 (Chillarón, Goday y Pedro-Botet, 2008) (96).

La resistencia a la insulina se define como una respuesta biológica alterada tanto a la insulina de secreción endógena como a la insulina de administración exógena (99). Se manifiesta por una disminución del transporte de glucosa estimulado por la insulina, una alteración del metabolismo de la glucosa en los adipocitos y en el músculo esquelético, y por una alteración de la supresión de la producción hepática de glucosa. La sensibilidad a la insulina está influenciada por varios factores entre los que se encuentran la edad, el peso, el grupo étnico, la grasa corporal (especialmente la abdominal), la actividad física y los fármacos, junto con un importante componente genético y factores ambientales (99). Además, como ya se ha comentado con anterioridad, existen datos que apoyan el efecto de la vitamina D sobre la resistencia a la insulina (véase Tabla 3). Se conoce que las células musculares esqueléticas expresan VDR, de manera que su activación podría estimular la expresión de receptores insulínicos. La vitamina D también podría regular el metabolismo lipídico y de la glucosa interactuando directamente con el PPAR- δ . Y, finalmente, la presencia de VDR y de la enzima $1\alpha\text{OH}$ en células del sistema inmunitario y en los adipocitos, vincula la vitamina D con el estado inflamatorio de bajo grado característico del SM y la DM2 (13,31,37,55–57).

No hay que olvidar que la resistencia a la insulina también puede presentarse en la DM1, lo que se ha llamado “diabetes doble” por la suposición de que esta situación entraña un riesgo muy elevado de ECV (96).

En definitiva, la resistencia a la insulina está estrechamente asociada a un gran número de FRCV y, de forma global, a la ECV (Figura 15).

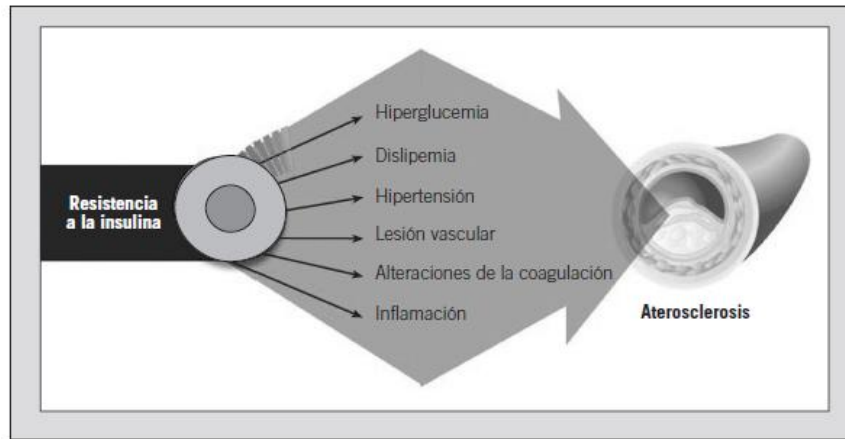


Fig. 15. Resistencia a la insulina y su asociación con los FRCV (Chillarón, et al., 2008) (96).

1.4.4.2. Hipovitaminosis D y factores de riesgo cardiovascular:

Un número creciente de publicaciones relacionan la hipovitaminosis D con el SM y los distintos FRCV que lo conforman (Figura 16).

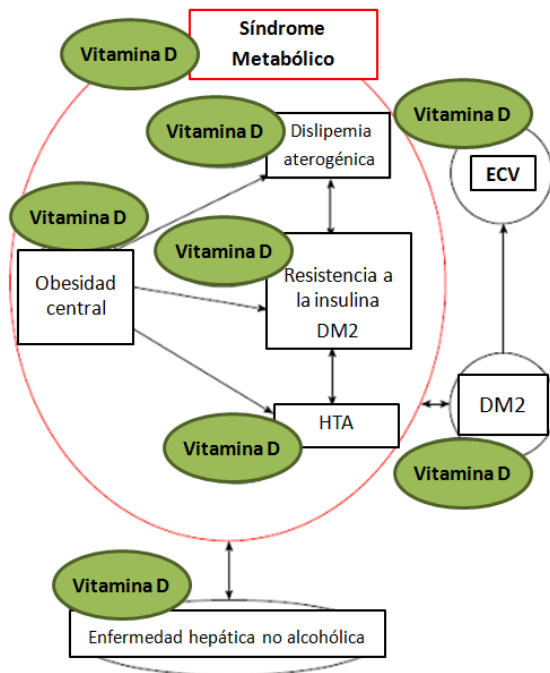


Fig. 16. Componentes del SM, relaciones complejas entre ellos y áreas que pueden verse afectadas por la hipovitaminosis D.

Adaptado de Strange et al.. (2015) (94).

ECV: Enfermedad cardiovascular;
DM2: Diabetes mellitus tipo 2; HTA: Hipertensión arterial.

Numerosos estudios observacionales muestran que los sujetos con menores concentraciones de 25OHD tienen una mayor prevalencia e incidencia de ECV (93), y que la deficiencia de vitamina D se asocia con una mayor mortalidad cardiovascular (92). Los hallazgos de los estudios transversales se han visto reforzados por los resultados de estudios prospectivos, donde los sujetos con menores concentraciones basales de 25OHD presentan mayor riesgo de SM tras 5-10 años de seguimiento, así como una mayor mortalidad cardiovascular (89). En conjunto, estos datos apoyan una relación estrecha entre SM e hipovitaminosis D, pero la patogenia no está bien definida y el efecto de la suplementación con vitamina D sobre el riesgo cardiovascular en pacientes con SM no es concluyente.

Además de la asociación entre el SM como entidad y la hipovitaminosis D, diversas investigaciones han evaluado la relación entre la hipovitaminosis D y cada uno de los componentes del SM por separado, como en el caso de la diabetes y la obesidad, anteriormente discutidos.

La relación entre HTA e hipovitaminosis D también parece clara en diversos metaanálisis (100,101). Entre los mecanismos que se postulan como mediadores de esta asociación se encuentra la conocida interacción de la vitamina D sobre el sistema renina-angiotensina-aldosterona. Los estudios realizados en modelos animales han demostrado que la insuficiencia de 25OHD activa el sistema renina-angiotensina, pero los datos procedentes de estudios en humanos son limitados y contradictorios (102–105). Otro mecanismo posiblemente implicado sería el efecto de la vitamina D sobre el estado inflamatorio de bajo grado. Se ha demostrado la presencia de VDR y $1\alpha\text{OH}$ en los cardiomiocitos, en el endotelio vascular y en el músculo liso de la pared arterial, por lo que la vitamina D podría modular la inflamación, la proliferación celular y quizá también los procesos relacionados con la trombosis arterial (105). Finalmente, dada la conocida asociación entre el hiperparatiroidismo primario y la HTA, la elevación de la PTH que acompaña al déficit de vitamina D también podría tener un papel (106). No obstante, los estudios que han evaluado el efecto de la suplementación con vitamina D sobre el control de la HTA no han aportado resultados esperanzadores (102,103,107–109).

Finalmente, los datos sobre la relación entre la hipovitaminosis D y la dislipemia aterogénica son escasos. Los sujetos con hipovitaminosis D parecen presentar mayores concentraciones séricas de triglicéridos y menores concentraciones de colesterol-HDL; mientras que su asociación con el colesterol-LDL es inconsistente (110). La relación del déficit de vitamina D con la resistencia a la insulina y el efecto de la vitamina D sobre la inhibición de la diferenciación del tejido adiposo y de la lipoproteinlipasa constituyen potenciales mecanismos que podrían estar implicados en la relación del déficit de vitamina D con la dislipemia aterogénica (110). Sin embargo, de nuevo, el efecto de la suplementación con vitamina D sobre los lípidos está por clarificar (109,111).

En definitiva, aunque los estudios de cohortes han demostrado una asociación inversa entre el estatus de vitamina D y el riesgo cardiovascular, en el momento actual, no existen datos concluyentes acerca del efecto de la suplementación con vitamina D sobre los componentes del SM (109,112–114) ni sobre la reducción de los eventos cardiovasculares (115–118). Deben tenerse en cuenta las limitaciones de los estudios observacionales para esclarecer mecanismos causales, y que la información derivada de los estudios de intervención es insuficiente. Además, estos últimos deben tomarse con precaución debido a su heterogeneidad y a que la mayoría no han sido diseñados para valorar los efectos cardiovasculares.

1.5. Definición de los niveles óptimos de Vitamina D

La medición de la concentración sérica de 25OHD es aceptada comúnmente como indicador clínico del estatus orgánico en vitamina D. Este metabolito tiene una vida media larga, de dos a tres semanas, y es el de mayor concentración en el organismo, alcanzando concentraciones hasta 1000 veces mayores que la 1,25OH₂D₃. Además, la producción de esta última se encuentra estricta y hormonalmente regulada, por lo que incluso en pacientes con deficiencia grave de

vitamina D pueden encontrarse concentraciones séricas de 1,25OH₂D₃ normales (119).

Actualmente, la definición de las concentraciones adecuadas de 25OHD sigue siendo motivo de controversia dada la variabilidad entre los laboratorios y los distintos métodos disponibles para su medición. El punto de corte de la normalidad difiere entre sociedades científicas. Así, el Instituto de Medicina de los EEUU (IOM) (120) propone valores para la población general sana por encima de 20 ng/ml, mientras que la Fundación Internacional de Osteoporosis (IOF) lo define para pacientes por encima de 30 ng/ml (121). Esta recomendación es apoyada por la Sociedad de Endocrinología de Estados Unidos (122) y otras sociedades científicas de múltiples países. En España, la Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (SEIOMM) en un consenso que incluía la mayoría de sociedades científicas, incluyendo la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición (SEEN), también propone concentraciones por encima de 30 ng/ml (123,124) (Tabla 5).

Tabla 5. Concentraciones séricas de 25OHD y significación (Torres del Pliego y Nogués-Solán, 2014) (124).

25OHD (ng/ml)	25OHD (nmol/l)	Diagnóstico
<20	<50	Deficiencia de vitamina D
20-30	50-75	Insuficiencia de vitamina D
>30	>75	Concentraciones suficientes de vitamina D

En cualquier caso, se podría proponer una concentración sérica de 20 ng/ml como objetivo mínimo indiscutible a obtener, aunque parece preferible obtener valores por encima de 30 ng/ml, como han mostrado la mayoría de los estudios a este respecto (125–127). Concentraciones séricas de 25OHD por encima de 30 ng/ml asegurarían una adecuada salud ósea pero se ha visto que probablemente sean necesarios valores superiores para obtener resultados favorables en otros

objetivos de salud como pueden ser la salud dental, la prevención del cáncer colorrectal o la salud cardiovascular, entre otros (125–127). En un metaanálisis que analizó 11 estudios y un total de 51231 pacientes, Zitterman et al. (2012) (127) concluyeron que el rango de 25OHD objetivo de 30-35 ng/ml era el que ofrecía la mejor reducción del riesgo de mortalidad por todas las causas.

También resulta controvertido el valor sérico máximo recomendable de 25OHD. Durante mucho tiempo se ha creído que valores altos no serían perjudiciales siempre que no alcanzaran las concentraciones definidas como tóxicas. Actualmente está abierto el debate sobre si valores elevados de 25OHD podrían asociarse con riesgo de muerte cardiovascular o de cualquier otra causa (128). En poblaciones muy expuestas al sol, como pescadores o labradores, es excepcional sobrepasar una concentración sérica de 65-70 ng/ml, y no se ha evidenciado toxicidad con dichas concentraciones. Por ello, algunos autores han propuesto concentraciones de 60-70 ng/ml como punto de corte máximo recomendable (122,128). En un análisis de 30 estudios que evaluaban cualquier efecto adverso derivado de concentraciones séricas elevadas de 25OHD en adultos, no se describieron efectos de toxicidad por debajo de 100 ng/ml (127–129). Por tanto, concentraciones séricas de 25OHD entre 30 y 70 ng/ml parecen fisiológicamente saludables.

El Grupo de Trabajo de Osteoporosis y Metabolismo Mineral de la SEEN, del que formo parte, ha publicado recientemente un documento de consenso sobre “Recomendaciones de vitamina D para la población general”, en el que sugiere (recomendación débil y evidencia muy baja) mantener concentraciones séricas de 25OHD entre 30 y 50 ng/ml para conseguir los beneficios de salud que aporta la vitamina D, manteniendo un adecuado perfil de seguridad y minimizando la inexactitud observada con los diferentes ensayos comercializados hasta que existan evidencias más sólidas sobre los beneficios extraóseos obtenidos con niveles más elevados de vitamina D (5).

1.6. Prevalencia de insuficiencia/deficiencia de Vitamina D en España

Hoy en día, la insuficiencia/deficiencia de vitamina D constituye una epidemia en todo el mundo que afecta a más de la mitad de la población, y ha sido descrita en niños, jóvenes, adultos, mujeres gestantes y posmenopáusicas, y ancianos. En las personas que han tenido fracturas osteoporóticas la prevalencia de concentraciones bajas de 25OHD puede alcanzar hasta el 100% (113). Recientemente han sido revisados estos valores a nivel mundial encontrando un 88% de la población con concentraciones séricas de 25OHD por debajo de 30 ng/ml, un 37% con valores por debajo de 20 ng/ml y hasta un 7% con valores medios inferiores a 10 ng/ml (130).

En España esta situación es muy similar, según los datos más relevantes publicados desde 1998 hasta 2015 (5). En individuos mayores de 65 años se han descrito concentraciones de 25OHD por debajo de 20 ng/ml en un 80-100% de las personas y en población menor de 65 años el déficit alcanza a un 40% de la población española (5). Esta aparente “paradoja” de concentraciones bajas de vitamina D que España comparte con otros países de la cuenca del Mediterráneo se ha querido explicar por el escaso aporte dietético de vitamina D debido a la falta de fortificación de los alimentos, que no puede ser resuelto exclusivamente por la síntesis cutánea. La mayor parte de España está por encima del paralelo 35°N, donde la posibilidad de sintetizar vitamina D es escasa en invierno y primavera. Pero también las altas temperaturas del verano (hasta 30-40°C) en determinadas zonas de España propician la ausencia de exposición al sol, y por eso los valores de 25OHD en verano podrían ser incluso más bajos (131).

1.7. Causas del déficit/insuficiencia de Vitamina D e indicaciones de cribado

El déficit de vitamina D puede ser de origen extrínseco, por falta de exposición solar o de aporte dietético, o bien de origen intrínseco, por alteraciones en su absorción o metabolismo (5) (Tabla 6).

Tabla 6. Mecanismos patogénicos implicados y causas de situaciones de carencia de vitamina D. Adaptado de Varsavsky et al. (2017) (5).

Origen	Causas
Extrínseco	Ingesta inadecuada
	Escasa exposición a la luz solar
	Uso de cremas con filtro de radiaciones ultravioletas (factor de protección > 8)
	Hiperpigmentación cutánea
Intrínseco	Edad avanzada (disminución de la síntesis cutánea de vitamina D)
	Malabsorción: <ul style="list-style-type: none"> • Gastrectomía (total, parcial, bypass gástrico) • Enfermedades intestinales (ej. Enfermedad celíaca, Enfermedad de Crohn) • Cirrosis biliar primaria • Insuficiencia pancreática (ej. Fibrosis quística) • Tratamiento con colestiramina • Colostasis crónicas
	Incremento del catabolismo de la vitamina D: <ul style="list-style-type: none"> • Anticonvulsivantes • Antirretrovirales para VIH • Tuberculostáticos • Hiperparatiroidismo • Enfermedad de Paget ósea • Enfermedades granulomatosas crónicas • Algunos linfomas
	Obesidad (disminución de la biodisponibilidad de vitamina D)
	Deficiencia de 25-hidroxilación hepática: <ul style="list-style-type: none"> • Hepatopatía crónica grave / Cirrosis hepática • Cirrosis biliar
	Deficiencia de 1 α -hidroxilación renal: <ul style="list-style-type: none"> • Insuficiencia renal crónica • Raquitismo dependiente de vitamina D tipo-I • Hipoparatiroidismo • Pseudohipoparatiroidismo
	Pérdida renal de 25OHD: <ul style="list-style-type: none"> • Síndrome nefrótico
	Anomalías del VDR: <ul style="list-style-type: none"> • Raquitismo dependiente de vitamina D-tipo II

El cribado universal del déficit de vitamina D no está recomendado (5,122). Las medidas de salud pública deben dirigirse a personas o grupos que acumulan factores de riesgo (fuerte grado de recomendación y evidencia baja según el documento de consenso del Grupo de Trabajo de Osteoporosis y Metabolismo Mineral de la SEEN) y a aquellos en los que podría esperarse una rápida respuesta en términos de salud tras la optimización del estatus de vitamina D (5) (Tabla 7).

Tabla 7. Indicaciones de cribado del déficit de vitamina D. Adaptado de Varsavsky et al. (2017) (5).

Indicaciones de cribado del déficit de vitamina D
Raquitismo
Osteomalacia
Osteoporosis
Enfermedad renal crónica
Enfermedad hepática
Síndromes de malabsorción: <ul style="list-style-type: none"> • Fibrosis quística • Enfermedad inflamatoria intestinal • Enfermedad de Crohn • Cirugía bariátrica • Enteritis post-radioterapia
Hiperparatiroidismo
Fármacos: <ul style="list-style-type: none"> • Anticonvulsivantes • Glucocorticoides • Antirretrovirales empleados frente al VIH • Antifúngicos • Colestiramina
Embarazo y lactancia
Ancianos institucionalizados, con historia de caídas o con historia de fracturas no traumáticas
Obesidad
Exposición solar insuficiente
Enfermedades granulomatosas: <ul style="list-style-type: none"> • Sarcoidosis • Tuberculosis • Histoplasmosis • Coccidiomicosis • Beriliosis
Algunos linfomas

1.8. Recomendaciones de ingesta de Vitamina D

El aporte diario recomendado de vitamina D es actualmente objeto de polémica. El IOM, las sociedades de Endocrinología y la US Task Force no están de acuerdo en los requerimientos diarios, aunque coinciden en que existe deficiencia entre la población (120,122). La explicación coherente del tema estaría en que el IOM y la US Task Force harían recomendaciones para la población sana, mientras que las sociedades médicas intentarían dar recomendaciones para pacientes y casos especiales (120,122,132).

La información aportada por los registros nacionales muestra que la ingesta total de vitamina D está por debajo de los aportes recomendados. El comité del IOM recomienda alcanzar concentraciones séricas de 25OHD por encima de 20 ng/ml para mantener la salud ósea en la práctica totalidad de los individuos. Este comité asume que, ante una mínima exposición al sol, la cantidad diaria recomendada de 600 unidades internacionales (UI) de vitamina D por día satisface las necesidades de casi todo el mundo en los Estados Unidos y Canadá. Para mayores de 70 años, esta cantidad aumenta a 800 UI debido a los posibles cambios asociados al envejecimiento (5,120).

En base a las evidencias revisadas, el Grupo de Trabajo de Osteoporosis y Metabolismo Mineral de la SEEN sugiere (recomendación débil y evidencia baja) una ingesta diaria de 600 UI de vitamina D en menores de 70 años y de 800 UI para mayores de 70 años (5).

1.9. Tratamiento con suplementos de Vitamina D

En España disponemos de preparaciones de vitamina D₃ (colecalfiferol), 25OHD (calcifediol o calcidiol), 1,25OH₂D₃ (calcitriol) y 1 α OHD₃ (alfacalcidiol). No disponemos de suplementos de vitamina D₂, solo está disponible en dosis fijas en formulaciones multivitamínicas y con dosis insuficientes para tratar el déficit de vitamina D (5). La 1,25OH₂D₃ y la 1 α OHD₃ (que se metaboliza a 1,25OH₂D₃

inmediatamente) tienen una vida media corta y mayor riesgo de hipercalcemia por lo que no se recomiendan para el tratamiento habitual del déficit de vitamina D. Su indicación se restringe a la insuficiencia renal, al hipoparatiroidismo, al pseudohipoparatiroidismo y a tipos especiales de raquitismos u osteomalacias (5).

La potencia biológica de la vitamina D se establece de forma que 40 UI equivalen a 1 µg de vitamina D3. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la vitamina D3 y la 25OHD no son equipotentes; la 25OHD es más hidrofílica, tiene una vida media más corta, es más rápida en su comienzo de acción y es de tres a seis veces más potente para elevar las concentraciones séricas de 25OHD (133,134).

La dosis de vitamina D a utilizar dependerá de la causa y la gravedad del déficit, así como de la formulación de vitamina D utilizada. Se han estudiado múltiples pautas, encontrando que con dosis diarias, semanales, mensuales, bimensuales e incluso trimestrales se obtienen resultados similares en las concentraciones séricas de 25OHD (5). En estudios de pacientes con capacidad absorbente normal, se ha observado que por cada 100 UI de vitamina D3 administradas las concentraciones séricas de 25OHD aumentan entre 0.7 y 1 ng/ml, siendo mayor en los pacientes con déficit grave. Es muy importante tener en cuenta que existen múltiples factores que pueden disminuir la respuesta al tratamiento como la edad, la obesidad, los factores genéticos (asociados a la DBP, enzimas relacionadas con la activación y degradación de la vitamina D y sus metabolitos), las concentraciones séricas iniciales de 25OHD, la formulación de vitamina D utilizada, la adherencia al tratamiento y la capacidad de absorción intestinal (135).

El Grupo de Trabajo de Osteoporosis y Metabolismo Mineral de la SEEN, recomienda utilizar vitamina D3 o 25OHD para el tratamiento del déficit de vitamina D (recomendación fuerte y evidencia moderada). Además, sugiere monitorizar las concentraciones séricas de 25OHD cada tres o cuatro meses para valorar la respuesta al tratamiento hasta alcanzar las concentraciones deseadas, y luego a intervalos de seis meses (recomendación débil y evidencia baja) (5).

1.10. Vitamina D y osteoporosis posmenopáusica

La osteoporosis posmenopáusica (OPPM) es un problema sanitario global cuya importancia va en aumento con el envejecimiento de la población.

La osteoporosis se define como un trastorno esquelético sistémico caracterizado por una masa ósea baja y un deterioro de la microarquitectura del tejido óseo, con el consecuente incremento de la fragilidad ósea y una mayor susceptibilidad a las fracturas (136). La resistencia ósea refleja fundamentalmente la unión de la densidad y la calidad óseas y, a su vez, el concepto de calidad integra todos aquellos factores ajenos a la masa ósea que condicionan la fragilidad del hueso, e incluye la microarquitectura, el grado de recambio, el acúmulo de lesiones o microfracturas y el grado de mineralización. La OMS estableció en 1994 unas definiciones basadas en mediciones de la densidad mineral ósea (DMO) de la columna lumbar, la cadera o el antebrazo en mujeres posmenopáusicas caucasoides (137) (Tabla 8).

Tabla 8. Criterios diagnósticos de osteoporosis de la OMS.

Valoración	Valor de DMO
Normal	T-score >-1
Osteopenia	T-score entre -1 y -2.5 DE
Osteoporosis	T-score <-2.5 DE

T-score: Valor de densidad mineral ósea (DMO) comparado con el valor medio del adulto joven expresado en términos de desviación estándar (DE).

En España, la OPPM afecta al 35% de las mujeres mayores de 50 años y al 52% de las mayores de 70 (138). La consecuencia más directa de la osteoporosis es el incremento de las fracturas por fragilidad y de la morbimortalidad que esto conlleva (139).

1.10.1. Papel de la Vitamina D en el tratamiento de la osteoporosis posmenopáusica:

Según las últimas guías de práctica clínica de la SEIOMM (140), se aconseja que los fármacos utilizados en el tratamiento de la OPPM (fármacos antirresortivos o fármacos anabólicos) se prescriban junto con calcio y vitamina D. Ello se basa en tres razones. La primera es fisiopatológica: puesto que se considera que la falta de calcio y vitamina D favorece a la larga el desarrollo de fracturas, a una paciente con OPPM debe evitársele dicho riesgo asegurando un aporte adecuado de ambos. La segunda es pragmática: la eficacia de los distintos fármacos utilizados en el tratamiento de la osteoporosis se ha probado administrando conjuntamente calcio y vitamina D, de manera que, de hecho, apenas tenemos información respecto a su eficacia en ausencia de los mismos. La tercera ha venido a subsanar en parte la carencia de información señalada en el punto anterior. En los últimos años se han realizado diversos estudios que han concluido que la eficacia de los fármacos utilizados en el tratamiento de la osteoporosis (fundamentalmente de los bifosfonatos) es menor si no se administra vitamina D, no solo en cuanto a la probabilidad de aparición de nuevas fracturas sino también en cuanto a una mala evolución de la masa ósea y una mayor probabilidad de respuesta inadecuada (cuatro veces mayor en las pacientes con concentraciones de 25OHD inferiores a 30 ng/ml).

No se han realizado ECA que comparen la eficacia de diferentes dosis de calcio o vitamina D. La información de la que se dispone se refiere más bien a la conveniencia de alcanzar, en el tratamiento de estas pacientes, concentraciones séricas de 25OHD situadas al menos por encima de 20 ng/ml, y mejor por encima de 30 ng/ml. La dosis diaria de vitamina D que debe ingerirse para conseguir estos niveles es variable, pero la opinión más generalizada la sitúa entre 800 y 1000 UI/día (140). En cuanto al calcio, la ingesta diaria debe ser de 1000-1200 mg/día, preferiblemente mediante la dieta pero si con ésta no se alcanza, deben añadirse suplementos. Por tanto, hay consenso universal respecto a que las pacientes con OPPM deben recibir calcio (1000-1200 mg/día) y vitamina D (800 UI/día) junto al tratamiento metabólico óseo principal (140).

1.10.2. Osteoporosis posmenopáusica y enfermedad cardiovascular:

Se sabe que la ECV es la primera causa de mortalidad en mujeres posmenopáusicas (95). Además, la presencia de ECV se ha asociado a una disminución de la masa ósea; y a la inversa, el hallazgo de una DMO reducida también se ha asociado a una mayor incidencia de ECV, sobre todo en mujeres posmenopáusicas (141–143). Así, las mujeres con una masa ósea disminuida presentan un aumento de la mortalidad cardiovascular (22-44% por cada desviación estándar del descenso en la DMO) (142).

La osteoporosis y la ECV se habían considerado clásicamente como procesos independientes relacionados con la edad, aunque cada vez existen más evidencias que confirman que ambas entidades comparten mecanismos fisiopatológicos comunes (144,145). Así, las alteraciones del metabolismo de la glucosa constituyen un importante factor de riesgo común para la fragilidad ósea y la ECV (146–148). Los mecanismos fisiopatológicos subyacentes a la fragilidad ósea en la diabetes son complejos e incluyen la hiperglucemia, el estrés oxidativo y la acumulación de productos avanzados de la glicación, que comprometen las propiedades del colágeno, aumentan la adiposidad de la médula ósea, liberan factores inflamatorios y adipocinas y alteran la función de los osteocitos; la disregulación de la vía Wnt y el incremento de esclerostina (149–151). Todo ello condiciona una baja resistencia del tejido óseo por alteración en su microarquitectura, alteración en el grado remodelado óseo y acúmulo de lesiones, independientemente de la cantidad de masa ósea (148,149,152,153).

Se ha propuesto que la vitamina D podría ser un factor contribuyente a la relación observada entre la fragilidad ósea y la ECV (142), pero aún no se han estudiado en profundidad los mecanismos subyacentes. Este aspecto merece una mayor investigación.

2. JUSTIFICACIÓN

JUSTIFICACIÓN

En los últimos años se ha producido un creciente interés por la vitamina D y su relación con las ECV. La hipótesis de que la hipovitaminosis D podría considerarse como un componente más del SM se encuentra en investigación. Las evidencias apuntan a que el efecto de la vitamina D sobre la resistencia a la insulina podría ser uno de los principales mecanismos causales que explicarían esta relación.

La fragilidad ósea también se ha relacionado con el riesgo de ECV a través de diversos factores, entre los que se ha implicado a la vitamina D. Sin embargo, la evidencia científica al respecto es bastante escasa.

Existe un relativo consenso sobre las concentraciones séricas de 25OHD suficientes para mantener una adecuada salud ósea. Sin embargo, no se conoce cuál sería el valor óptimo de 25OHD que aportaría beneficios sobre la homeostasis de la glucosa y la salud cardiovascular.

Basándonos en estas premisas, la consideración del estatus de vitamina D como un FRCV modificable tendría un gran impacto sobre la salud pública, sobre todo en aquellos grupos de población con mayor riesgo de ECV como son las mujeres con OPPM. Esta atractiva hipótesis justifica el desarrollo del trabajo de investigación de esta Tesis Doctoral.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. Hipótesis de trabajo

La vitamina D interviene en la homeostasis de la glucosa y está implicada en la patogénesis de la diabetes mellitus tipo 2, el síndrome metabólico y las enfermedades cardiovasculares.

El estatus de 25OHD podría constituir un factor de riesgo cardiovascular modificable.

3.2. Objetivo principal

Evaluar si las concentraciones séricas de 25OHD están relacionadas con parámetros del metabolismo de la glucosa y la composición corporal en una cohorte de mujeres con osteoporosis posmenopáusica.

3.3. Objetivos secundarios

1. Identificar el umbral de concentración sérica de 25OHD a partir del cual se observen beneficios sobre la homeostasis de la glucosa en nuestra población de estudio.
2. Determinar si los niveles séricos de osteocalcina infracarboxilada están relacionados con la homeostasis de la glucosa.
3. Evaluar si existe relación entre 25OHD, parámetros del metabolismo de la glucosa y fragilidad ósea en mujeres con osteoporosis posmenopáusica no diabéticas.

4. PACIENTES Y MÉTODOS

PACIENTES Y MÉTODOS

4.1. Pacientes

4.1.1. Ámbito geográfico del estudio:

Área de cobertura del Hospital Universitario San Cecilio de Granada. Se trata de un Hospital de Segundo Nivel y centro de referencia del área sur de la provincia de Granada, con asistencia de una población aproximada de cerca de 400000 habitantes (154).

Las participantes del estudio se seleccionaron en la Unidad de Metabolismo Óseo de la Unidad de Gestión Clínica (UGC) de Endocrinología y Nutrición del propio Hospital entre junio de 2012 y enero de 2014.

4.1.2. Población del estudio:

4.1.2.1. Población diana:

Mujeres con OPPM pertenecientes al área de cobertura del Hospital Universitario San Cecilio de Granada. El alcance calculado de la población diana es aproximadamente de 25800 a 29500 mujeres, teniendo en cuenta los siguientes factores:

- En España la prevalencia de osteoporosis en mujeres posmenopáusicas mayores de 50 años se sitúa entre el 35 y el 40% (138);
- En la provincia de Granada, la proporción de población en rango de edad de 50 a 85 años se sitúa en torno al 35.5%, con una proporción de mujeres del 52%, según datos extraídos de la Estadística del Padrón continuo del Instituto Nacional de Estadística a 1 de enero de 2018 (155);
- La población asistida por el Hospital Universitario San Cecilio (154).

4.1.2.2. Población elegible:

Mujeres pertenecientes a la población diana que durante el periodo de estudio cumplieron los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

- *Criterios de inclusión:*
 - Aceptación y comprensión del consentimiento informado.
 - Régimen de vida ambulatorio.
 - Caucasoides.
 - Posmenopausia (transcurrido un año al menos desde la fecha de última menstruación).
 - Rango de edad entre 50-85 años.
 - DMO, expresada como T-score, de -2.5 DE en cadera total (CT), cuello femoral (CF) o columna lumbar (CL), y/o historia de fractura por fragilidad (156,157).
 - Ausencia de déficits nutricionales.

- *Criterios de exclusión:*
 - Administración de cualquier fármaco antiosteoporótico durante el último año.
 - Enfermedad metabólica ósea distinta de la osteoporosis (enfermedad ósea de Paget, hipercalcemia tumoral, artritis reumatoide, mieloma múltiple, metástasis óseas, etc.).
 - Osteoporosis secundaria (hiperparatiroidismo primario, hipercortisolismo, hipertiroidismo, etc.).
 - Tratamiento crónico con glucocorticoides.
 - Fármacos que interfieran en el metabolismo óseo o de la glucosa.
 - DM1, DM2 o prediabetes.
 - Enfermedad renal crónica grave (filtrado glomerular [FG] <30 ml/min/1.73m²) (158).
 - Hepatopatía crónica.
 - Enfermedad neoplásica activa.
 - Tratamiento anticoagulante con dicumarínicos.

4.2. Métodos

4.2.1. Diseño del estudio:

El estudio se llevó a cabo de acuerdo a las Normas de Buena Práctica Clínica y en cumplimiento de la Declaración de Helsinki. Aunque no se realizó ninguna intervención experimental, consideramos necesario la aceptación y comprensión del consentimiento informado por parte de las participantes para la recolección, uso y almacenamiento de sus muestras biológicas y datos clínicos con fines de investigación.

Se diseñó un estudio exploratorio de corte transversal sobre una muestra de 40 mujeres con OPPM, de acuerdo a los criterios de inclusión y de exclusión establecidos, que se seleccionaron de forma consecutiva en el periodo comprendido entre junio de 2012 y enero de 2014. El protocolo de estudio incluyó para todas las participantes:

- Historia clínica, cuestionario de actividad física y encuesta nutricional.
- Exploración física, antropometría y análisis de composición corporal.
- Extracción de muestras de sangre venosa en ayunas y determinación de los parámetros bioquímicos.
- Determinación de la DMO y estudio de radiología vertebral.

Todas las pacientes estaban instruidas en cuanto a una dieta rica en calcio y recibían suplementación con vitamina D a dosis de mantenimiento (calcifediol 15960 UI mensuales) según las últimas guías de práctica clínica (140).

Tras la evaluación clínica inicial y la extracción de muestras de sangre venosa para la determinación de los parámetros bioquímicos, todas las pacientes comenzaron tratamiento antiosteoporótico específico y seguimiento según la práctica clínica habitual en la Unidad de Metabolismo Óseo de la UGC de Endocrinología y Nutrición del Hospital Universitario San Cecilio.

4.2.2. Variables del estudio:

4.2.2.1. Variables clínico-demográficas:

- Edad en años.
- Peso en kilogramos (kg) y talla en metros (m).
- IMC: $\text{Peso (kg)}/\text{Talla (m)}^2$.
- Factores de riesgo cardiovascular (FRCV).
- Hábito tabáquico.
- Hábito alcohólico: Clasificación según consumo mayor o menor de 20 g/día.
- Nivel de actividad física según un cuestionario específico validado. Se utilizó la versión en español del cuestionario de evaluación rápida de la actividad física (RAPA, *Rapid Assessment of Physical Activity*) (159). El cuestionario, autoadministrado y con nueve ítems, evalúa la fuerza, la flexibilidad y la intensidad de las actividades físicas. Se necesitan de dos a cinco minutos para realizarlo. El cuestionario RAPA clasifica al individuo en físicamente inactivo o sedentario (puntuación <5) o físicamente activo (puntuación >5).
- Riesgo de fractura según la Herramienta FRAX (versión española) (160,161). Se trata de una escala de puntuación utilizada para valorar el riesgo absoluto de fractura osteoporótica a 10 años y cuya finalidad clínica es ayudar a la toma de decisiones respecto al inicio del tratamiento. Los factores de riesgo evaluados por la herramienta son: edad, sexo, antecedentes de fractura a partir de los 50 años, DMO en CF, IMC, tratamiento con corticoides durante más de tres meses, osteoporosis secundaria, historia familiar de fractura de cadera, hábito tabáquico y consumo de alcohol >2 unidades/día. Una vez introducidos todos los datos, la herramienta calcula el riesgo absoluto de fractura para un periodo de 10 años, expresado en porcentaje. Contempla el riesgo para las principales fracturas osteoporóticas y de forma diferenciada el riesgo de fractura de cadera. Los valores para la recomendación del inicio del tratamiento son $\geq 20\%$ en el caso de las fracturas principales relacionadas con la osteoporosis, y $\geq 3\%$ para la fractura específica de cadera. Esta herramienta, aunque útil, infraestima el riesgo de fracturas osteoporóticas

principales en la población española, y no existe por el momento un umbral terapéutico adaptado a España (162).

- Ingesta cálcica diaria (mg/día). Se estimó a partir de la encuesta nutricional de la IOF que evalúa la cantidad de ingesta semanal de varios tipos de alimentos y productos, incluyendo los suplementos de calcio (163).

4.2.2.2. Variables analíticas:

Se tomaron muestras de sangre venosa por la mañana tras al menos 8 horas de ayuno nocturno. El suero fue almacenado a -80 °C hasta su análisis. Los parámetros bioquímicos de rutina fueron analizados en el Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital. Algunos parámetros específicos, como la ucOC, fueron analizados por personal cualificado perteneciente al Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA) en la Unidad de Apoyo a la Investigación del Hospital.

- *Estatus de 25OHD:* La determinación de las concentraciones séricas de 25OHD, expresadas en ng/ml, se realizó mediante quimioluminiscencia (CLIA) (Beckman Coulter UniCel DxI 800; CA) (164). Se establecieron dos categorías de 25OHD: ≥ 30 ng/ml y < 30 ng/ml, y se dividió la muestra según percentiles de 25OHD sérica.
- *Metabolismo Óseo:*
 - Calcio (mg/dl), fosfato (mg/dl) y albúmina (g/dl) séricos: Se analizaron según las técnicas de Laboratorio automatizadas estándar. Se calculó el calcio corregido por albúmina según la siguiente fórmula: $\text{Calcio sérico (mg/dl)} = 0.8 * [4.0 - \text{albúmina (g/dl)}]$.
 - Hormona paratiroidea intacta (PTHi): Se determinó mediante el Kit Intact PTH suministrado por Roche Diagnostics SL, Barcelona, España. Se trata de un inmunoensayo de electroquimioluminiscencia con anticuerpos monoclonales y técnica de sándwich. Los valores de referencia se encuentran entre 15 y 65 pg/ml (165).

- Osteocalcina (OC): Su determinación se realizó mediante CLIA (N-Mid Osteocalcin; Immunodiagnostic Systems iSYS, Boldon, United Kingdom, [IDS-iSYS] automated analyzer) (166). Los valores de referencia son 10.4 - 45.6 ng/ml.
- Osteocalcina infracarboxilada (ucOC): Se analizó mediante el kit de ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) Takara Bio Inc., Shiga, Japan. Se trata de un ensayo tipo sándwich que utiliza dos anticuerpos anti-ucOC monoclonales de ratón, uno de los cuales se aplica sobre la placa y el otro es marcado con peroxidasa para la captura y detección de la ucOC. El ensayo consta de dos pasos: primero, las muestras se incuban en la placa de microtitulación recubierta con un anticuerpo; luego, la placa se lava y se incuba con el anticuerpo anti-ucOC marcado con peroxidasa. Se añade un sustrato y la reacción entre la peroxidasa y el sustrato resulta en el desarrollo de color. La cantidad de ucOC se determina midiendo la absorbancia mediante un lector de placas (fotómetro adaptado para aplicaciones de inmunoensayos enzimáticos). Las concentraciones precisas de la muestra se determinan mediante la comparación de sus absorbancias específicas con la absorbancia obtenida a partir de una curva estándar (utilizando el kit estándar suministrado). La variabilidad intra e interensayo son del 4.4 y 9.5%, respectivamente; la sensibilidad 0.25 ng/ml y el rango de normalidad 0.6 – 1.8 ng/ml (167).
- Telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo I (CTX) en suero: Se trata de un marcador de resorción ósea. Su medición se realizó mediante enzimoimmunoensayo con el Kit Elecsys β -CrossLaps (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland). El intervalo de medición oscila entre 0.01 y 6 ng/ml, con una variabilidad intra e interensayo inferior al 6%. Los valores de normalidad oscilan entre 0.157 y 0.44 ng/ml para mujeres premenopáusicas, 0.33 y 0.782 ng/ml para

mujeres posmenopáusicas, y entre 0.158 y 0.442 ng/ml para varones (168).

- *Metabolismo de la Glucosa y funcionamiento de la C β pancreática:*
 - Glucosa (mg/dl) e insulina (μ U/ml) séricas: Se analizaron según las técnicas de Laboratorio automatizadas estándar.
 - Hemoglobina glicosilada (HbA1c): Expresada en %. Se determinó mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), con el analizador ADAMS A1c, HA-8160; Menarini, Florence, Italy (169).
 - Modelo de Homeostasis de la Glucosa e Insulinorresistencia (HOMA, *Homeostasis Model Assessment*): Se utilizó la aplicación HOMA2 Calculator v2.2 (170,171). El HOMA estima la función basal de las C β (%B) y la sensibilidad a la insulina (%S), como porcentajes de una población de referencia normal, a partir de las concentraciones de insulina (μ U/ml) y glucosa (mg/dl) séricas en ayunas. El HOMA2 de Levy (172) mejoró el modelo matemático HOMA original de Matthews (173). En 2004 se lanzó la herramienta HOMA2 Calculator. Esta aplicación informática permite un acceso rápido y fácil al modelo HOMA2 para la estimación de los siguientes parámetros: índice de insulinorresistencia (HOMA2-IR), índice de β -secreción (HOMA2-%B) e índice de insulinosensibilidad (HOMA2-%S). El modelo está calibrado para un valor de normalidad de los índices HOMA2-%B y HOMA2-%S del 100%, y un valor normal del HOMA2-IR de 1 (170,171).
- *Otras determinaciones:*
 - Bioquímica básica de función renal y hepática, perfil lipídico y perfil tiroideo: Según las técnicas de Laboratorio automatizadas estándar. La tasa de filtrado glomerular (FG) se estimó según la ecuación CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*) (174).

- Factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1): Para su determinación se empleó el Kit IGF-1 I125 RIA, suministrado por DiaSorin (Stillwater, Minnesota, USA). Los valores de normalidad en adultos entre 40 y 54 años son de 90 a 360 ng/ml y en adultos de más de 55 años son de 71 a 290 ng/ml (175).

4.2.2.3. Técnicas radiológicas:

- *Medición de la masa ósea*: Se evaluó la densidad mineral ósea (DMO) mediante absorciometría dual por rayos X (DXA), empleando para ello el equipo Hologic QDR4500 (Waltham, MA) con calibración diaria mediante un fantoma normalizado (Hologic X-Caliber, Hologic Inc., Waltham, MA). Este densitómetro utiliza radiografías digitales cuantitativas para medir de forma exacta y rápida el contenido mineral óseo en gramos y la DMO en g/cm². Se tomó el T-score (valor de DMO comparado con el valor medio del adulto joven expresado en términos de desviación estándar) como medida de la DMO. Se realizaron mediciones en CL (vértebras L1, L2, L3 y L4) y fémur proximal (CF y CT). A fin de evitar falsas mediciones, las vértebras fracturadas que se identificaron mediante radiología simple de columna fueron excluidas de la medición de DMO (176). La precisión de la medida fue superior al 1% (coeficiente de variación = 1.0% con DMO = 1.0 g/cm²) y la resolución espacial de 1.5 mm. El tiempo de realización de la prueba es de cinco minutos para cada localización y la radiación a la que se somete al paciente de 2.9 - 5.0 mR, equivalente a la décima parte de la recibida durante la realización de una radiografía simple de tórax.
- *Estudio radiológico*: Se efectuaron radiografías laterales de columna lumbar y torácica para evaluar la presencia de deformaciones en los cuerpos vertebrales desde T4 a L5. Las mediciones se hicieron según los criterios de Genant (Figura 17): con una regla transparente se miden las alturas anterior y posterior de las vértebras desde T4 a T12, y las alturas anterior, media y posterior de L1 a L5. En condiciones normales, en columna torácica, la

altura anterior es, como máximo, un 85% de la altura posterior. Se habla de fractura de grado 1 o deformidad leve cuando existe una reducción de la altura anterior, media o posterior de la vértebra del 20-25%; fractura de grado 2 o deformidad moderada cuando la reducción es del 25-40%, y fractura de grado 3 o deformidad grave cuando la reducción es >40% en cualquier altura del cuerpo vertebral (177,178).

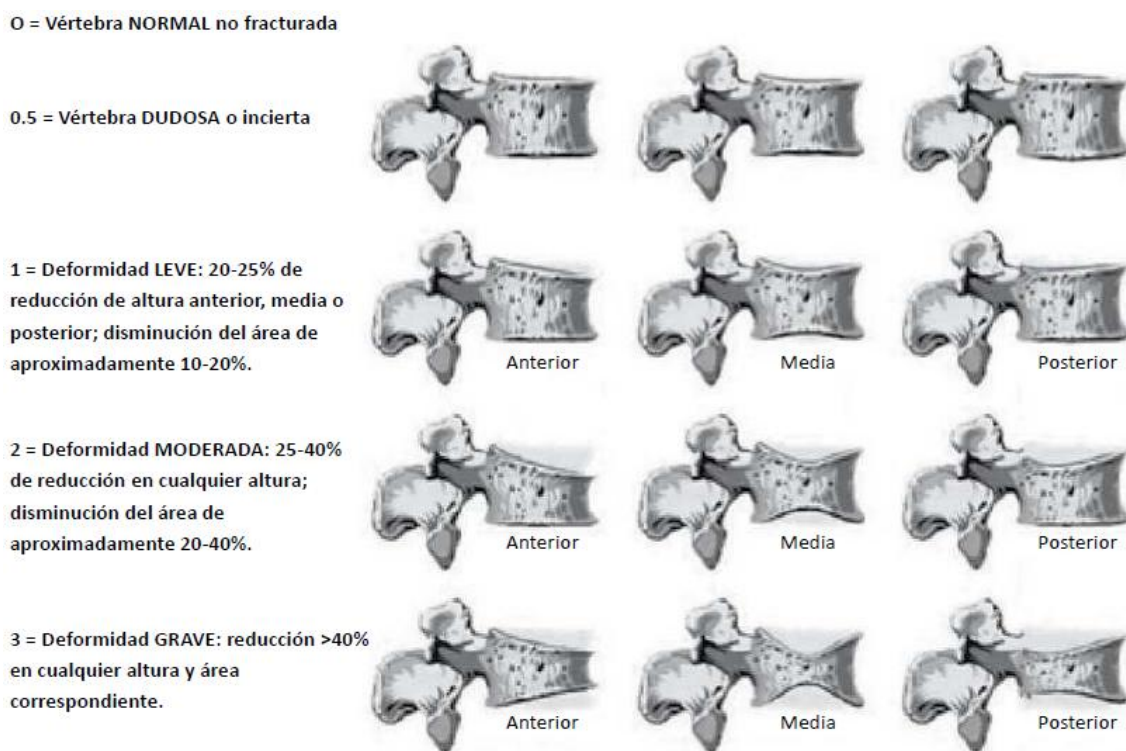


Fig. 17. Escala de clasificación visual de Genant. Modificado de Genant y Jergas (2003) (178).

4.2.2.4. Análisis de composición corporal:

La composición corporal se evaluó mediante impedanciometría bioeléctrica empleando para ello el equipo Tanita TBF-300A. El método BIA (análisis bioeléctrico de impedancia) es extremadamente preciso para el análisis de la composición corporal. A partir del peso y su nivel de grasa, se indica la impedancia expresada en Ω , el PMG (%), la cantidad de masa grasa (kg), masa magra (kg) y agua corporal (kg), el IMC (kg/m^2) y la tasa metabólica basal (TMB) (Kcal/día) (179).

4.3. Análisis estadístico

Se estudió la relación entre las concentraciones séricas de 25OHD (variable predictora o independiente) y los parámetros del metabolismo de la glucosa y la composición corporal (variables de estudio o dependientes). El análisis multivariante incluyó otras posibles variables predictoras de la homeostasis de la glucosa como la edad, el IMC, el PMG y la ucOC. También se evaluó la asociación entre 25OHD, parámetros del metabolismo de la glucosa y riesgo de fractura según el índice FRAX en nuestra población.

El tratamiento y análisis estadístico de los datos se realizó mediante el programa SPSS versión 18.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL).

Para variables continuas se comprobó su distribución normal mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Cuando el tamaño de muestra fue mayor que 30 se aplicaron pruebas paramétricas mediante la aplicación del Teorema Central del Límite.

Se emplearon medidas de tendencia central (media) y dispersión (desviación estándar [DE]) para variables continuas, y distribución de frecuencias absolutas (en valor numérico) y relativas (porcentajes) para variables categóricas.

Las diferencias para las variables cuantitativas de interés entre grupos de comparación se evaluaron mediante el test de la t de Student para dos muestras independientes, o el test de la U de Mann-Whitney como prueba no paramétrica. Para variables categóricas se utilizaron el test de la Chi Cuadrado (X^2) de Pearson y el test exacto de Fisher.

La asociación entre las variables cuantitativas se analizó mediante el test de regresión lineal univariante, previa comprobación del modelo (aleatoriedad, normalidad, linealidad y homogeneidad de varianzas), o mediante los test de correlación de Pearson y de Spearman.

Por último, se empleó el análisis multivariante mediante regresión lineal múltiple, previa comprobación del modelo (aleatoriedad, normalidad, linealidad y homogeneidad de varianzas), para estudiar las variables predictoras de la homeostasis de la glucosa y del riesgo de fractura.

Todos los test estadísticos se realizaron a doble cola. Una $p < 0.05$ fue considerada estadísticamente significativa. En el análisis de regresión lineal múltiple se aceptó un valor de significación < 0.10 .

5. RESULTADOS

RESULTADOS

5.1. Estudio descriptivo

Características de la población de estudio:

Los datos demográficos y las características clínicas generales de la población de estudio se recogen en la Tabla 9. La edad media fue de 62 ± 8.5 años. En cuanto a la prevalencia de FRCV, se trata de mujeres posmenopáusicas con un estilo de vida sedentario en el 65% de los casos, el 15% eran fumadoras, el 27.5% presentaban HTA, el 42.5% dislipemia, el 47.5% sobrepeso u obesidad y el 5% ya había sufrido un evento cardiovascular.

Tabla 9. Estudio descriptivo: Datos demográficos y características clínicas.

VARIABLES	Media	DE
Edad (años)	62	8.5
Talla (m)	1.56	0.05
Peso (kg)	61.8	10.4
IMC (kg/m ²)	25.4	3.9
TAS (mm/Hg)	126.5	15.4
TAD (mm/Hg)	75.9	10.9
FG (ml/min/1.73m ²)	78.3	20.3
FRCV (%) [abs.]		
Fumadoras	15 [6]	
Ex - fumadoras	27.5 [11]	
Alcohol	0	
Sedentarismo	65 [26]	
HTA	27.5 [11]	
Dislipemia	42.5 [17]	
Sobrepeso u obesidad	47.5 [19]	
ECV establecida ¹	5 [2]	
Metabolismo de la glucosa		
Glucosa en ayunas (mg/dl)	87	9
HbA1c (%)	5.4	0.3
Insulina (μ U/ml)	8.7	3.9
HOMA2-IR	1.12	0.51

HOMA2-%S (%)	107	46
HOMA2-%B (%)	109	30
Perfil lipídico (mg/dl)		
Colesterol total	201	23
Colesterol-HDL	67	11
Colesterol-LDL	118	22
Triglicéridos	80	28
Perfil hormonal		
TSH (mUI/ml)	2.11	1.37
IGF-1 (ng/ml)	113	31
Composición corporal		
PMG (%)	33.9	6.9
TMB (Kcal/día)	1243	104
25OHD (ng/ml)	43	20

¹ ECV establecida: incluye enfermedad cerebrovascular, enfermedad coronaria, arteriopatía periférica.

DE: Desviación Estándar; abs.: Valor absoluto; IMC: Índice de masa corporal; TAS: Tensión arterial sistólica; TAD: Tensión arterial diastólica; FG: Filtrado glomerular; FRCV: Factores de riesgo cardiovascular; HTA: Hipertensión arterial; ECV: Enfermedad cardiovascular; HbA1c: Hemoglobina glicosilada; HOMA2-IR: Índice de Insulinorresistencia; HOMA2-%S: Índice de Insulinosensibilidad; HOMA2-%B: Índice de β -secreción; TSH: Hormona Estimulante del Tiroides; IGF-1: Factor de crecimiento similar a la insulina 1; PMG: Porcentaje de masa grasa; TMB: Tasa metabólica basal; 25OHD: 25-hidroxivitamina D.

Los datos para variables continuas se expresan como media \pm DE. Los datos para variables categóricas se expresan como porcentajes y valor absoluto [abs.].

Los datos referentes al metabolismo mineral y la fragilidad ósea se describen en la Tabla 10. El 42.5% de las participantes tenía antecedentes de fractura osteoporótica.

Tabla 10. Estudio descriptivo: Metabolismo mineral y fragilidad ósea.

VARIABLES	Media	DE
Metabolismo óseo		
OC (ng/ml)	18.5	8.5
ucOC (ng/ml)	8.3	10.0
CTX (ng/ml)	0.473	0.198
PTHi (pg/ml)	49.9	15.6
Ca (mg/dl)	9.7	0.3
P (mg/dl)	3.3	0.4
DMO		
T-score CL (DE)	-2.9	0.6
DMO CL (g/cm ²)	0.727	0.068
T-score CF (DE)	-1.8	0.7
DMO CF (g/cm ²)	0.644	0.073
T-score CT (DE)	-1.6	0.8
DMO CT (g/cm ²)	0.755	0.100
Índice FRAX (%)		
Fractura osteoporótica	6.4	5
Fractura de cadera	2.2	3
Prevalencia de fractura (%) [abs.]		
Fractura vertebral	42.5 [17]	
Fractura no vertebral ¹	17.5 [7]	
	32.5 [13]	
Ingesta de calcio (%) [abs.]		
500-1000 mg/día	60 [24]	
<500 mg/día	40 [16]	

¹ Fractura no vertebral: incluye fractura de cadera, húmero, tercio distal de radio, tibia y costal.

DE: Desviación Estándar; abs.: Valor absoluto; OC: Osteocalcina; ucOC: Osteocalcina infracarboxilada; CTX: Telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo I; PTHi: Hormona paratiroidea intacta; Ca: Calcio corregido por albúmina; P: Fósforo; DMO: Densidad mineral ósea; CL: Columna lumbar; CF: Cuello femoral; CT: Cadera total.

Los datos para variables continuas se expresan como media \pm DE. Los datos para variables categóricas se expresan como porcentajes y valor absoluto [abs.].

En cuanto al metabolismo de la glucosa y el funcionamiento de la C β pancreática (véase Tabla 9), la HbA1c media fue de 5.4% \pm 0.3, el HOMA2-IR 1.12 \pm 0.51, el HOMA2-%S 107% \pm 46 y el HOMA2-%B 109% \pm 30.

Las concentraciones séricas medias de 25OHD fueron de 43 \pm 20 ng/dl (véase Tabla 9); el 12.5% presentó niveles <30 ng/ml (insuficientes). Las Tablas 11 y 12 recogen los datos correspondientes a la epidemiología descriptiva del estatus de vitamina D.

Tabla 11. Estudio descriptivo: Clasificación de las participantes según las concentraciones séricas de 25OHD (suficientes/insuficientes).

Estatus de 25OHD	%	abs.
Insuficiente (< 30 ng/ml)	12.5	[5]
Suficiente (\geq 30 ng/ml)	87.5	[35]

25OHD: 25-hidroxivitamina D; abs.: Valor absoluto.

Tabla 12. Estudio descriptivo: Percentiles de 25OHD.

VITAMINA D	Percentiles						
	5	10	25	50	75	90	95
25OHD (ng/ml)	22.96	27.50	32.30	37.20	45.87	73.50	94.34

25OHD: 25-hidroxivitamina D.

5.2. Estudio de asociación lineal

5.2.1. Relación entre las concentraciones séricas de 25OHD y el metabolismo de la glucosa:

Todas las variables analizadas siguen una distribución normal y reúnen el Criterio de Durbin-Watson.

Los resultados del modelo de Análisis de Regresión Lineal Univariante para el estudio de asociación entre las concentraciones séricas de 25OHD y los parámetros del metabolismo de la glucosa y la función de la C β se resumen en la Tabla 13.

Tabla 13. Resumen del modelo de Análisis de Regresión Lineal Univariante.

<i>Variable dependiente</i>	<i>Coefficientes no estandarizados</i>		<i>Coefficientes tipificados</i>		
	<i>B</i>	<i>Error típico</i>	<i>Beta</i>	<i>t</i>	<i>p</i>
HOMA2-IR	-,008	,004	-,313	-1,952	,059
HOMA2-%S	,886	,356	,388	2,487	,018*
HOMA2-%B	-,710	,226	-,468	-3,134	,003*
Insulina (μ U/ml)	-,065	,032	-,332	-2,050	,048*
GB (mg/dl)	,080	,074	,179	1,078	,288
HbA1c (%)	-,001	,003	-,043	-,255	,800

Variables dependientes: HOMA2-IR: Índice de Insulinorresistencia; HOMA2-%S: Índice de Insulinosensibilidad (medido en %); HOMA2-%B: Índice de β -secreción (medido en %); Insulina sérica basal (medida en μ U/ml); GB: Glucemia basal (mg/dl); HbA1c: Hemoglobina glicosilada (medida en %).

Variable independiente: 25OHD: 25-hidroxivitamina D (medida en ng/ml).

* Nivel de significación: < 0.05.

Las concentraciones séricas de 25OHD mostraron una asociación estadísticamente significativa con el HOMA2-%S ($R = 0.388$, $p = 0.018$), el HOMA2-%B ($R = -0.468$, $p = 0.003$) y los niveles séricos de insulina ($R = -0.332$, $p = 0.048$). También se encontró asociación entre los niveles de 25OHD y el HOMA2-IR con tendencia a la significación ($R = -0.313$, $p = 0.059$). Las concentraciones séricas de 25OHD no mostraron asociación con la glucemia basal (GB) ni con los niveles de HbA1c.

5.2.1.1. Asociación entre 25OHD y HOMA2-IR:

Las concentraciones séricas de 25OHD se correlacionaron con el HOMA2-IR de forma negativa con tendencia a la significación estadística ($R = -0.313$, $p = 0.059$). Cada incremento de 10 ng/ml en las concentraciones séricas de 25OHD se asoció a un descenso de 0.08 en el HOMA2-IR (véase Tabla 13). El 9.8% de la variabilidad del HOMA2-IR se explica por los niveles de 25OHD (Figura 18).

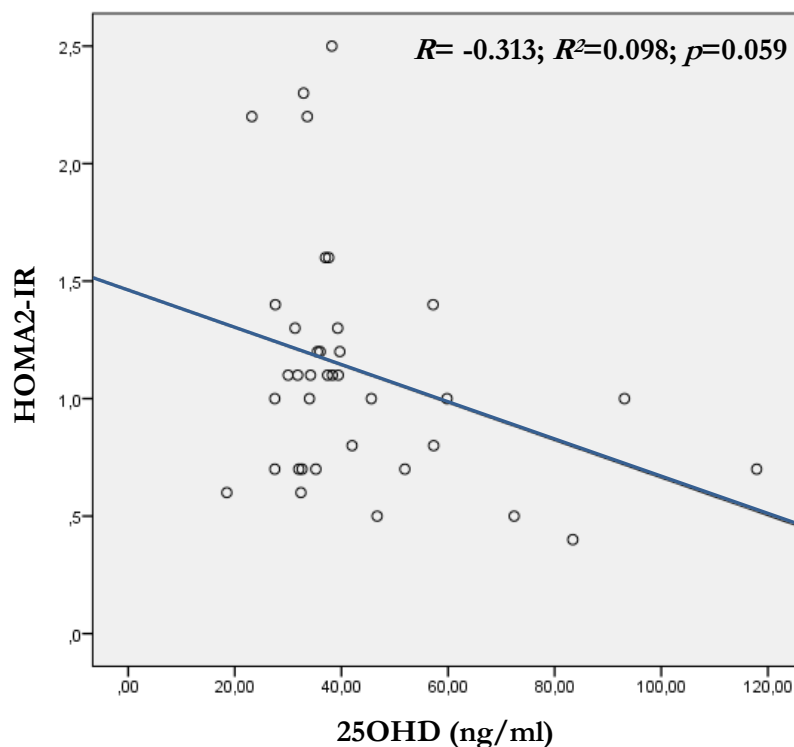


Fig. 18. Asociación lineal entre 25OHD y HOMA2-IR.

HOMA2-IR: Índice de Insulinorresistencia; 25OHD: 25-hidroxivitamina D (concentraciones séricas en ng/ml).

5.2.1.2. Asociación entre 25OHD y HOMA2-%S:

Las concentraciones séricas de 25OHD se correlacionaron con el HOMA2-%S de forma positiva estadísticamente significativa ($R = 0.388$, $p = 0.018$). Cada incremento de 10 ng/ml en las concentraciones séricas de 25OHD se asoció a un incremento de 8.86% del HOMA2-%S (véase Tabla 13). El 15% de la variabilidad del HOMA2-%S se explica por los niveles de 25OHD (Figura 19).

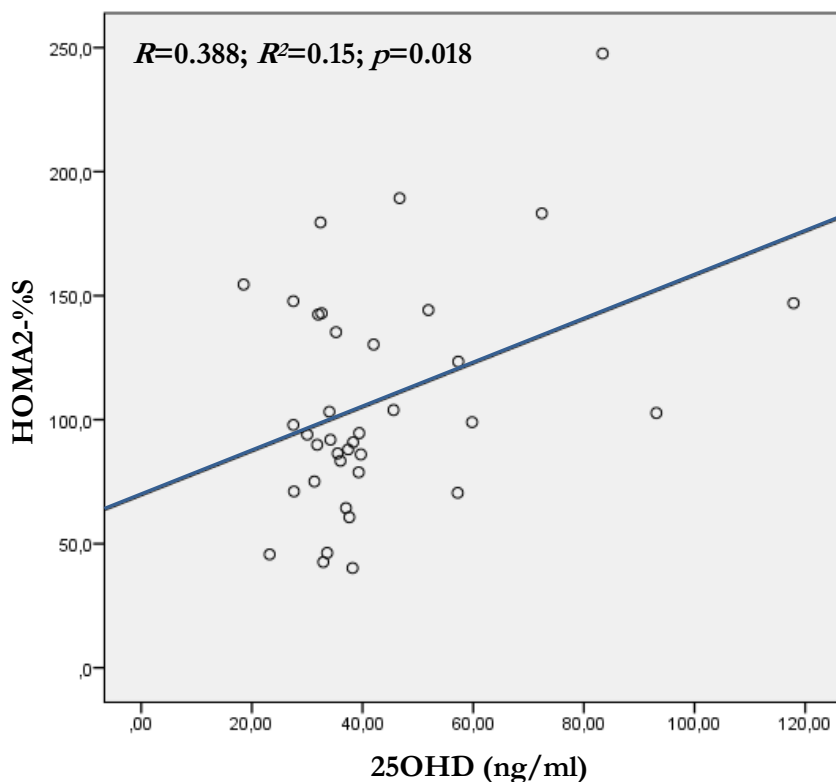


Fig. 19. Asociación lineal entre 25OHD y HOMA2-%S.

HOMA2-%S: Índice de Insulinosensibilidad; 25OHD: 25-hidroxivitamina D (concentraciones séricas en ng/ml).

5.2.1.3. Asociación entre 25OHD y HOMA2-%B:

Las concentraciones séricas de 25OHD se correlacionaron con el HOMA2-%B de forma negativa estadísticamente significativa ($R = -0.468$, $p = 0.003$). Cada incremento de 10 ng/ml en las concentraciones séricas de 25OHD se asoció a una disminución de 7.10% del HOMA2-%B (véase Tabla 13). El 21.9% de la variabilidad el HOMA2-%B se explica por los niveles de 25OHD (Figura 20).

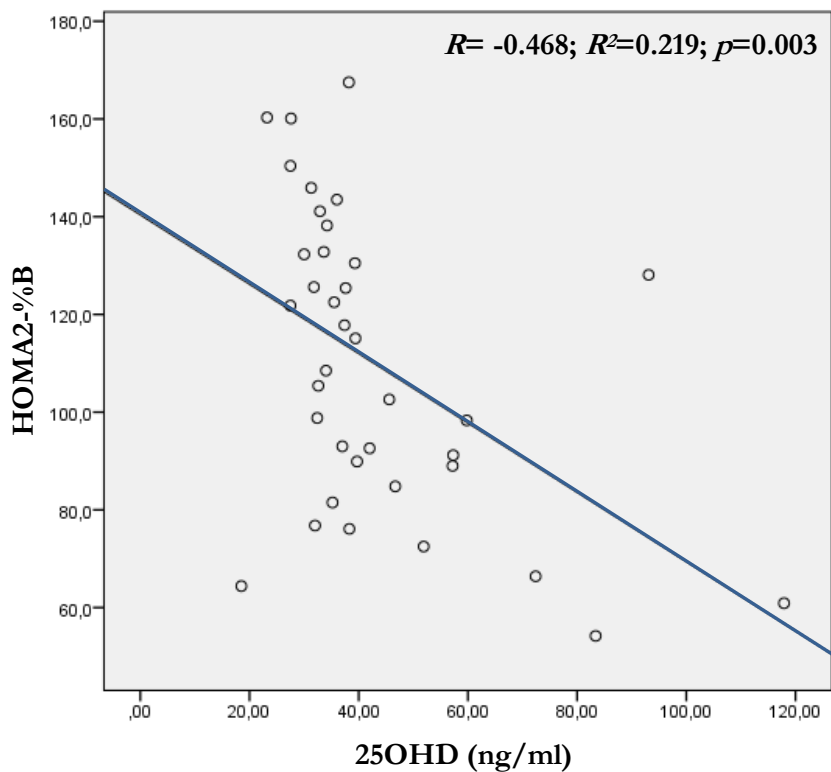


Figura 20. Asociación lineal entre 25OHD y HOMA2-%B.

HOMA2-%B: Índice de Insulinosecreción; 25OHD: 25-hidroxivitamina D (concentraciones séricas en ng/ml).

5.2.1.4. Asociación entre 25OHD e insulinemia:

Las concentraciones séricas de 25OHD se correlacionaron con los niveles séricos de insulina de forma negativa estadísticamente significativa ($R = -0.332$, $p = 0.048$). Cada incremento de 10 ng/ml en las concentraciones séricas de 25OHD se asoció a una disminución de los niveles séricos de insulina de 0.65 μ U/ml (véase Tabla 13). El 11% de la variabilidad de la insulinemia se explica por los niveles de 25OHD (Figura 21).

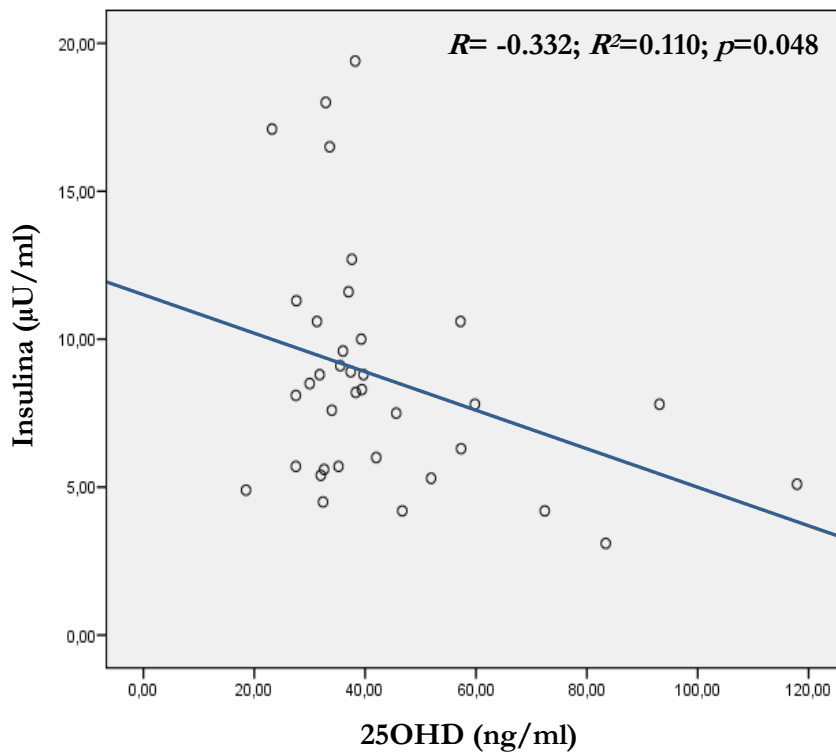


Fig. 21. Asociación lineal entre 25OHD e insulinemia.

Insulina: concentraciones séricas en $\mu\text{U/ml}$; 25OHD: 25-hidroxivitamina D (concentraciones séricas en ng/ml).

5.2.2. Relación entre las concentraciones séricas de 25OHD y la composición corporal:

El estudio de correlación no mostró asociación significativa de los niveles séricos de 25OHD con el PMG ni con el IMC (Tabla 14).

Tabla 14. Resumen del estudio de correlación entre 25OHD y composición corporal.

Variables	PMG		IMC	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
25OHD				
<i>Pearson</i>	-0.121	0.468	-0.097	0.564
<i>Spearman</i>	0.083	0.619	0.066	0.692

25OHD: 25-hidroxivitamina D (medida en ng/ml); PMG: Porcentaje de masa grasa (medido en %); IMC: Índice de masa corporal (medido en kg/m²).

* Nivel de significación: < 0.05.

5.3. Análisis de regresión lineal múltiple

Con el fin de determinar el efecto independiente de las concentraciones séricas de 25OHD sobre los parámetros del metabolismo de la glucosa y la función de la C β , se realizó un análisis multivariante con ajuste por otros factores que se han relacionado con la homeostasis de la glucosa. Se consideraron variables clínicas (edad), antropométricas (IMC y PMG) y analíticas (ucOC).

Los resultados del modelo de Análisis de Regresión Lineal Múltiple se resumen en la Tabla 15. Tras ajustar por las variables introducidas, las concentraciones séricas de 25OHD se comportaron como un factor independiente directamente relacionado con el HOMA2-%S ($R = 0.368$, $p = 0.029$), e inversamente relacionado con el HOMA2-IR ($R = -0.314$, $p = 0.073$), el HOMA2-%B ($R = -0.498$, $p = 0.005$) y los niveles séricos de insulina ($R = -0.332$, $p = 0.061$). El PMG también se comportó como un factor independiente directamente relacionado con el HOMA2-IR ($R = 0.648$, $p = 0.077$) y la insulinemia ($R = 0.627$, $p = 0.078$), e inversamente relacionado con el HOMA2-%S ($R = -0.687$, $p = 0.050$). La edad, el IMC y la ucOC no mostraron asociación con los parámetros del metabolismo de la glucosa y la función de la C β estudiados en el análisis multivariante.

Tabla 15. Resumen del modelo de Análisis de Regresión Lineal Múltiple.

<i>Variable dependiente</i>	<i>Coefficientes no estandarizados</i>		<i>Coefficientes tipificados</i>		
	<i>B</i>	<i>Error típico</i>	<i>Beta</i>	<i>t</i>	<i>p</i>
HOMA2-IR					
Edad (años)	0.004	0.011	0.059	0.320	0.751
IMC (kg/m ²)	-0.080	0.048	-0.597	-1.674	0.104
PMG (%)	0.050	0.027	0.648	1.827	0.077*
ucOC (ng/ml)	-0.004	0.008	-0.083	-0.500	0.621
25OHD(ng/ml)	-0.008	0.004	-0.314	-1.858	0.073*
HOMA2-%S					
Edad (años)	-0.422	0.931	-0.079	-0.454	0.653
IMC (kg/m ²)	6.267	4.049	0.524	1.548	0.132
PMG (%)	-4.738	2.327	-0.687	-2.036	0.050*
ucOC (ng/ml)	-0.099	0.703	-0.022	-0.140	0.889
25OHD(ng/ml)	0.842	0.366	0.368	2.297	0.029*
HOMA2-%B					
Edad (años)	0.301	0.631	0.085	0.477	0.637
IMC (kg/m ²)	-1.446	2.744	-0.182	-0.527	0.602
PMG (%)	0.580	1.576	0.127	0.368	0.716
ucOC (ng/ml)	-0.284	0.476	-0.096	-0.596	0.555
25OHD(ng/ml)	-0.755	0.248	-0.498	-3.042	0.005*
Insulina					
Edad (años)	0.036	0.085	0.077	0.420	0.677
IMC (kg/m ²)	-0.641	0.368	-0.601	-1.741	0.092
PMG (%)	0.395	0.217	0.627	1.822	0.078*
ucOC (ng/ml)	-0.032	0.064	-0.083	-0.498	0.622
25OHD(ng/ml)	-0.065	0.033	-0.332	-1.945	0.061*

VARIABLES dependientes: HOMA2-IR: Índice de Insulinorresistencia; HOMA2-%S: Índice de Insulinosensibilidad; HOMA2-%B: Índice de β -secreción; Insulina sérica basal (medida en μ U/ml).

VARIABLES independientes: Edad; IMC: Índice de masa corporal (medido en kg/m²); PMG: Porcentaje de masa grasa (medido en %); ucOC: Osteocalcina infracarboxilada (medida en ng/ml); 25OHD: 25-hidroxivitamina D (medida en ng/ml).

* Nivel de significación: < 0.10.

5.4. Análisis por subgrupos según concentraciones séricas de 25OHD

Se realizó un análisis por subgrupos en función del estatus de 25OHD con el objetivo de evaluar las diferencias en cuanto a los parámetros del metabolismo de la glucosa y la función de la C β estudiados (HOMA2-IR, HOMA2-%S, HOMA2-%B, insulina, GB y HbA1c), la composición corporal (PMG) y el IMC.

5.4.1. Análisis según estatus de 25OHD insuficiente/suficiente:

Se dividió la muestra en dos subgrupos según concentraciones séricas de 25OHD insuficientes (<30 ng/ml) o suficientes (\geq 30 ng/ml) (véase Tabla 11, Capítulo 5.1). No se encontraron diferencias significativas en los parámetros del metabolismo de la glucosa, el PMG ni el IMC (Tabla 16). Sin embargo, se observó una HbA1c más baja en el grupo con niveles de 25OHD \geq 30 ng/ml con tendencia a la significación estadística ($p = 0.062$).

Tabla 16. Análisis comparativo según estatus de 25OHD insuficiente/suficiente.

Variables	<30 ng/ml ($n = 5$)	\geq 30 ng/ml ($n = 35$)	p
HOMA2-IR	1.18 \pm 0.65	1.10 \pm 0.50	0.964
HOMA2-%S	103.4 \pm 47.4	108 \pm 46.5	0.965
HOMA2-%B	131.4 \pm 40.6	106.5 \pm 27.9	0.120
Insulina	9.4 \pm 4.9	8.5 \pm 3.9	0.819
GB	82 \pm 11	87 \pm 8	0.352
HbA1c	5.7 \pm 0.08	5.4 \pm 0.3	0.062
PMG	38.2 \pm 3.5	33.3 \pm 7.1	0.171
IMC	27.5 \pm 3.3	25.1 \pm 3.9	0.135

HOMA2-IR: Índice de Insulinorresistencia; HOMA2-%S: Índice de Insulinosensibilidad (medido en %); HOMA2-%B: Índice de β -secreción (medido en %); Insulina sérica basal (medida en μ U/ml); GB: Glucemia basal (mg/dl); HbA1c: Hemoglobina glicosilada (medida en %); PMG: Porcentaje de masa grasa (medido en %); IMC: Índice de masa corporal (medido en kg/m²).
Datos para variables continuas expresados en medias \pm DE.

* Prueba de Mann–Whitney. Nivel de significación: < 0.05.

5.4.2. Análisis según percentiles de 25OHD:

Con el objetivo de identificar la concentración sérica de 25OHD determinante de la presencia de diferencias significativas en la homeostasis de la glucosa en nuestra población de estudio, se dividió la muestra en subgrupos según percentiles de 25OHD (véase Tabla 12, Capítulo 5.1.). Se realizó un análisis comparativo según el percentil 50 (p50) y el percentil 75 (p75). Los resultados se resumen en la Tabla 17.

Tabla 17. Análisis comparativo según p50 y p75 de 25OHD.

Variables	p50			p75		
	< 37 ng/ml (n=18)	≥ 37 ng/ml (n=22)	p	< 45 ng/ml (n=28)	≥ 45 ng/ml (n=12)	p
HOMA2-IR	1.17±0.54	1.06±0.49	0.680	1.22±0.52	0.77±0.31	0.009*
HOMA2-%S	101.6±40.3	112.8±51.2	0.627	95.2±36.1	145.2±54.6	0.010*
HOMA2-%B	122.7±28.2	97.6±27.9	0.008*	118.5±27.7	82.8±22.5	0.002*
Insulina	9.2±4.3	8.2±3.7	0.516	9.5±4.0	6.0±2.3	0.008*
GB	83.5±8.6	90.4±7.9	0.018*	86.3±9.1	89.5±8.1	0.311
HbA1c	5.4±0.3	5.5±0.2	0.802	5.49±0.30	5.45±0.29	0.594
PMG	32.8±6.4	34.7±7.4	0.201	34.2±6.1	32.9±9.0	0.976
IMC	24.4±3.7	26.3±3.9	0.128	25.4±3.7	25.6±4.5	0.964

HOMA2-IR: Índice de Insulinorresistencia; HOMA2-%S: Índice de Insulinosensibilidad (medido en %); HOMA2-%B: Índice de β-secreción (medido en %); Insulina sérica basal (medida en μU/ml); GB: Glucemia basal (mg/dl); HbA1c: Hemoglobina glicosilada (medida en %); PMG: Porcentaje de masa grasa (medido en %); IMC: Índice de masa corporal (medido en kg/m²).
 Datos para variables continuas expresados en medias ± DE.

* Prueba de Mann–Whitney. Nivel de significación: < 0.05.

Se identificaron diferencias estadísticamente significativas en el HOMA2-%B y en la GB en función del p50 de 25OHD (37 ng/ml). Sin embargo, el grupo de pacientes con concentraciones séricas de 25OHD \geq p75 (\geq 45 ng/ml) mostró un perfil de homeostasis de la glucosa significativamente más favorable frente al grupo con concentraciones de 25OHD <45 ng/dl: menor HOMA2-IR ($p = 0.009$) (Figura 22.A), mayor HOMA2-%S ($p = 0.010$) (Figura 22.B), menor HOMA2-%B ($p = 0.002$) (Figura 22.C), y menor insulinemia ($p = 0.008$) (Figura 22.D). No se encontraron diferencias significativas en el resto de parámetros del metabolismo de la glucosa, ni tampoco en el PMG ni en el IMC.

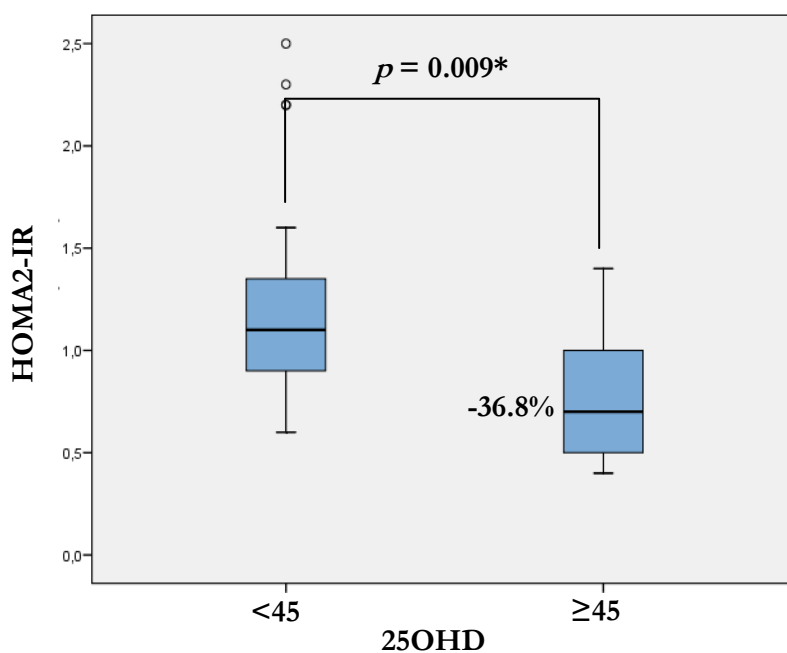


Fig. 22.A. Diagrama de cajas: HOMA2-IR en función del p75 de 25OHD.

HOMA2-IR: Índice de Insulinorresistencia; 25OHD: 25-hidroxivitamina D (concentraciones séricas en ng/ml).

* Prueba de Mann–Whitney. Nivel de significación: < 0.05.

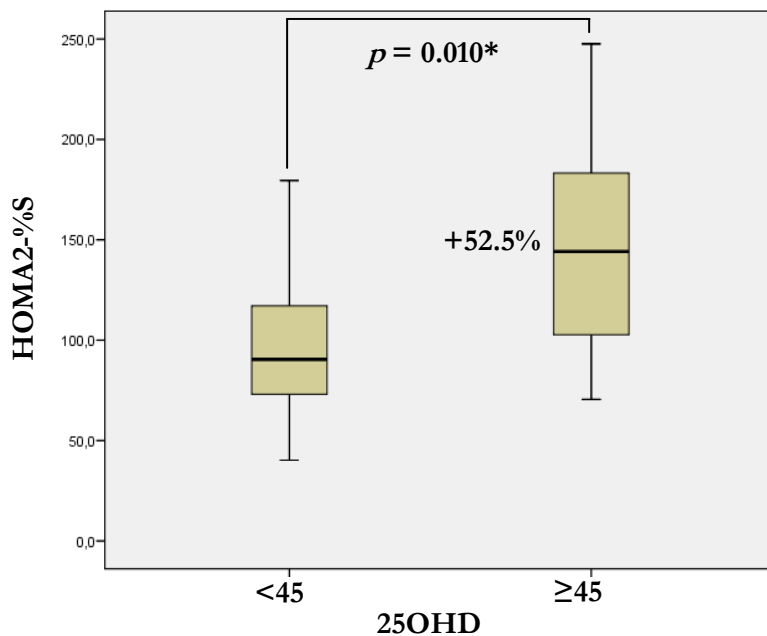


Fig. 22.B. Diagrama de cajas: HOMA2-%S en función del p75 de 25OHD.
 HOMA2-%S: Índice de Insulinosenbilidad (%); 25OHD: 25-hidroxivitamina D (concentraciones séricas en ng/ml).

* Prueba de Mann–Whitney. Nivel de significación: < 0.05.

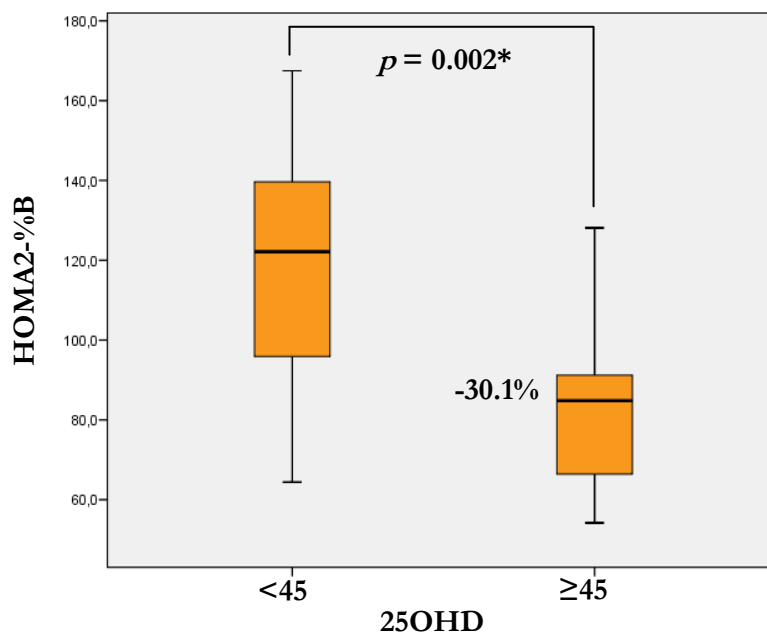


Fig. 22.C. Diagrama de cajas: HOMA2-%B en función del p75 de 25OHD.
 HOMA2-%B: Índice de Insulinosecreción (%); 25OHD: 25-hidroxivitamina D (concentraciones séricas en ng/ml).

* Prueba de Mann–Whitney. Nivel de significación: < 0.05.

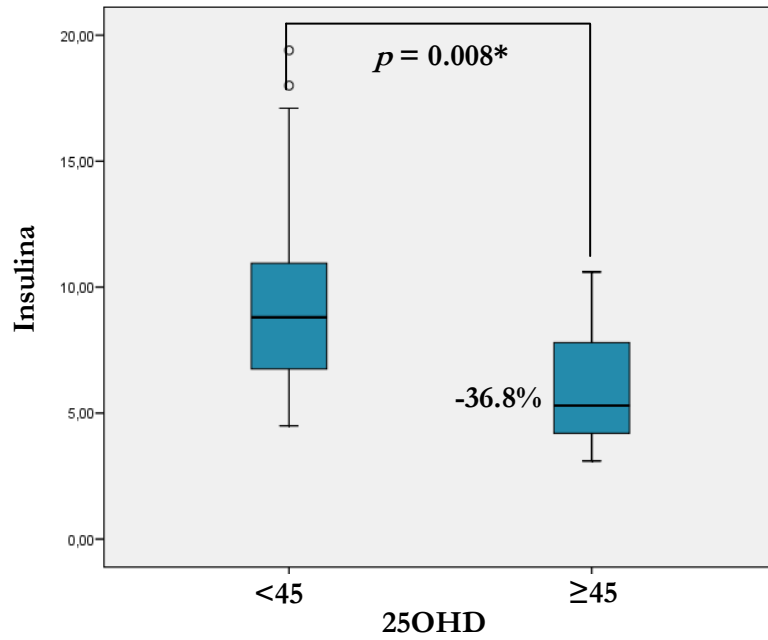


Fig. 22.D. Diagrama de cajas: Insulinemia en función del p75 de 25OHD.

Insulina sérica basal (medida en $\mu\text{U/ml}$); 25OHD: 25-hidroxivitamina D (concentraciones séricas en ng/ml).

* Prueba de Mann–Whitney. Nivel de significación: < 0.05 .

5.5. Relación entre 25OHD, homeostasis de la glucosa y riesgo de fractura

Se evaluó la relación de las concentraciones séricas de 25OHD y los parámetros del metabolismo de la glucosa con el riesgo absoluto de fractura a 10 años según la herramienta FRAX (índice FRAX).

Los resultados del estudio de correlación se resumen en la Tabla 18. No se encontró asociación entre las concentraciones séricas de 25OHD y el índice FRAX. Sin embargo, el estudio de correlación mostró una asociación positiva estadísticamente significativa entre la HbA1c y el índice FRAX para fractura osteoporótica principal (Figura 23). El resto de parámetros del metabolismo de la glucosa no se correlacionaron con el riesgo de fractura según la herramienta FRAX.

Tabla 18. Resumen del estudio de correlación de las concentraciones de 25OHD y los parámetros del metabolismo de la glucosa con el índice FRAX.

Variables	Probabilidad de fractura osteoporótica principal (%)		Probabilidad de fractura de cadera (%)	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
25OHD	0.013	0.940	0.145	0.386
HOMA2-IR	-0.025	0.884	-0.062	0.715
HOMA2-%S	0.023	0.894	0.043	0.801
HOMA2-%B	-0.048	0.779	-0.012	0.942
Insulina	-0.007	0.967	-0.031	0.859
GB	0.146	0.380	-0.042	0.804
HbA1c	0.434*	0.006*	0.229	0.167

25OHD: 25-hidroxivitamina D (medida en ng/ml); HOMA2-IR: Índice de Insulinorresistencia; HOMA2-%S: Índice de Insulinosensibilidad (medido en %); HOMA2-%B: Índice de β -secreción (medido en %); Insulina sérica basal (medida en μ U/ml); GB: Glucemia basal (mg/dl); HbA1c: Hemoglobina glicosilada (medida en %); Probabilidad de fractura = Índice FRAX.

* Test de correlación de Spearman. Nivel de significación: < 0.05.

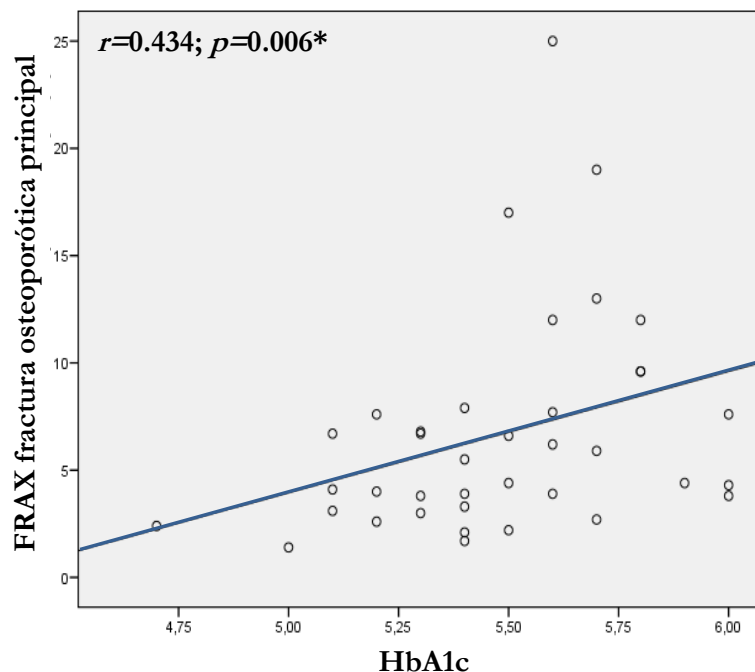


Fig. 23. Asociación entre HbA1c e Índice FRAX para fractura osteoporótica principal.

Variable dependiente: Índice FRAX para fractura osteoporótica principal: Riesgo absoluto de fractura a 10 años (medido en %).

Variable independiente: HbA1c: Hemoglobina glicosilada (medida en %).

* Test de correlación de Spearman. Nivel de significación: < 0.05 .

El modelo de Análisis de Regresión Lineal Múltiple ajustado por las concentraciones séricas de 25OHD y el resto de parámetros del metabolismo de la glucosa (HOMA2-IR, HOMA2-%S HOMA2-%B, insulina, GB y HbA1c), demostró que la HbA1c era la única variable relacionada con el riesgo absoluto de fractura osteoporótica principal medido con el índice FRAX ($B = 8.788$, $R = 0.507$, $p = 0.016$) (Tabla 19).

Tabla 19. Resumen del modelo de Análisis de Regresión Lineal Múltiple para el Índice FRAX.

Variable dependiente	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados		<i>t</i>	<i>p</i>
	<i>B</i>	Error típico	<i>Beta</i>			
FRAX fractura principal						
25OHD	0.042	0.050	0.164	0.835	0.414	
HOMA2-IR	-48.758	29.119	-4.915	-1.674	0.106	
HOMA2-%S	-0.040	0.064	-0.363	-0.632	0.533	
HOMA2-%B	0.038	0.234	0.219	0.164	0.871	
Insulina	-8.203	17.387	-1.581	-0.472	0.641	
GB	0.312	0.610	0.535	0.511	0.614	
HbA1c	8.788	3.407	0.507	2.579	0.016*	

Variable dependiente: Índice FRAX para fractura osteoporótica principal (medido en %).

Variables independientes: 25OHD: 25-hidroxivitamina D (medida en ng/ml), HOMA2-IR: Índice de Insulinorresistencia; HOMA2-%S: Índice de Insulinosensibilidad; HOMA2-%B: Índice de β -secreción; Insulina sérica basal (medida en μ U/ml); GB: Glucemia basal (mg/dl); HbA1c: Hemoglobina glicosilada (medida en %).

* Nivel de significación: < 0.10.

6. DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

6.1. Discusión general

La posmenopausia es una etapa fisiológica aunque crítica en la vida de la mujer que va asociada a un aumento de la fragilidad ósea y del riesgo cardiovascular (95,136,180). Fragilidad ósea y ECV clásicamente se han considerado como procesos independientes, sin embargo, cada vez existen más evidencias que los relacionan (141–143,146–148).

La DM2, el SM y la OPPM constituyen grandes problemas de salud pública a nivel mundial por su alta y creciente prevalencia. Los estudios realizados en población general han implicado a la vitamina D en la fisiopatología de la DM2 y el SM por sus efectos sobre la homeostasis de la glucosa (13,37,55–57,94). Sin embargo, la importancia de la relación entre la vitamina D y la resistencia a la insulina en mujeres con OPPM no ha sido evaluada en profundidad.

Los resultados de nuestro estudio demuestran la relación existente entre los niveles séricos de 25OHD y la homeostasis de la glucosa en nuestra población de mujeres “sanas” con OPPM. Las concentraciones séricas de 25OHD mostraron una asociación inversa con el HOMA2-IR, el HOMA2-%B y la insulinemia, y una asociación positiva con el HOMA2-%S. Esta asociación significativa fue independiente de otros factores como la edad, el IMC, el PMG y la ucOC.

A pesar de que uno de los “efectos antidiabéticos” descritos de la vitamina D se debe al estímulo de la secreción de insulina por las C β pancreáticas, donde el VDR está expresado (66,67), nuestros resultados relacionaron un mejor estatus de vitamina D con un menor índice de insulinosecreción (HOMA2-%B) y una menor insulinemia. Esto podría explicarse por la mejora de la sensibilidad a la insulina (HOMA2-%S) o, lo que es lo mismo, la disminución de la resistencia a la insulina que se traduciría en unos menores requerimientos de insulina para conseguir un

mismo efecto. De este modo, la vitamina D se comportaría como un factor protector frente al hiperinsulinismo y al agotamiento de las C β pancreáticas.

Se han propuesto varios mecanismos por los cuales la vitamina D es capaz de mejorar la sensibilidad a la insulina (31,58,68–70), desde un incremento en la expresión de receptores insulínicos (60) hasta la modulación de la respuesta inflamatoria (66,71). Recientemente se ha descrito la implicación de la vitamina D en la modulación de la sensibilidad a la insulina en el músculo esquelético a través de FOXO1 (*Forkhead Box O1*) (181).

La DM2 se caracteriza principalmente por la resistencia a la insulina. El músculo esquelético es el responsable del 80% del consumo de glucosa; por lo tanto, juega un papel importante en la patogénesis de la resistencia a la insulina. La resistencia a la insulina a nivel del músculo esquelético constituye un defecto fisiopatológico primario en la mayoría de los pacientes con DM2. Para compensar la resistencia a la insulina y mantener la euglucemia, las C β aumentan la secreción de insulina. Esta resistencia a la insulina está presente durante varios años antes de la aparición clínica de la DM2. Cuando los niveles de insulina disminuyen debido a la disminución del número de C β y de su función, por el conocido efecto de la glucotoxicidad, la lipotoxicidad y daños acumulados por efecto del estrés oxidativo, se desarrolla la DM2.

FOXO1 constituye un regulador negativo clave en la homeostasis de la glucosa. En condiciones fisiológicas, la insulina inhibe la actividad FOXO1 a través de la activación de la vía del receptor de insulina/fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K)/proteína quinasa B (AKT). De esta manera, durante el ayuno, FOXO1 permanece activado, promoviendo la gluconeogénesis hepática y la oxidación de lípidos en el músculo esquelético, en detrimento de la oxidación de glucosa. En el estado postprandial, la actividad hepática y muscular de FOXO1 es inhibida por la insulina, que suprime la gluconeogénesis hepática y estimula la oxidación de la glucosa en el músculo. La sobreactivación sostenida de FOXO1 juega un papel crítico en la patogénesis de la resistencia a la insulina. De este modo, el aumento de

la actividad de FOXO1 por sobreexpresión y/o exceso de translocación nuclear en el músculo esquelético conduce a resistencia a la insulina. Estudios realizados con modelos animales VDR^{-/-} en sus células musculares, así como estudios in vitro sobre cultivos de células de músculo esquelético (181), han demostrado el papel de la vitamina D en la regulación de la activación de FOXO1 y su implicación en la génesis de la resistencia a la insulina. La deficiencia o ausencia de señalización de la vitamina D a través de su VDR favorece la activación FOXO1 en el músculo esquelético, lo que conduce a resistencia a la insulina e intolerancia a la glucosa, constituyendo una importante vía metabólica implicada en DM2. Así, la vitamina D constituye un regulador negativo de FOXO1 en el músculo esquelético; su déficit o ausencia supone una sobreactivación de FOXO1 que conduce a la alteración de la homeostasis de la glucosa por aumento de la resistencia a la insulina (Figura 24).

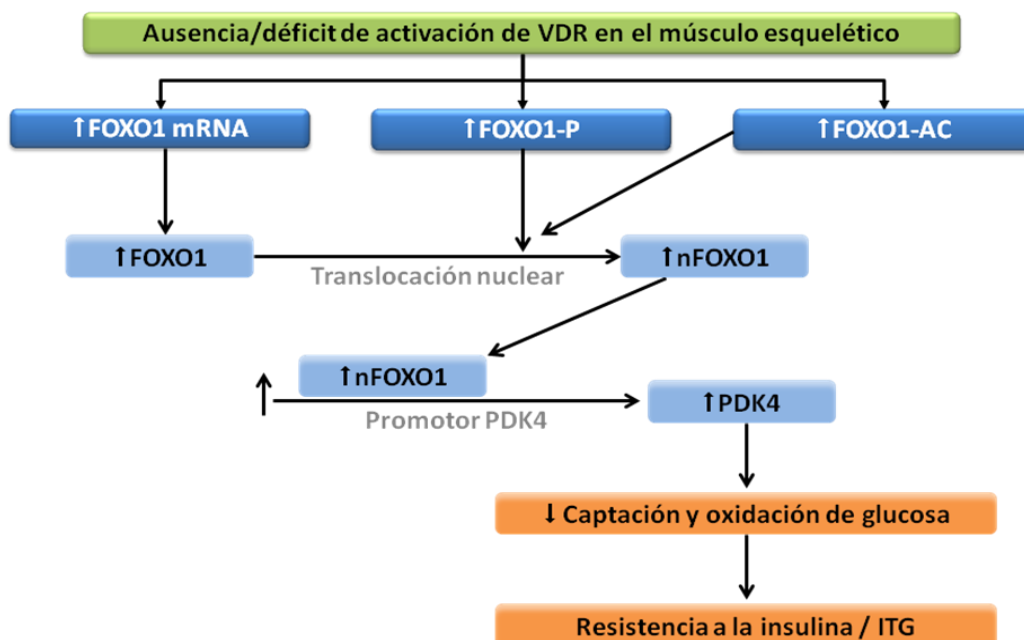


Fig. 24. Esquema del posible mecanismo de aumento de la resistencia a la insulina en el músculo esquelético por ausencia o déficit de señalización Vitamina D/VDR. Adaptado de Chen, Villalta y Agrawal (2016) (181).

VDR: Receptor de vitamina D; mRNA: RNA mensajero; FOXO1-P: FOXO1 fosforilado; FOXO1-AC: FOXO1 acetilado; nFOXO1: FOXO1 nuclear; PDK4: Piruvato deshidrogenasa quinasa 4; ITG: Intolerancia a la glucosa.

También hemos investigado la implicación de otros factores en la homeostasis de la glucosa en nuestra población de estudio. Ni la edad, ni el IMC ni los niveles séricos de ucOC se asociaron con los parámetros del metabolismo de la glucosa y la función de la C β en el análisis multivariante, lo que sugiere que el efecto de la 25OHD sobre la homeostasis de la glucosa es independiente de estos factores.

Junto a las concentraciones séricas de 25OHD, el PMG también se comportó como un factor independiente implicado en la resistencia a la insulina en nuestra población de mujeres con OPPM: mostró una asociación directa con el HOMA2-IR y con la insulinemia, y una asociación inversa con el HOMA2-%S. Es ampliamente conocido que el desarrollo de resistencia a la insulina es multifactorial. En concreto, la grasa corporal (especialmente la abdominal), la obesidad y el sobrepeso se han reconocido como predictores de resistencia a la insulina a través de la disfunción de los adipocitos (182). Las mujeres posmenopáusicas experimentan un aumento de peso y un incremento de la grasa visceral. Este último, se ha relacionado con el desarrollo de resistencia a la insulina y sus consecuencias clínicas: ITG y DM2, HTA, dislipemia y aumento de las ECV (180,183). Por lo tanto, y en consonancia con nuestros resultados, el PMG constituye un factor predictor para el desarrollo de resistencia a la insulina más importante que el IMC en mujeres posmenopáusicas.

En cuanto a la ucOC, un estudio reciente (Guedes, et al., 2018) (19) ha demostrado su efecto sobre la mejoría de la resistencia a la insulina en ratones obesos a través del aumento de la señalización de insulina del receptor PI3K/AKT en el tejido adiposo blanco, entre otros mecanismos. Sin embargo, los resultados procedentes de la investigación en humanos no son concluyentes (184–187). Algunos estudios observacionales realizados en mujeres posmenopáusicas (188–190), han relacionado los niveles de OC y de ucOC con la resistencia a la insulina y parámetros de obesidad abdominal. En nuestro estudio, realizado en mujeres con OPPM no obesas, los niveles séricos de ucOC no mostraron asociación con los parámetros del metabolismo de la glucosa y la función de la C β . Nuestros resultados

sugieren, además, que el efecto de la 25OHD sobre la homeostasis de la glucosa no está mediado por ucOC en esta población.

Sobre la relación entre vitamina D y composición corporal, las concentraciones séricas de 25OHD no se correlacionaron con el PMG ni con el IMC en nuestra población de estudio. En el análisis por subgrupos de 25OHD, tampoco se encontraron diferencias significativas en estos parámetros en función del estatus de vitamina D. Los resultados de los estudios que tratan de establecer la relación entre los niveles de 25OHD y la masa grasa corporal no son concluyentes (83–85). Una reciente revisión sistemática y metaanálisis ha señalado una relación inversa entre los niveles de 25OHD y el PMG; sin embargo, la suplementación con vitamina D3 no tuvo ningún efecto sobre el PMG (83). La mayoría de los datos de correlación existentes entre vitamina D y masa grasa corporal tienen justificación en el marco del SM (86–89,92).

En los últimos años, la relación entre vitamina D y resistencia a la insulina ha sido demostrada en numerosos estudios y diferentes grupos de población (191,192). Sin embargo, hasta la fecha ningún estudio había evaluado esta relación en mujeres no diabéticas con fragilidad ósea por OPPM. Algunos estudios de tipo longitudinal han evaluado la relación entre 25OHD y resistencia a la insulina en población general no diabética (182,193) con resultados que van en la misma línea que nuestros hallazgos. Pham et al. (2015) (182) estudiaron a una población de 5730 canadienses no diabéticos y sin insulinoresistencia (52% mujeres) con una edad media de 51 años. La mejora en el estatus de vitamina D disminuyó el riesgo de desarrollar resistencia a la insulina contribuyendo así a la prevención primaria de DM2 y ECV. Tepper et al. (2016) (193) evaluaron el efecto de la suplementación con vitamina D sobre la homeostasis de la glucosa mediante un ECA doble ciego controlado con placebo, de 12 meses de duración, en 130 varones sanos (edad 20-65 años) con déficit o insuficiencia de vitamina D. La suplementación con vitamina D mantuvo estables los niveles séricos de insulina y el HOMA-IR frente al aumento observado en el grupo control. Por el contrario, los ECA llevados a cabo en población con prediabetes (194) o con DM2 establecida (73,74), no han demostrado

que la mejoría del estatus de vitamina D prevenga la progresión hacia DM2, en el primer caso, o mejore el control glucémico en el segundo. Jorde et al. (2016) (194) llevaron a cabo un ECA controlado con placebo entre los años 2008-2015, con el objetivo de evaluar si la suplementación con 20000 UI semanales de vitamina D3 prevenía la progresión a DM2 en 511 sujetos con prediabetes (314 varones). Los autores concluyeron que la suplementación con vitamina D en sujetos sin deficiencia no evitó la progresión de prediabetes a DM2. Por otro lado, el ensayo clínico SUNNY-Trial (Krul-Poel, et al., 2015) (73), de seis meses de duración y realizado en 275 pacientes adultos con DM2 (60% varones), no encontró mejoría del control glucémico con la administración de dosis altas intermitentes de suplementos de vitamina D3 (50000 UI/mes). En el recientemente publicado DDM2-Study (Angellotti, et al., 2018) (74), la suplementación con 4000 UI/día de vitamina D3 durante 48 semanas, no modificó la tasa de secreción de insulina ni la HbA1c en 127 pacientes con DM2 bien controlada con metformina.

Estas evidencias junto con nuestros hallazgos, sugieren que los efectos beneficiosos de la vitamina D podrían estar restringidos a un período de tiempo concreto clave para la prevención del desarrollo de DM2, pero no para el tratamiento de la resistencia a la insulina en la DM2 establecida. De este modo, los sujetos con alto riesgo de DM2 y de ECV, pero sin alteraciones establecidas en el metabolismo de la glucosa, como es nuestra población de mujeres con OPPM, podría constituir una atractiva población diana para el uso de la suplementación con vitamina D con el objetivo de prevenir el desarrollo de resistencia a la insulina y disminuir el riesgo cardiovascular.

En cuanto al estatus óptimo de vitamina D, la mayoría de las sociedades científicas consideran que los depósitos de vitamina D son suficientes para mantener una adecuada salud ósea si la concentración sérica de 25OHD está por encima de 30 ng/ml y deficientes si está por debajo de 20 ng/ml (5,123,124,140). Sin embargo, no se conoce cuál sería el valor óptimo deseable para conseguir los beneficios de la vitamina D sobre la homeostasis de la glucosa y la salud cardiovascular. En nuestra población de estudio no se encontraron diferencias

significativas en cuanto a los parámetros del metabolismo de la glucosa y la función de la C β según el estatus de 25OHD establecido como insuficiente (<30 ng/ml) o suficiente (\geq 30 ng/ml).

Con el objetivo de identificar la concentración óptima de 25OHD capaz de influir positivamente sobre la homeostasis de la glucosa en nuestra población de mujeres con OPPM, se realizó un análisis por subgrupos en función de los percentiles más altos de 25OHD (p50 = 37 ng/ml y p75 = 45 ng/ml). Se identificaron diferencias estadísticamente significativas en el HOMA2-%B y en la GB en función del p50 de 25OHD: menor índice HOMA2-%B y mayor cifra de GB, esta última dentro del rango de normalidad y sin relevancia clínica, en las pacientes con concentraciones séricas de 25OHD \geq 37 ng/ml frente a aquellas con 25OHD <37 ng/ml. Sin embargo, el grupo de pacientes con concentraciones séricas de 25OHD \geq p75 mostró un perfil de homeostasis de la glucosa significativamente más favorable. Las pacientes con concentraciones séricas de 25OHD \geq 45 ng/ml presentaron una reducción del HOMA2-IR del 36.8% (véase Figura 22.A), un incremento del HOMA2-%S del 52.5% (véase Figura 22.B), una disminución del HOMA2-%B del 30.1% (véase Figura 22.C) y una disminución de la insulinemia del 36.8% (véase Figura 22.D). Estos datos ponen de manifiesto un perfil de homeostasis de la glucosa y una función de la C β pancreática significativamente más favorable en pacientes con concentraciones de séricas de 25OHD \geq 45 ng/ml frente a aquellas con concentraciones de 25OHD <45 ng/ml en nuestra población de estudio.

Hasta el momento, son escasos los datos publicados acerca de la concentración óptima de 25OHD capaz de reducir el riesgo de desarrollar resistencia a la insulina, DM2 y complicaciones cardiovasculares. En un estudio realizado en mujeres posmenopáusicas de diferentes razas con sobrepeso y obesidad, un valor de 25OHD \geq 26 ng/ml se relacionó con una homeostasis glucídica normal (195). Esta discrepancia en la concentración de 25OHD frente a nuestros resultados podría atribuirse a que el estudio incluyó a mujeres no osteoporóticas de diferentes grupos humanos. Muy recientemente se han publicado algunos estudios que van en

la línea de nuestros hallazgos (196,197). Esteghamati et al. (2015) (196) realizaron un estudio de casos y controles que incluía participantes con DM2, prediabéticos y controles sanos. Los individuos sanos con concentraciones séricas de 25OHD <20 ng/ml mostraron un aumento significativo del HOMA-IR, de la HbA1c y de la GB, frente a aquellos con concentraciones de 25OHD >40 ng/ml. En los sujetos no diabéticos, la deficiencia de vitamina D también se asoció con resistencia a la insulina independientemente de la obesidad. En los pacientes con DM2, se encontraron además diferencias de género en la asociación entre la 25OHD y la homeostasis de la glucosa (196). Por otro lado, Park et al. (2018) (197) han publicado los resultados de un estudio de cohortes prospectivo con 903 adultos sin diabetes ni prediabetes, que fueron evaluados entre 1977 y 1979. Se determinó la incidencia de diabetes y de prediabetes en dicha cohorte entre 1997 y 2009. Las concentraciones de 25OHD >30 ng/ml se asociaron con menores HR de diabetes: 30-39 ng/ml, HR = 0.31, 95% IC [0.14-0.70]; 40-49 ng/ml, HR = 0.29, 95% IC [0.12-0.68]; >50 ng/ml, HR = 0.19, 95% IC [0.06-0.56]. Hubo un gradiente inverso dosis-respuesta entre la concentración de 25OHD y el riesgo de diabetes ($p = 0.005$): cada incremento de 10 ng/ml en la concentración de 25OHD se asoció con una HR de 0.64, 95% IC [0.48-0.86] (197).

En vista de nuestros resultados y las recientes evidencias que los respaldan, podría considerarse que el objetivo de 25OHD ≥ 30 ng/ml es insuficiente para obtener beneficios sobre la salud cardiovascular. Sugerimos que el valor óptimo de 25OHD en mujeres con OPPM y sin alteraciones establecidas en el metabolismo de la glucosa podría ser ≥ 45 ng/ml, pues se asocia con una disminución de la resistencia a la insulina.

Por último, se ha evaluado la relación entre la homeostasis de la glucosa y la fragilidad ósea en nuestra población de mujeres con OPPM no diabéticas. Los niveles de HbA1c se comportaron como un factor independiente directamente relacionado con el índice FRAX para fractura osteoporótica principal. Las concentraciones séricas de 25OHD y el resto de parámetros del metabolismo de la glucosa no se asociaron con el riesgo absoluto de fractura a 10 años medido por el

índice FRAX. De acuerdo con la reciente evidencia científica que relaciona el metabolismo de la glucosa con la fragilidad ósea y el riesgo de fractura (148,149), en nuestra población de estudio, a pesar de tratarse de mujeres con OPPM no diabéticas, la relación directa e independiente entre los niveles de HbA1c y el riesgo de fractura, podrían ser el resultado del efecto negativo del estrés oxidativo y la acumulación de productos avanzados de la glicación sobre la homeostasis ósea desde etapas muy precoces (149).

En conclusión, los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral ponen de manifiesto la relación de la vitamina D con la homeostasis de la glucosa y la función de la C β pancreática en una población de mujeres posmenopáusicas con fragilidad ósea no estudiada hasta la fecha. El estatus de vitamina D a través de su efecto sobre la resistencia a la insulina y su relación con la DM2 y el SM podría constituir un mecanismo patogénico de la enfermedad cardiovascular en esta población y, por lo tanto, podría considerarse como un potencial factor de riesgo cardiovascular modificable (Figura 25).

Los hallazgos de este trabajo abren nuevas vías de investigación para profundizar en el conocimiento de los mecanismos de acción de la vitamina D en humanos y sus efectos sobre la salud cardiovascular, con la finalidad de plantear posibles estrategias preventivas frente a la ECV.

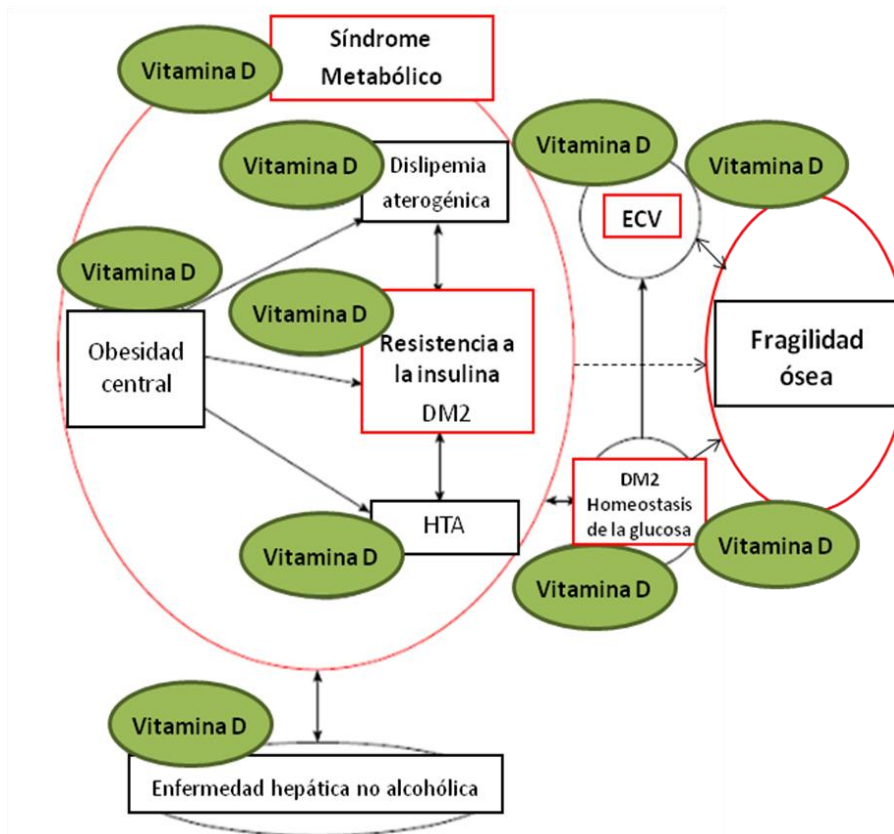


Fig. 25. Esquema representativo de las relaciones complejas entre vitamina D, síndrome metabólico, homeostasis de la glucosa y resistencia a la insulina, enfermedad cardiovascular y fragilidad ósea.

6.2. Fortalezas y limitaciones del estudio

La potencialidad de los hallazgos de este estudio radica en su impacto clínico. La consideración del estatus de vitamina D como un factor de riesgo modificable frente al desarrollo de resistencia a la insulina y sus complicaciones cardiovasculares, adquiere una mayor relevancia clínica si se tiene en cuenta el elevado número de mujeres con OPPM que reciben suplementación con vitamina D de forma habitual. La optimización de las concentraciones de 25OHD a objetivos de salud cardiovascular más allá de los objetivos de salud ósea, podría constituir una estrategia de prevención primaria frente a la DM2, el SM y la ECV en esta población.

No obstante, se trata de un estudio exploratorio y presenta algunas limitaciones. En primer lugar, la población de estudio solo incluye mujeres con

OPPM no diabéticas, de origen Caucásico y procedentes del área sur de Granada. Por lo tanto, los resultados no son extrapolables a toda la población de mujeres posmenopáusicas. En segundo lugar, el pequeño tamaño de muestra motivado por los estrictos criterios de inclusión y exclusión, limita las posibilidades del modelo de ajuste multivariante, por lo que no se puede descartar por completo la posibilidad de sesgos por posibles factores de confusión no considerados en el análisis. En tercer lugar, se trata de un estudio de corte transversal por lo que no pueden establecerse mecanismos causales ni la direccionalidad del efecto. Por último, la determinación del grado de resistencia a la insulina no se ha realizado mediante la técnica de clamp de glucosa, considerada el gold estándar, sino mediante el modelo de Homeostasis de la Glucosa (HOMA). No obstante, este modelo presenta buenas correlaciones con el clamp euglicémico y con el test de tolerancia intravenosa a la glucosa. Además, es el método más usado y publicado, lo que le confiere un valor añadido ya que permite la comparación de los resultados entre los estudios que lo han utilizado. El método HOMA tiene una ventaja adicional y es que permite valorar la funcionalidad de la C β (170).

Aunque se necesitan estudios prospectivos a largo plazo y con mayor tamaño muestral que confirmen los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral, los hallazgos de este trabajo proporcionan una información muy valiosa que permitirá plantear nuevas estrategias de prevención frente al desarrollo de resistencia a la insulina y sus complicaciones cardiovasculares.

7. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. Las concentraciones séricas de 25OHD están relacionadas con los parámetros del metabolismo de la glucosa y la funcionalidad de la célula beta pancreática en nuestra población de mujeres no diabéticas con osteoporosis posmenopáusia. Las concentraciones séricas de 25OHD presentan una asociación lineal inversa con el HOMA2-IR, el HOMA2-%B y la insulinemia, y una asociación lineal directa con el HOMA2-%S.
2. Los niveles séricos de 25OHD no están relacionados con el porcentaje de masa grasa corporal ni con el IMC en nuestra población de estudio.
3. El estatus de 25OHD constituye un factor predictor de resistencia a la insulina independiente de la edad, el IMC, el porcentaje de masa grasa y los niveles séricos de osteocalcina infracarboxilada.
4. En nuestra población, el porcentaje de masa grasa corporal constituye un factor independiente implicado en la resistencia a la insulina más importante que el IMC. El porcentaje de masa grasa se asocia de forma directa con el HOMA2-IR y con la insulinemia, y de forma inversa con el HOMA2-%S.
5. Los niveles circulantes de osteocalcina infracarboxilada no están relacionados con los parámetros del metabolismo de la glucosa y la funcionalidad de la célula beta pancreática en nuestra población.
6. Los niveles de HbA1c constituyen un factor independiente directamente relacionado con el riesgo absoluto de fractura osteoporótica principal a 10 años medido con el índice FRAX.
7. No existen diferencias en los parámetros del metabolismo de la glucosa y la funcionalidad de la célula beta de acuerdo a los criterios actuales de insuficiencia o suficiencia de 25OHD.

8. Las mujeres con concentraciones séricas de 25OHD ≥ 45 ng/ml presentan un perfil de homeostasis de la glucosa más favorable que aquellas con concentraciones séricas de 25OHD < 45 ng/ml. Sugerimos que el valor óptimo de 25OHD en mujeres con osteoporosis posmenopáusica y sin alteraciones establecidas en el metabolismo de la glucosa podría ser ≥ 45 ng/ml.
9. Este grupo de pacientes podría constituir una población diana para la suplementación con vitamina D y la optimización de las concentraciones séricas de 25OHD con el objetivo de prevenir el desarrollo de resistencia a la insulina y contribuir así a la prevención primaria de la diabetes mellitus tipo 2 y la enfermedad cardiovascular.
10. Son necesarios estudios de intervención prospectivos a largo plazo con un diseño adecuado para confirmar esta hipótesis.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Varsavsky M, Alonso G, García-Martín A. Vitamin D: present and future. *Rev Clin Esp.* 2014;214(7):396-402.
2. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007;357(3):266-81.
3. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 2004;80(6 Suppl):1678S-88S.
4. Gil A, Plaza-Díaz J, Mesa MD. Vitamin D: Classic and Novel Actions. *Ann Nutr Metab.* 2018;72(2):87-95.
5. Varsavsky M, Rozas-Moreno P, Becerra-Fernández A, Luque-Fernández I, Quesada-Gómez JM, Ávila-Rubio V, et al. Recomendaciones de vitamina D para la población general. *Endocrinol Diabetes Nutr.* 2017;64(S1):7-14.
6. Holick MF. Environmental factors that influence the cutaneous production of vitamin D. *Am J Clin Nutr.* 1995;61(3 Suppl):638S-645S.
7. Valero Zanuy M, Hawkins Carranza F. Metabolismo, fuentes endógenas y exógenas de vitamina D. *REEMO.* 2007;16(4):63-70.
8. Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005;289(1):F8-28.
9. Mizwicki MT, Norman AW. The vitamin D sterol-vitamin D receptor ensemble model offers unique insights into both genomic and rapid-response signaling. *Sci Signal.* 2009;2(75):re4.
10. Norman AW. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am J Clin Nutr.* 2008;88(2):491S-499S.
11. Verhave G, Siegert CEH. Role of vitamin D in cardiovascular disease. *Neth J Med.* 2010;68(3):113-8.
12. Pike JW, Meyer MB. The vitamin D receptor: new paradigms for the regulation of gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D(3). *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010;39(2):255-69.
13. Holick MF. Vitamin D: extraskeletal health. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010;39(2):381-400.
14. Norman AW. Minireview: vitamin D receptor: new assignments for an already busy receptor. *Endocrinology.* 2006;147(12):5542-8.

15. Messa P, Curreri M, Regalia A, Alfieri CM. Vitamin D and the cardiovascular system: an overview of the recent literature. *Am J Cardiovasc Drugs Drugs Devices Interv.* 2014;14(1):1-14.
16. Wacker M, Holick MF. Vitamin D - effects on skeletal and extraskelatal health and the need for supplementation. *Nutrients.* 2013;5(1):111-48.
17. Girgis CM, Clifton-Bligh RJ, Hamrick MW, Holick MF, Gunton JE. The roles of vitamin D in skeletal muscle: form, function, and metabolism. *Endocr Rev.* 2013;34(1):33-83.
18. García-Martín A, Reyes-García R, Ávila-Rubio V, Muñoz-Torres M. Osteocalcin: a link between bone homeostasis and energy metabolism. *Endocrinol Nutr.* 2013;60(5):260-3.
19. Guedes JAC, Esteves JV, Morais MR, Zorn TM, Furuya DT. Osteocalcin improves insulin resistance and inflammation in obese mice: Participation of white adipose tissue and bone. *Bone.* 2018;115(Oct):68-82.
20. Seibel MJ. Biochemical markers of bone remodeling. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2003;32(1):83-113.
21. Lee NK, Sowa H, Hinoi E, Ferron M, Ahn JD, Confavreux C, et al. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell.* 2007;130(3):456-69.
22. Ferron M, Hinoi E, Karsenty G, Ducy P. Osteocalcin differentially regulates beta cell and adipocyte gene expression and affects the development of metabolic diseases in wild-type mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(13):5266-70.
23. Motyl KJ, McCabe LR, Schwartz AV. Bone and glucose metabolism: a two-way street. *Arch Biochem Biophys.* 2010;503(1):2-10.
24. Ferron M, Wei J, Yoshizawa T, Del Fattore A, DePinho RA, Teti A, et al. Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism. *Cell.* 2010;142(2):296-308.
25. Ducy P. The role of osteocalcin in the endocrine cross-talk between bone remodelling and energy metabolism. *Diabetologia.* 2011;54(6):1291-7.
26. Confavreux CB. Bone: from a reservoir of minerals to a regulator of energy metabolism. *Kidney Int Suppl.* 2011;(121):S14-19.
27. Ma X, Chen F, Hong H, Lv X, Dong M, Wang Q. The Relationship between Serum Osteocalcin Concentration and Glucose and Lipid Metabolism in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus – The Role of Osteocalcin in Energy Metabolism. *Ann Nutr Metab.* 2015;66(2-3):110-6.

28. Starup-Linde J, Westberg-Rasmussen S, Lykkeboe S, Handberg A, Hartmann B, Holst JJ, et al. Glucose Tolerance Tests and Osteocalcin Responses in Healthy People. *Front Endocrinol.* 2018;9:356.
29. Torregrosa JV, Bover J, Cannata Andía J, Lorenzo V, de Francisco ALM, Martínez I, et al. Spanish Society of Nephrology recommendations for controlling mineral and bone disorder in chronic kidney disease patients (S.E.N.-M.B.D.). *Nefrologia.* 2011;31 Suppl 1:3-32.
30. Ott SM. Bone cells, sclerostin, and FGF23: what's bred in the bone will come out in the flesh. *Kidney Int.* 2015;87(3):499-501.
31. Zuluaga-Espinosa NA, Alfaro-Velásquez JM, Balthazar-González V, Jiménez-Blanco KE, Campuzano-Maya G. Vitamin D: new paradigms. *Med Lab.* 2011;17(05-06):211-46.
32. Bloomgarden ZT. The American Diabetes Association's 57th annual advanced postgraduate course: diabetes risk, vitamin D, polycystic ovary syndrome, and obstructive sleep apnea. *Diabetes Care.* 2011;34(1):e1-6.
33. Hyponen E. Vitamin D and increasing incidence of type 1 diabetes-evidence for an association? *Diabetes Obes Metab.* 2010;12(9):737-43.
34. Bae KN, Nam HK, Rhie YJ, Song DJ, Lee KH. Low levels of 25-hydroxyvitamin D in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: a single center experience. *Ann Pediatr Endocrinol Metab.* 2018;23(1):21-7.
35. Mazanova A, Shymanskyi I, Lisakovska O, Hajiyeva L, Komisarenko Y, Veliky M. Effects of Cholecalciferol on Key Components of Vitamin D-Endo/Para/Autocrine System in Experimental Type 1 Diabetes. *Int J Endocrinol.* 2018;2018:2494016.
36. Badenhoop K, Kahles H, Penna-Martínez M. Vitamin D, immune tolerance, and prevention of type 1 diabetes. *Curr Diab Rep.* 2012;12(6):635-42.
37. Takiishi T, Gysemans C, Bouillon R, Mathieu C. Vitamin D and diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010;39(2):419-46.
38. Littorin B, Blom P, Scholin A, Arnqvist HJ, Blohme G, Bolinder J, et al. Lower levels of plasma 25-hydroxyvitamin D among young adults at diagnosis of autoimmune type 1 diabetes compared with control subjects: results from the nationwide Diabetes Incidence Study in Sweden (DISS). *Diabetologia.* 2006;49(12):2847-52.
39. Sorensen IM, Joner G, Jenum PA, Eskild A, Torjesen PA, Stene LC. Maternal serum levels of 25-hydroxy-vitamin D during pregnancy and risk of type 1 diabetes in the offspring. *Diabetes.* 2012;61(1):175-8.
40. Sorensen IM, Joner G, Jenum PA, Eskild A, Brunborg C, Torjesen PA, et al. Vitamin D-binding protein and 25-hydroxyvitamin D during pregnancy in mothers whose children later developed type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.* 2016;32(8):883-90.

41. Thorsen SU, Marild K, Olsen SF, Holst KK, Tapia G, Granstrom C, et al. Lack of Association Between Maternal or Neonatal Vitamin D Status and Risk of Childhood Type 1 Diabetes: A Scandinavian Case-Cohort Study. *Am J Epidemiol*. 2018;187(6):1174-81.
42. Hypponen E, Laara E, Reunanen A, Jarvelin MR, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet Lond Engl*. 2001;358(9292):1500-3.
43. Li X, Liao L, Yan X, Huang G, Lin J, Lei M, et al. Protective effects of 1-alpha-hydroxyvitamin D3 on residual beta-cell function in patients with adult-onset latent autoimmune diabetes (LADA). *Diabetes Metab Res Rev*. 2009;25(5):411-6.
44. Sharma S, Biswal N, Bethou A, Rajappa M, Kumar S, Vinayagam V. Does Vitamin D Supplementation Improve Glycaemic Control In Children With Type 1 Diabetes Mellitus? - A Randomized Controlled Trial. *J Clin Diagn Res*. 2017;11(9):SC15-7.
45. Zipitis CS, Akobeng AK. Vitamin D supplementation in early childhood and risk of type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child*. 2008;93(6):512-7.
46. Bizzarri C, Pitocco D, Napoli N, Di Stasio E, Maggi D, Manfrini S, et al. No protective effect of calcitriol on beta-cell function in recent-onset type 1 diabetes: the IMDIAB XIII trial. *Diabetes Care*. 2010;33(9):1962-3.
47. Walter M, Kaupper T, Adler K, Foersch J, Bonifacio E, Ziegler A-G. No effect of the 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 on beta-cell residual function and insulin requirement in adults with new-onset type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2010;33(7):1443-8.
48. Baggerly CA, Cuomo RE, French CB, Garland CF, Gorham ED, Grant WB, et al. Sunlight and Vitamin D: Necessary for Public Health. *J Am Coll Nutr*. 2015;34(4):359-65.
49. Mohr SB, Garland CF, Gorham ED, Garland FC. The association between ultraviolet B irradiance, vitamin D status and incidence rates of type 1 diabetes in 51 regions worldwide. *Diabetologia*. 2008;51(8):1391-8.
50. Zella JB, McCary LC, DeLuca HF. Oral administration of 1,25-dihydroxyvitamin D3 completely protects NOD mice from insulin-dependent diabetes mellitus. *Arch Biochem Biophys*. 2003;417(1):77-80.
51. Mathieu C, Laureys J, Sobis H, Vandeputte M, Waer M, Bouillon R. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 prevents insulinitis in NOD mice. *Diabetes*. 1992;41(11):1491-5.
52. Mathieu C, Waer M, Laureys J, Rutgeerts O, Bouillon R. Prevention of autoimmune diabetes in NOD mice by 1,25 dihydroxyvitamin D3. *Diabetologia*. 1994;37(6):552-8.
53. Gregori S, Giarratana N, Smiroldo S, Uskokovic M, Adorini L. A 1alpha,25-dihydroxyvitamin D(3) analog enhances regulatory T-cells and arrests autoimmune diabetes in NOD mice. *Diabetes*. 2002;51(5):1367-74.

54. Maddaloni E, Cavallari I, Napoli N, Conte C. Vitamin D and Diabetes Mellitus. *Front Horm Res.* 2018;50:161-76.
55. Teegarden D, Donkin SS. Vitamin D: emerging new roles in insulin sensitivity. *Nutr Res Rev.* 2009;22(1):82-92.
56. Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(6):2017-29.
57. Holick MF. Diabetes and the vitamin d connection. *Curr Diab Rep.* 2008;8(5):393-8.
58. Tao S, Yuan Q, Mao L, Chen F-L, Ji F, Cui Z-H. Vitamin D deficiency causes insulin resistance by provoking oxidative stress in hepatocytes. *Oncotarget.* 2017;8(40):67605-13.
59. Mitri J, Muraru MD, Pittas AG. Vitamin D and type 2 diabetes: a systematic review. *Eur J Clin Nutr.* 2011;65(9):1005-15.
60. Song Y, Wang L, Pittas AG, Del Gobbo LC, Zhang C, Manson JE, et al. Blood 25-hydroxy vitamin D levels and incident type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective studies. *Diabetes Care.* 2013;36(5):1422-8.
61. Pittas AG, Dawson-Hughes B, Li T, Van Dam RM, Willett WC, Manson JE, et al. Vitamin D and calcium intake in relation to type 2 diabetes in women. *Diabetes Care.* 2006;29(3):650-6.
62. Deleskog A, Hilding A, Brismar K, Hamsten A, Efendic S, Ostenson C-G. Low serum 25-hydroxyvitamin D level predicts progression to type 2 diabetes in individuals with prediabetes but not with normal glucose tolerance. *Diabetologia.* 2012;55(6):1668-78.
63. Li X, Liu Y, Zheng Y, Wang P, Zhang Y. The Effect of Vitamin D Supplementation on Glycemic Control in Type 2 Diabetes Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients.* 2018;10(3).
64. Upreti V, Maitri V, Dhull P, Handa A, Prakash MS, Behl A. Effect of oral vitamin D supplementation on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus with coexisting hypovitaminosis D: A parallel group placebo controlled randomized controlled pilot study. *Diabetes Metab Syndr.* 2018;12(4):509-12.
65. Boucher BJ. Vitamin D insufficiency and diabetes risks. *Curr Drug Targets.* 2011;12(1):61-87.
66. Pilz S, Tomaschitz A, März W, Drechsler C, Ritz E, Zittermann A, et al. Vitamin D, cardiovascular disease and mortality. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2011;75(5):575-84.
67. von Hurst PR, Stonehouse W, Coad J. Vitamin D supplementation reduces insulin resistance in South Asian women living in New Zealand who are insulin resistant and

- vitamin D deficient - a randomised, placebo-controlled trial. *Br J Nutr.* 2010;103(4):549-55.
68. Belenchia AM, Tosh AK, Hillman LS, Peterson CA. Correcting vitamin D insufficiency improves insulin sensitivity in obese adolescents: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2013;97(4):774-81.
 69. Harris SS, Pittas AG, Palermo NJ. A randomized, placebo-controlled trial of vitamin D supplementation to improve glycaemia in overweight and obese African Americans. *Diabetes Obes Metab.* 2012;14(9):789-94.
 70. Holick MF. Nutrition: Diabetes and Death Defying vitamin D. *Nat Rev Endocrinol.* 2012;8(7):388-90.
 71. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr.* 2000;72(3):690-3.
 72. George PS, Pearson ER, Witham MD. Effect of vitamin D supplementation on glycaemic control and insulin resistance: a systematic review and meta-analysis. *Diabet Med.* 2012;29(8):e142-150.
 73. Krul-Poel YHM, Westra S, ten Boekel E, ter Wee MM, van Schoor NM, van Wijland H, et al. Effect of Vitamin D Supplementation on Glycemic Control in Patients With Type 2 Diabetes (SUNNY Trial): A Randomized Placebo-Controlled Trial. *Diabetes Care.* 2015;38(8):1420-6.
 74. Angellotti E, D'Alessio D, Dawson-Hughes B, Nelson J, Cohen RM, Gastaldelli A, et al. Vitamin D Supplementation in Patients With Type 2 Diabetes: The Vitamin D for Established Type 2 Diabetes (DDM2) Study. *J Endocr Soc.* 2018;2(4):310-21.
 75. Ding C, Gao D, Wilding J, Trayhurn P, Bing C. Vitamin D signalling in adipose tissue. *Br J Nutr.* 2012;108(11):1915-23.
 76. Kamycheva E, Berg V, Jorde R. Insulin-like growth factor I, growth hormone, and insulin sensitivity: the effects of a one-year cholecalciferol supplementation in middle-aged overweight and obese subjects. *Endocrine.* 2013;43(2):412-8.
 77. Yanoff LB, Parikh SJ, Spitalnik A, Denkinger B, Sebring NG, Slaughter P, et al. The prevalence of hypovitaminosis D and secondary hyperparathyroidism in obese Black Americans. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2006;64(5):523-9.
 78. Vimalaswaran KS, Berry DJ, Lu C, Tikkanen E, Pilz S, Hiraki LT, et al. Causal relationship between obesity and vitamin D status: bi-directional Mendelian randomization analysis of multiple cohorts. *PLoS Med.* 2013;10(2):e1001383.
 79. Aguirre-Castañeda R, Nader N, Weaver A, Singh R, Kumar S. Response to vitamin D3 supplementation in obese and non-obese Caucasian adolescents. *Horm Res Paediatr.* 2012;78(4):226-31.

80. Gallagher JC, Yalamanchili V, Smith LM. The effect of vitamin D supplementation on serum 25(OH)D in thin and obese women. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2013;136:195-200.
81. Danescu LG, Levy S, Levy J. Vitamin D and diabetes mellitus. *Endocrine.* 2009;35(1):11-7.
82. Bays HE, González-Campoy JM, Bray GA, Kitabchi AE, Bergman DA, Schorr AB, et al. Pathogenic potential of adipose tissue and metabolic consequences of adipocyte hypertrophy and increased visceral adiposity. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2008;6(3):343-68.
83. Golzarand M, Hollis BW, Mirmiran P, Wagner CL, Shab-Bidar S. Vitamin D supplementation and body fat mass: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Nutr.* 2018;in press.
84. Salehpour A, Hosseinpanah F, Shidfar F, Vafa M, Razaghi M, Dehghani S, et al. A 12-week double-blind randomized clinical trial of vitamin D(3) supplementation on body fat mass in healthy overweight and obese women. *Nutr J.* 2012;11:78.
85. Roosta S, Kharadmand M, Teymoori F, Birjandi M, Adine A, Falahi E. Effect of vitamin D supplementation on anthropometric indices among overweight and obese women: A double blind randomized controlled clinical trial. *Diabetes Metab Syndr.* 2018;12(4):537-41.
86. Siddiqui SMK, Chang E, Li J, Burlage C, Zou M, Buhman KK, et al. Dietary intervention with vitamin D, calcium, and whey protein reduced fat mass and increased lean mass in rats. *Nutr Res N Y N.* 2008;28(11):783-90.
87. Rosenblum JL, Castro VM, Moore CE, Kaplan LM. Calcium and vitamin D supplementation is associated with decreased abdominal visceral adipose tissue in overweight and obese adults. *Am J Clin Nutr.* 2012;95(1):101-8.
88. Fung GJ, Steffen LM, Zhou X, Harnack L, Tang W, Lutsey PL, et al. Vitamin D intake is inversely related to risk of developing metabolic syndrome in African American and white men and women over 20 y: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults study. *Am J Clin Nutr.* 2012;96(1):24-9.
89. Gagnon C, Lu ZX, Magliano DJ, Dunstan DW, Shaw JE, Zimmet PZ, et al. Low serum 25-hydroxyvitamin D is associated with increased risk of the development of the metabolic syndrome at five years: results from a national, population-based prospective study (The Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle Study: AusDiab). *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(6):1953-61.
90. Beilfuss J, Berg V, Sneve M, Jorde R, Kamycheva E. Effects of a 1-year supplementation with cholecalciferol on interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha and insulin resistance in overweight and obese subjects. *Cytokine.* 2012;60(3):870-4.

91. Primeau V, Coderre L, Karelis AD, Brochu M, Lavoie M-E, Messier V, et al. Characterizing the profile of obese patients who are metabolically healthy. *Int J Obes*. 2011;35(7):971-81.
92. Al-Khalidi B, Kimball SM, Kuk JL, Ardern CI. Metabolically healthy obesity, vitamin D, and all-cause and cardiometabolic mortality risk in NHANES III. *Clin Nutr Edinb Scotl*. 2018;In Press.
93. Miñambres I, de Leiva A, Pérez A. Hypovitaminosis D and metabolic syndrome. *Med Clin (Barc)*. 2014;143(12):542-7.
94. Strange RC, Shipman KE, Ramachandran S. Metabolic syndrome: A review of the role of vitamin D in mediating susceptibility and outcome. *World J Diabetes*. 2015;6(7):896-911.
95. Martínez-Larrad MT, Corbatón-Anchuelo A, Fernández-Pérez C, Lazcano-Redondo Y, Escobar-Jiménez F, Serrano-Ríos M. Metabolic syndrome, glucose tolerance categories and the cardiovascular risk in Spanish population. *Diabetes Res Clin Pract*. 2016;114:23-31.
96. Chillarón JJ, Goday A, Pedro-Botet J. Metabolic syndrome, type 1 diabetes mellitus and insulin resistance. *Med Clin (Barc)*. 2008;130(12):466-70.
97. Pinhas-Hamiel O, Levek-Motola N, Kaidar K, Boyko V, Tisch E, Mazor-Aronovitch K, et al. Prevalence of overweight, obesity and metabolic syndrome components in children, adolescents and young adults with type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev*. 2015;31(1):76-84.
98. Uruska A, Zozulinska-Ziolkiewicz D, Niedzwiecki P, Pietrzak M, Wierusz-Wysocka B. TG/HDL-C ratio and visceral adiposity index may be useful in assessment of insulin resistance in adults with type 1 diabetes in clinical practice. *J Clin Lipidol*. 2018;12(3):734-40.
99. Kronenberg H, Melmed S, Polonsky K, Larsen P. Williams Tratado de ENDOCRINOLOGÍA. 11ªed. Barcelona: Elsevier España S.L.; 2009.
100. Burgaz A, Orsini N, Larsson SC, Wolk A. Blood 25-hydroxyvitamin D concentration and hypertension: a meta-analysis. *J Hypertens*. 2011;29(4):636-45.
101. Kunutsor SK, Apekey TA, Steur M. Vitamin D and risk of future hypertension: meta-analysis of 283,537 participants. *Eur J Epidemiol*. 2013;28(3):205-21.
102. Zaheer S, Taquechel K, Brown JM, Adler GK, Williams JS, Vaidya A. A randomized intervention study to evaluate the effect of calcitriol therapy on the renin-angiotensin system in diabetes. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2018;19(1):1470320317754178.

103. Legarth C, Grimm D, Wehland M, Bauer J, Kruger M. The Impact of Vitamin D in the Treatment of Essential Hypertension. *Int J Mol Sci.* 2018;19(2):E455.
104. Cremer A, Tambosco C, Corcuff J-B, Boulestreau R, Gaillard P, Laine M, et al. Investigating the association of vitamin D with blood pressure and the renin-angiotensin-aldosterone system in hypertensive subjects: a cross-sectional prospective study. *J Hum Hypertens.* 2018;32(2):114-21.
105. Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, Jacques PF, Ingelsson E, Lanier K, et al. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation.* 2008;117(4):503-11.
106. Pascale AV, Finelli R, Giannotti R, Visco V, Fabbriatore D, Matula I, et al. Vitamin D, parathyroid hormone and cardiovascular risk: the good, the bad and the ugly. *J Cardiovasc Med.* 2018;19(2):62-6.
107. Witham MD, Nadir MA, Struthers AD. Effect of vitamin D on blood pressure: a systematic review and meta-analysis. *J Hypertens.* 2009;27(10):1948-54.
108. Moreira JSR, de Paula TP, Sperb LF, Miller MEP, Azevedo MJ, Viana LV. Association of plasma vitamin D status with lifestyle patterns and ambulatory blood pressure monitoring parameters in patients with type 2 diabetes and hypertension. *Diabetes Res Clin Pract.* 2018;139:139-46.
109. Makariou SE, Elisaf M, Challa A, Tentolouris N, Liberopoulos EN. No effect of vitamin D supplementation on cardiovascular risk factors in subjects with metabolic syndrome: a pilot randomised study. *Arch Med Sci Atheroscler Dis.* 2017;2:e52-60.
110. 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.
111. Schwetz V, Scharnagl H, Trummer C, Stojakovic T, Pandis M, Grubler MR, et al. Vitamin D supplementation and lipoprotein metabolism: A randomized controlled trial. *J Clin Lipidol.* 2018;12(3):588-96.
112. Pittas AG, Chung M, Trikalinos T, Mitri J, Brendel M, Patel K, et al. Systematic review: Vitamin D and cardiometabolic outcomes. *Ann Intern Med.* 2010;152(5):307-14.
113. Rosen CJ, Adams JS, Bikle DD, Black DM, Demay MB, Manson JE, et al. The nonskeletal effects of vitamin D: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev.* 2012;33(3):456-92.
114. Pathak K, Soares MJ, Calton EK, Zhao Y, Hallett J. Vitamin D supplementation and body weight status: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Obes Rev.* 2014;15(6):528-37.
115. Wang L, Manson JE, Song Y, Sesso HD. Systematic review: Vitamin D and calcium supplementation in prevention of cardiovascular events. *Ann Intern Med.* 2010;152(5):315-23.

116. LaCroix AZ, Kotchen J, Anderson G, Brzyski R, Cauley JA, Cummings SR, et al. Calcium plus vitamin D supplementation and mortality in postmenopausal women: the Women's Health Initiative calcium-vitamin D randomized controlled trial. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2009;64(5):559-67.
117. Ford JA, MacLennan GS, Avenell A, Bolland M, Grey A, Witham M. Cardiovascular disease and vitamin D supplementation: trial analysis, systematic review, and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 2014;100(3):746-55.
118. Cianferotti L, Bertoldo F, Bischoff-Ferrari HA, Bruyere O, Cooper C, Cutolo M, et al. Vitamin D supplementation in the prevention and management of major chronic diseases not related to mineral homeostasis in adults: research for evidence and a scientific statement from the European society for clinical and economic aspects of osteoporosis and osteoarthritis (ESCEO). *Endocrine*. 2017;56(2):245-61.
119. Sánchez A, Puché R, Zeni S, Oliveri B, Galich AM, Maffei L, et al. Papel del calcio y de la vitamina D en la salud ósea (Parte I). *REEMO*. 2002;11(6):201-17.
120. 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(1):53-8.
121. Dawson-Hughes B, Mithal A, Bonjour J-P, Boonen S, Burckhardt P, Fuleihan GE-H, et al. IOF position statement: vitamin D recommendations for older adults. *Osteoporos Int*. 2010;21(7):1151-4.
122. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(7):1911-30.
123. Gómez de Tejada-Romero M, Sosa-Henríquez M, del Pino-Montes J, Jódar-Gimeno E, Quesada-Gómez J, Cancelo-Hidalgo M, et al. Documento de posición sobre las necesidades y niveles óptimos de vitamina D. Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (SEIOMM) y Sociedades afines. *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral*. 2011;3:53-64.
124. Torres del Pliego E, Nogués-Solán X. ¿Cómo utilizar la vitamina D y qué dosis de suplementación sería la más idónea para tener el mejor balance eficacia/seguridad? *Rev Osteoporos Metab Miner*. 2014;6:1-4.
125. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr*. 2006;84(1):18-28.
126. Vieth R. Why the minimum desirable serum 25-hydroxyvitamin D level should be 75 nmol/L (30 ng/ml). *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2011;25(4):681-91.

127. Zittermann A, Iodice S, Pilz S, Grant WB, Bagnardi V, Gandini S. Vitamin D deficiency and mortality risk in the general population: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Am J Clin Nutr.* 2012;95(1):91-100.
128. Durup D, Jorgensen HL, Christensen J, Schwarz P, Heegaard AM, Lind B. A reverse J-shaped association of all-cause mortality with serum. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(8):2644-52.
129. Vieth R. Vitamin D supplementation, 25-hydroxyvitamin D concentrations, and safety. *Am J Clin Nutr.* 1999;69(5):842-56.
130. Hilger J, Friedel A, Herr R, Rausch T, Roos F, Wahl DA, et al. A systematic review of vitamin D status in populations worldwide. *Br J Nutr.* 2014;111(1):23-45.
131. Navarro-Valverde C, Quesada-Gómez JM. Deficiencia de vitamina D en España: ¿realidad o mito? *Rev Osteoporos Metab Miner.* 2014;6:5-10.
132. Rosen CJ, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, Durazo-Arvizu RA, et al. IOM committee members respond to Endocrine Society vitamin D guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(4):1146-52.
133. Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Stocklin E, Sidelnikov E, Willett WC, Edel JO, 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.
134. Quesada-Gómez JM, Bouillon R. Is calcifediol better than cholecalciferol for vitamin D supplementation? *Osteoporos Int.* 2018;29(8):1697-711.
135. Didriksen A, Grimnes G, Hutchinson MS, Kjaergaard M, Svartberg J, Joakimsen RM, et al. The serum 25-hydroxyvitamin D response to vitamin D supplementation is related to genetic factors, BMI, and baseline levels. *Eur J Endocrinol.* 2013;169(5):559-67.
136. Muñoz-Torres M, Varsavsky M, Avilés-Pérez M. Osteoporosis. Definición. *Epidemiología. Rev Osteoporos Metab Miner.* 2010;2(Supl 3):S5-7.
137. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. Switzerland; 1994 p. 1-129.
138. Muñoz-Torres M, Alonso G, Mezquita-Raya P. Prevención y tratamiento de la osteoporosis. *Endocrinol Nutr.* 2003;50(1):1-7.
139. Morrison A, Fan T, Sen SS, Weisenfluh L. Epidemiology of falls and osteoporotic fractures: a systematic review. *Clin Outcomes Res.* 2013;5:9-18.
140. González-Macías J, Del Pino-Montes J, Olmos JM, Nogués X, en nombre de la Comisión de Redacción de las Guías de Osteoporosis de la SEIOMM. Clinical practice guidelines for posmenopausal, glucocorticoid-induced and male osteoporosis. Spanish

- Society for Research on Bone and Mineral Metabolism (3rd updated version 2014). *Rev Clin Esp.* 2015;215(9):515-26.
141. Ahmadi N, Mao SS, Hajsadeghi F, Arnold B, Kiramijyan S, Gao Y, et al. The relation of low levels of bone mineral density with coronary artery calcium and mortality. *Osteoporos Int.* 2018;29(7):1609-16.
 142. Reyes-García R, Rozas-Moreno P, Muñoz-Torres M. Cardiovascular disease, osteoporosis and risk of fracture. *Rev Clin Esp.* 2012;212(4):188-92.
 143. Ye C, Xu M, Wang S, Jiang S, Chen X, Zhou X, et al. Decreased Bone Mineral Density Is an Independent Predictor for the Development of Atherosclerosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PloS One.* 2016;11(5):e0154740.
 144. Tanna N, Patel K, Moore AE, Dulnoan D, Edwards S, Hampson G. The relationship between circulating adiponectin, leptin and vaspin with bone mineral density (BMD), arterial calcification and stiffness: a cross-sectional study in post-menopausal women. *J Endocrinol Invest.* 2017;40(12):1345-53.
 145. Reyes-García R, Rozas-Moreno P, Muñoz-Torres M. Enfermedad cardiovascular y metabolismo óseo. *Endocrinol Nutr.* 2011;58(7):353-9.
 146. García-Fontana B, Universidad de Granada. Departamento de Medicina. Biomarcadores de enfermedad cardiovascular en la diabetes mellitus tipo 2. Conexión en el metabolismo óseo y muscular [Internet] [info:eu-repo/semantics/doctoralThesis]. Universidad de Granada; 2016. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10481/44066>
 147. Novo-Rodríguez C, García-Fontana B, Luna-Del Castillo JDD, Andújar-Vera F, Ávila-Rubio V, García-Fontana C, et al. Circulating levels of sclerostin are associated with cardiovascular mortality. *PloS One.* 2018;13(6):e0199504.
 148. Karner CM, Long F. Glucose metabolism in bone. *Bone.* 2018;115(Oct):2-7.
 149. Napoli N, Chandran M, Pierroz DD, Abrahamsen B, Schwartz AV, Ferrari SL. Mechanisms of diabetes mellitus-induced bone fragility. *Nat Rev Endocrinol.* 2017;13(4):208-19.
 150. García-Martín A, Rozas-Moreno P, Reyes-García R, Morales-Santana S, García-Fontana B, García-Salcedo JA, et al. Circulating levels of sclerostin are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(1):234-41.
 151. Botella Martínez S, Varo Cenarruzabeitia N, Escalada San Martín J, Calleja Canelas A. The diabetic paradox: Bone mineral density and fracture in type 2 diabetes. *Endocrinol Nutr.* 2016;63(9):495-501.
 152. Shanbhogue VV, Mitchell DM, Rosen CJ, Bouxsein ML. Type 2 diabetes and the skeleton: new insights into sweet bones. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2016;4(2):159-73.

153. Sellmeyer DE, Civitelli R, Hofbauer LC, Khosla S, Lecka-Czernik B, Schwartz AV. Skeletal Metabolism, Fracture Risk, and Fracture Outcomes in Type 1 and Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 2016;65(7):1757-66.
154. Hospital Universitario San Cecilio [Internet]. [citado 22 de agosto de 2018]. Disponible en: <https://www.husc.es/>
155. Instituto Nacional de Estadística (INE). Instituto Nacional de Estadística (National Statistics Institute) [Internet]. <http://www.ine.es>. [citado 22 de agosto de 2018]. Disponible en: <http://www.ine.es/dynt3/inebase/es/index.htm?type=pcaxis&path=/t20/e245/p04/p04/rovi/&file=pcaxis&dh=0&capsel=0>
156. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Jonsson B, De Laet C, Dawson A. Risk of hip fracture according to the World Health Organization criteria for osteopenia and osteoporosis. *Bone*. 2000;27(5):585-90.
157. Kanis JA on behalf of the World Health Organization Scientific Group (2007). Assessment of osteoporosis at the primary health-care level. Technical Report. World Health Organization Collaborating Centre for Metabolic Bone Diseases, University of Sheffield, UK. 2007: Printed by the University of Sheffield.
158. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl*. 2009;(113):S1-130.
159. Topolski TD, LoGerfo J, Patrick DL, Williams B, Walwick J, Patrick MB. The Rapid Assessment of Physical Activity (RAPA) among older adults. *Prev Chronic Dis*. 2006;3(4):A118.
160. Leslie WD, Majumdar SR, Lix LM, Johansson H, Oden A, McCloskey E, et al. High fracture probability with FRAX usually indicates densitometric osteoporosis: implications for clinical practice. *Osteoporos Int*. 2012;23(1):391-7.
161. Herramienta FRAX [Internet]. [citado 4 de mayo de 2018]. Disponible en: <https://www.sheffield.ac.uk/FRAX/tool.aspx?country=4>
162. Azagra-Ledesma R, Prieto-Alhambra D, Encabo-Duro G, Casado-Burgos E, Aguye-Batista A, Diez-Perez A. Usefulness of FRAX tool for the management of osteoporosis in the Spanish female population. *Med Clin (Barc)*. 2011;136(14):613-9.
163. Calcium Calculator | International Osteoporosis Foundation [Internet]. [citado 4 de mayo de 2018]. Disponible en: <https://www.iofbonehealth.org/calcium-calculator>
164. Beckman Coulter, Inc. Access 25(OH) Vitamin D Total [Internet]. [citado 4 de mayo de 2018]. Disponible en:

https://www.beckmancoulter.com/ucm/idc/groups/validatedcustomer/@wsr/@literature/documents/document/glb_bci_155959.pdf

165. Fernández-García D, Muñoz-Torres M, Mezquita-Raya P, de la Higuera M, Alonso G, Reyes-García R, et al. Effects of raloxifene therapy on circulating osteoprotegerin and RANK ligand levels in post-menopausal osteoporosis. *J Endocrinol Invest.* 2008;31(5):416-21.
166. N-MID® Osteocalcin Immunoassay [Internet]. IDS. [citado 4 de mayo de 2018]. Disponible en: <http://www.idsplc.com/products/n-mid-osteocalcin/>
167. Hong S-H, Koo J-W, Hwang JK, Hwang Y-C, Jeong I-K, Ahn KJ, et al. Changes in Serum Osteocalcin are Not Associated with Changes in Glucose or Insulin for Osteoporotic Patients Treated with Bisphosphonate. *J Bone Metab.* 2013;20(1):37-41.
168. Reyes-García R, Rozas-Moreno P, Muñoz-Torres M. Regulación del proceso de remodelado óseo. *REEMO.* 2008;17(1):10-4.
169. Thevarajah TM, Nani N, Chew YY. Performance evaluation of the Arkray Adams HA-8160 HbA1c analyser. *Malays J Pathol.* 2008;30(2):81-6.
170. HOMA Calculator : Overview [Internet]. [citado 4 de mayo de 2018]. Disponible en: <https://www.dtu.ox.ac.uk/homacalculator/>
171. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care.* 2004;27(6):1487-95.
172. Levy JC, Matthews DR, Hermans MP. Correct homeostasis model assessment (HOMA) evaluation uses the computer program. *Diabetes Care.* 1998;21(12):2191-2.
173. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985;28(7):412-9.
174. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2009;150(9):604-12.
175. Muñoz-Torres M, Mezquita-Raya P, López-Rodríguez F, Torres-Vela E, Luna JD, Escobar-Jiménez F. The contribution of IGF-I to skeletal integrity in postmenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2001;55(6):759-66.
176. Kanis JA, Melton LJ 3rd, Christiansen C, Johnston CC, Khaltsev N. The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 1994;9(8):1137-41.
177. Genant H, Wu C, van Kuijk C, Nevitt M. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *J Bone Miner Res.* 1993;8(9):1137-48.

178. Genant H, Jergas M. Assessment of prevalent and incident vertebral fractures in osteoporosis research. *Osteoporos Int.* 2003;14(Suppl 3):S43-55.
179. Professional Scales Manual Downloads | Tanita Corporation [Internet]. [citado 5 de mayo de 2018]. Disponible en: <https://www.tanita.com/en/downloads/professional/>
180. Pavón de Paz I, Alameda-Hernando C, Olivar-Roldán J. Obesity and menopause. *Nutr Hosp.* 2006;21(6):633-7.
181. Chen S, Villalta SA, Agrawal DK. FOXO1 Mediates Vitamin D Deficiency-Induced Insulin Resistance in Skeletal Muscle. *J Bone Miner Res.* 2016;31(3):585-95.
182. Pham TM, Ekwaru JP, Lochr SA, Veugelers PJ. The Relationship of Serum 25-Hydroxyvitamin D and Insulin Resistance among Nondiabetic Canadians: A Longitudinal Analysis of Participants of a Preventive Health Program. *PloS One.* 2015;10(10):e0141081.
183. Tchernof A, Després J-P. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. *Physiol Rev.* 2013;93(1):359-404.
184. Pittas AG, Harris SS, Eliades M, Stark P, Dawson-Hughes B. Association between serum osteocalcin and markers of metabolic phenotype. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(3):827-32.
185. García-Martín A, Cortés-Berdonces M, Luque-Fernández I, Rozas-Moreno P, Quesada-Charneco M, Muñoz-Torres M. Osteocalcin as a marker of metabolic risk in healthy postmenopausal women. *Menopause.* 2011;18(5):537-41.
186. Hwang Y-C, Jeong I-K, Ahn K-J, Chung H-Y. Circulating osteocalcin level is associated with improved glucose tolerance, insulin secretion and sensitivity independent of the plasma adiponectin level. *Osteoporos Int.* 2012;23(4):1337-42.
187. Kanazawa I. Osteocalcin as a hormone regulating glucose metabolism. *World J Diabetes.* 2015;6(18):1345-54.
188. Im JA, Yu BP, Jeon JY, Kim SH. Relationship between osteocalcin and glucose metabolism in postmenopausal women. *Clin Chim Acta.* 2008;396(1-2):66-9.
189. Lee SW, Jo HH, Kim MR, You YO, Kim JH. Association between obesity, metabolic risks and serum osteocalcin level in postmenopausal women. *Gynecol Endocrinol.* 2012;28(6):472-7.
190. Solis-Trapala I, Schoenmakers I, Goldberg GR, Prentice A, Ward KA. Sequences of Regressions Distinguish Nonmechanical from Mechanical Associations between Metabolic Factors, Body Composition, and Bone in Healthy Postmenopausal Women. *J Nutr.* 2016;146(4):846-54.

191. Mirhosseini N, Vatanparast H, Mazidi M, Kimball SM. The Effect of Improved Serum 25-Hydroxyvitamin D Status on Glycemic Control in Diabetic Patients: A Meta-Analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017;102(9):3097-110.
192. Schottker B, Haug U, Schomburg L, Kohrle J, Perna L, Muller H, et al. Strong associations of 25-hydroxyvitamin D concentrations with all-cause, cardiovascular, cancer, and respiratory disease mortality in a large cohort study. *Am J Clin Nutr.* 2013;97(4):782-93.
193. Tepper S, Shahar DR, Geva D, Ish-Shalom S. Differences in homeostatic model assessment (HOMA) values and insulin levels after vitamin D supplementation in healthy men: a double-blind randomized controlled trial. *Diabetes Obes Metab.* 2016;18(6):633-7.
194. Jorde R, Sollid ST, Svartberg J, Schirmer H, Joakimsen RM, Njølstad I, et al. Vitamin D 20,000 IU per Week for Five Years Does Not Prevent Progression From Prediabetes to Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(4):1647-55.
195. 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):734-42.
196. Esteghamati A, Aryan Z, Esteghamati A, Nakhjavani M. Vitamin D deficiency is associated with insulin resistance in nondiabetics and reduced insulin production in type 2 diabetics. *Horm Metab Res.* 2015;47(4):273-9.
197. Park SK, Garland CF, Gorham ED, BuDoff L, Barrett-Connor E. Plasma 25-hydroxyvitamin D concentration and risk of type 2 diabetes and pre-diabetes: 12-year cohort study. *PloS One.* 2018;13(4):e0193070.

RESUMEN

TESIS DOCTORAL: VITAMINA D Y RESISTENCIA A LA INSULINA EN MUJERES CON OSTEOPOROSIS POSMENOPÁUSICA.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha producido un creciente interés por la vitamina D y su relación con la enfermedad cardiovascular (ECV). Los estudios realizados en población general han implicado a la vitamina D en la fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y el síndrome metabólico (SM) por sus efectos sobre la homeostasis de la glucosa y la resistencia a la insulina. La fragilidad ósea también se ha relacionado con el riesgo de ECV a través de diversos factores. Sin embargo, la importancia de la relación entre la vitamina D y la resistencia a la insulina en mujeres con osteoporosis posmenopáusica (OPPM) no ha sido evaluada en profundidad. En general, existe un consenso sobre las concentraciones séricas de vitamina D (25OHD) suficientes para mantener una adecuada salud ósea. Sin embargo, no se conoce cuál sería el valor óptimo de 25OHD para conseguir beneficios sobre la homeostasis de la glucosa y la salud cardiovascular. Basándonos en estas premisas, la consideración del estatus de vitamina D como un factor de riesgo cardiovascular (FRCV) modificable tendría un gran impacto sobre la salud pública, sobre todo en aquellos grupos de población con mayor riesgo de ECV como son las mujeres con OPPM. Esta atractiva hipótesis justifica el desarrollo del trabajo de investigación de esta Tesis Doctoral.

OBJETIVOS

Evaluar si las concentraciones séricas de 25OHD están relacionadas con parámetros del metabolismo de la glucosa y la composición corporal en una cohorte de mujeres con OPPM. Identificar el umbral de concentración sérica de 25OHD a partir del cual se evidencien beneficios sobre la homeostasis de la glucosa. Determinar si los niveles séricos de osteocalcina infracarboxilada (ucOC) están relacionados con la homeostasis de la glucosa. Evaluar si existe relación entre 25OHD, parámetros del metabolismo de la glucosa y fragilidad ósea.

PACIENTES Y MÉTODOS

Estudio exploratorio de corte transversal sobre una muestra de 40 mujeres con OPPM, no diabéticas y sin tratamiento antiosteoporótico, evaluadas en la Unidad de Metabolismo Óseo de la UGC Endocrinología y Nutrición del Hospital Universitario San Cecilio de Granada y seleccionadas de forma consecutiva entre junio de 2012 y enero de 2014, según los criterios de inclusión y exclusión establecidos. Se determinaron variables clínicas y epidemiológicas, parámetros antropométricos, concentraciones séricas de 25OHD y parámetros analíticos relacionados con el metabolismo de la glucosa y la funcionalidad de la célula beta pancreática (glucosa en ayunas, HbA1c, insulina, modelo de homeostasis de la glucosa [HOMA2-Calculator]) y con el metabolismo mineral (osteocalcina infracarboxilada [ucOC]).

RESULTADOS

Las concentraciones séricas de 25OHD se relacionaron con los parámetros del metabolismo de la glucosa. Mostraron una asociación lineal inversa con el HOMA2-IR, el HOMA2-%B y la insulinemia, y una asociación lineal directa con el HOMA2-%S. Los niveles séricos de 25OHD no se relacionaron con el porcentaje de masa grasa corporal ni con el IMC. El estatus de 25OHD fue un factor predictor de resistencia a la insulina independiente. El porcentaje de masa grasa corporal también se comportó como un factor independiente implicado en la resistencia a la insulina más importante que el IMC. Se asoció de forma directa con el HOMA2-IR y con la insulinemia, y de forma inversa con el HOMA2-%S. Los niveles circulantes de ucOC no se relacionaron con los parámetros del metabolismo de la glucosa. La HbA1c se comportó como un factor independiente directamente relacionado con el índice FRAX para fractura osteoporótica principal. No se observaron diferencias en los parámetros del metabolismo de la glucosa de acuerdo a los criterios actuales de insuficiencia o suficiencia de 25OHD. Las mujeres con concentraciones séricas de 25OHD ≥ 45 ng/ml presentaron un perfil de homeostasis de la glucosa más favorable.

CONCLUSIÓN

Las concentraciones séricas de 25OHD se relacionaron con la homeostasis de la glucosa comportándose como un factor predictor de resistencia a la insulina y, por tanto, podría constituir un FRCV modificable en mujeres con OPPM. Sugerimos que el valor óptimo de 25OHD en mujeres con OPPM y sin alteraciones establecidas en el metabolismo de la glucosa podría ser ≥ 45 ng/ml. Sin embargo, son necesarios estudios de intervención prospectivos a largo plazo para confirmar esta hipótesis.

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

La producción científica derivada del trabajo de investigación de esta Tesis Doctoral ha sido publicada en revistas científicas y ha sido presentada en distintas comunicaciones a congresos, como se detalla a continuación:

Artículo científico derivado de esta Tesis Doctoral (ANEXO):

Ávila-Rubio V., García-Fontana B., Novo-Rodríguez C., Cantero-Hinojosa J., Reyes-García R., Muñoz-Torres M.

Higher Levels of Serum 25-Hydroxyvitamin D Are Related to Improved Glucose Homeostasis in Women with Postmenopausal Osteoporosis.

J Womens Health (Larchmt). 2018 Aug;27(8):1007-1015.

DOI: 10.1089/jwh.2017.6806.

Otros artículos relacionados:

1. Varsavsky M, Rozas-Moreno P, Becerra-Fernández A, Luque-Fernández I, Quesada-Gómez JM, Ávila-Rubio V., et al.

Recomendaciones de vitamina D para la población general.

Endocrinol Diabetes Nutr. 2017;64(S1):7-14.

2. García-Martín A, Reyes-García R, Ávila-Rubio V., Muñoz-Torres M.

Osteocalcin: a link between bone homeostasis and energy metabolism.

Endocrinol Nutr. 2013;60(5):260-3.

Comunicaciones a congresos:

Nacionales:

1. Verónica Ávila Rubio, Beatriz García Fontana, María Hayón Ponce, Cristina Novo Rodríguez, Manuel Muñoz Torres.

Póster: Relación entre metabolismo hidrocarbonado y riesgo de fractura en mujeres con osteoporosis posmenopáusica.

Endocrinol Diabetes Nutr. 2018;65(Espec Cong 1):226.

XXIX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Diabetes (SED). Oviedo, 18-20 de Abril de 2018.

2. Ávila Rubio V, García Fontana B, Novo Rodríguez C, Cantero Hinojosa J, Reyes García R, Muñoz Torres M.

Póster: Relación entre vitamina D y resistencia a la insulina en mujeres con osteoporosis postmenopáusicas.

Rev Osteoporos Metab Miner. 2017;9(3):23.

XXII Congreso de la Sociedad Española de Investigación Ósea y Metabolismo Mineral (SEIOMM). Elche, 25-27 de Octubre de 2017.

3. Verónica Ávila Rubio, Beatriz García Fontana, Cristina Novo Rodríguez, Sonia Morales Santana, Rebeca Reyes García, Elena Torres Vela, Manuel Muñoz Torres.

Póster: Factores predictores de insulinoresistencia en mujeres posmenopáusicas.

Endocrinol Diabetes Nutr. 2017;64(Espec Cong 2):362.

59 Congreso Nacional de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición (SEEN). Barcelona, 18-20 de Octubre de 2017.

4. Verónica Ávila Rubio, Cristina Novo Rodríguez, Beatriz García Fontana, Antonia García Martín, Rebeca Reyes García, Sonia Morales Santana, Manuel Muñoz Torres.

Comunicación Oral: Efectos de denosumab sobre la homeostasis hidrocarbonada en mujeres con osteoporosis posmenopáusicas.

Endocrinol Nutr. 2016;63(Espec Cong 2):24-25.

58 Congreso Nacional de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición (SEEN). Málaga, 19-21 de Octubre de 2016.

5. Ávila-Rubio V, Novo-Rodríguez C., Miranda-Méndez JL, García-Fontana B., Morales-Santana S., Muñoz-Torres M.

Comunicación Oral: Estatus de vitamina D y funcionalidad de la célula beta en mujeres postmenopáusicas.

Nutr clin diet. hosp. 2016; 36(supl. 1): 134.

XX Jornadas de Nutrición Práctica de la Sociedad Española de Dietética y Ciencias de la Alimentación (SEDCA) y X Congreso Internacional de Nutrición, Alimentación y Dietética. Madrid, 13-15 de Abril de 2016.

6. Verónica Ávila Rubio, Cristina Novo Rodríguez, Beatriz García Fontana, Sonia Morales Santana, Antonia García Martín, Rebeca Reyes García, Fernando Escobar Jiménez, Manuel Muñoz Torres.

Póster: Estudio comparativo de zoledronato, denosumab y teriparatida en osteoporosis postmenopáusicas.

40 Congreso de la Sociedad Andaluza de Endocrinología, Diabetes y Nutrición (SAEDYN). Córdoba, 12-14 de Noviembre de 2015.

7. V. Ávila-Rubio; C. Novo-Rodríguez; B. García-Fontana; S. Morales Santana; A. García Martín; R. Reyes García; M. Muñoz Torres.

Póster A (oral): Asociación entre 25-hidroxivitamina D y resistencia a la insulina en mujeres postmenopáusicas.

Rev Clin Esp. 2015;215 (Espec Congr):138.

XXXVI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Medicina Interna (SEMI) y IX Congreso de la Sociedad Extremeña de Medicina Interna (SEXMI). Sevilla, 11-13 de Noviembre de 2015.

8. Verónica Ávila Rubio, Cristina Novo Rodríguez, Beatriz García Fontana, Sonia Morales Santana, Antonia García Martín, Rebeca Reyes García, Manuel Muñoz Torres.

Póster: Perfil de uso clínico y resultados de denosumab, teriparatida y zoledronato en mujeres con osteoporosis postmenopáusicas.

Rev Osteoporos Metab Miner. 2015;7(3):45.

XX Congreso de la Sociedad Española de Investigación Ósea y Metabolismo Mineral (SEIOMM). Bilbao, 21-23 de Octubre de 2015.

9. V. Ávila Rubio, C. Novo Rodríguez, B. García Fontana, S. Morales Santana, A. García Martín, R. Reyes García, F. Escobar Jiménez y M. Muñoz Torres.

Póster: Perfil de uso clínico y resultados de denosumab, teriparatida y zoledronato en mujeres con osteoporosis postmenopáusica.

Endocrinol Nutr. 2015;62(Espec Cong):117.

57 Congreso Nacional de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición (SEEN). Madrid, 27-29 de Mayo de 2015.

10. Verónica Ávila Rubio, Cristina Novo Rodríguez, Beatriz García Fontana, Sonia Morales Santana, Antonia García Martín, Rebeca Reyes García, Manuel Muñoz Torres.

Póster: Vitamina D y metabolismo hidrocarbonado en mujeres con osteoporosis postmenopáusica.

Nutr Hosp. 2015;31(Suplemento 4).

XXX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nutrición Parenteral y Enteral (SENPE). Alicante, 7-9 de Mayo de 2015.

11. V. Ávila Rubio, C. Novo Rodríguez, B. García Fontana, S. Morales Santana, M. Muñoz Torres.

Póster: Asociación entre vitamina D y metabolismo hidrocarbonado en mujeres con osteoporosis postmenopáusica.

Av Diabetol. 2015;31(Espec Congr):176.

XXVI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Diabetes (SED). Valencia 15-17 de Abril de 2015.

12. Ávila-Rubio V.; Novo-Rodríguez C.; García-Fontana, B.; Morales Santana, S., García Martín A.; Reyes García, R.; Muñoz Torres, M.

Comunicación Oral: Efectos del tratamiento antirresortivo y osteoanabólico sobre el metabolismo energético: Papel hormonal de proteínas óseas y musculoesqueléticas.

Rev Clin Esp. 2014;214 (Espec Congr):91.

XXXV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Medicina Interna (SEMI), IV Congreso Ibérico de Medicina Interna y II Congreso de la Sociedad de Medicina Interna de la Región de Murcia (SOMIMUR). Murcia, 19-21 de Noviembre de 2014.

13. Ávila-Rubio V.; Novo-Rodríguez C.; García-Fontana, B.; Morales Santana, S.; García Martín A.; Reyes García, R.; Muñoz Torres, M.

Póster: Concentraciones de miostatina y resistencia a la insulina en mujeres postmenopáusicas.

Rev Clin Esp. 2014;214 (Espec Congr):890.

XXXV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Medicina Interna (SEMI), IV Congreso Ibérico de Medicina Interna y II Congreso de la Sociedad de Medicina Interna de la Región de Murcia (SOMIMUR). Murcia, 19-21 de Noviembre de 2014.

14. Ávila-Rubio V.; Novo-Rodríguez C.; García-Fontana, B.; García Martín A.; Reyes García, R.; Morales Santana, S.; Muñoz Torres, M.

Póster: Papel de la miostatina en la homeostasis hidrocarbonada en mujeres postmenopáusicas.

39 Congreso de la Sociedad Andaluza de Endocrinología y Nutrición (SAEN). Almería, 13-15 de Noviembre de 2014.

15. Ávila-Rubio V.; Novo-Rodríguez C.; García-Fontana, B.; García Martín A.; Reyes García, R.; Morales Santana, S.; Muñoz Torres, M.

Póster: Fármacos antiosteoporóticos y metabolismo energético: Papel hormonal de proteínas óseas y musculoesqueléticas.

39 Congreso de la Sociedad Andaluza de Endocrinología y Nutrición (SAEN). Almería, 13-15 de Noviembre de 2014.

16. Ávila-Rubio V.; Novo-Rodríguez C.; García-Fontana, B.; García Martín, A.; Reyes García, R.; Morales Santana, S.; Muñoz Torres, M.

Póster: Efectos del tratamiento antirresortivo y osteoanabólico sobre el metabolismo energético: Papel hormonal de proteínas óseas y musculoesqueléticas.

Rev Osteoporos Metab Miner. 2014;6(3):31.

XIX Congreso de la Sociedad Española de Investigación Ósea y Metabolismo Mineral (SEIOMM). Santiago de Compostela, 5-7 de Noviembre de 2014.

17. V. Ávila Rubio, C. Novo Rodríguez, B. García Fontana, A. García Martín, R. Reyes García, S. Morales Santana y M. Muñoz Torres.

Póster: Vitamina D y homeostasis glucídica en mujeres con osteoporosis posmenopáusicas.

Endocrinol Nutr. 2014;61(Espec Cong):87.

56 Congreso Nacional de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición (SEEN). Valencia, 21-23 de Mayo de 2014.

18. Verónica Ávila Rubio, Beatriz García Fontana, Sonia Morales Santana, Antonia García Martín, Rebeca Reyes García, Fernando Escobar Jiménez, Manuel Muñoz Torres.

Póster: Osteocalcina como nexo de unión entre metabolismo óseo y metabolismo energético.

Nutr Hosp. 2014;29(Suplemento 1):31-32.

29 Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nutrición Enteral y Parenteral (SENPE). Murcia, 15-17 de Mayo de 2014.

19. Ávila-Rubio V.; Novo-Rodríguez C.; García-Fontana, B.; García Martín, A.; Reyes García, R.; Morales Santana, S., Muñoz Torres, M.

Comunicación Oral: Concentraciones de miostatina y resistencia a la insulina en mujeres postmenopáusicas.

Av Diabetol. 2014;30(Espec Congr):48.

XXV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Diabetes (SED). Pamplona, 3-5 de Abril de 2014.

20. Ávila Rubio V., Avilés Pérez MD, García Fontana B, Morales Santana S, Reyes García R, García Martín A, Escobar Jiménez F, Muñoz Torres M.

Relación entre osteocalcina y metabolismo energético en mujeres postmenopáusicas tratadas con fármacos antiosteoporóticos.

Rev Osteoporos Metab Miner. 2013;5(3):28.

XVIII Congreso de la Sociedad Española de Investigación Ósea y Metabolismo Mineral (SEIOMM). Tarragona, 13-15 de Noviembre de 2013.

21. Ávila Rubio, V.; García Martín, A.; Reyes García R.; Morales Santana, S., García Fontana, B.; Muñoz Torres, M.

Comunicación Oral: Papel de la osteocalcina en la regulación del Metabolismo energético: resultados preliminares de un estudio de cohortes prospectivo.

Endocrinol Nutr. 2013;60(Espec Cong):23.

55 Congreso de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición (SEEN). Granada, 15-17 de Mayo de 2013.

22. Ávila Rubio V, García Martín A, Reyes García R, Morales Santana S, García Fontana B, Muñoz Torres, M.

Póster: Cambios en el metabolismo hidrocarbonado durante el tratamiento antiosteoporótico: resultados preliminares de un estudio de cohortes prospectivo.

Rev Osteoporos Metab Miner. 2012;4(3):17.

XVII Congreso de la Sociedad Española de Investigación Ósea y Metabolismo Mineral (SEIOMM). Cuenca, 24-26 de Octubre de 2012.

Internacionales:

1. Verónica Ávila-Rubio, Beatriz García-Fontana, Cristina, Novo-Rodríguez, Jesús Cantero-Hinojosa, Manuel Muñoz-Torres.

Póster: Relationship between circulating 25-hydroxyvitamin D and glucose homeostasis in women with postmenopausal osteoporosis.

Endocrine Abstracts. 2018;Vol 56.

DOI: 10.1530/endoabs.56.P383

20th European Congress of Endocrinology (ECE). Barcelona, España, 19-22 de Mayo de 2018.

2. Ávila-Rubio V., Novo-Rodríguez C., Miranda-Méndez JL, García-Fontana B., Morales-Santana S., Muñoz-Torres M.

Comunicación Oral: Estatus de vitamina D y funcionalidad de la célula beta en mujeres postmenopáusicas.

Nutr clin diet hosp. 2016; 36(supl. 1): 134.

X Congreso Internacional de Nutrición, Alimentación y Dietética. Madrid, 13-15 de Abril de 2016.

3. V. Ávila-Rubio, C. Novo-Rodríguez, B. García-Fontana, A. García-Martín, R. Reyes-García, S. Morales-Santana, M. Muñoz-Torres.

Póster: Serum myostatin and insulin resistance in postmenopausal women.

Diabetologia. 2014;Vol 57.

50th EASD Annual Meeting (European Association for the Study of Diabetes).

Vienna, Austria, 15-19 de Septiembre de 2014.

Premios de Investigación:

Premio Italfarmaco-SEIOMM 2017 al mejor estudio sobre vitamina D.

Relación entre vitamina D y resistencia a la insulina en mujeres con osteoporosis postmenopáusica.

Investigadora principal: Verónica Ávila Rubio.

XXII Congreso de la Sociedad Española de Investigación Ósea y Metabolismo Mineral (SEIOMM). Elche, 27 de octubre de 2017.

ANEXO

Higher Levels of Serum 25-Hydroxyvitamin D Are Related to Improved Glucose Homeostasis in Women with Postmenopausal Osteoporosis.

Adaptado de: Higher Levels of Serum 25-Hydroxyvitamin D Are Related to Improved Glucose Homeostasis in Women with Postmenopausal Osteoporosis.

Ávila-Rubio V., García-Fontana B., Novo-Rodríguez C., Cantero-Hinojosa J., Reyes-García R., Muñoz-Torres M.

Publicado en J Womens Health (Larchmt). 2018 Aug;27(8):1007-1015.

DOI: 10.1089/jwh.2017.6806.

1. Abstract

Background: Postmenopausal osteoporosis (PMO) is associated with other comorbidities such as impaired glucose homeostasis and cardiovascular disease. Vitamin D insufficiency is highly prevalent and may be a common link between these disorders. However, the relationship between circulating 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] and insulin resistance in women with PMO has not been well evaluated. The aim of this study was to assess the relationship between circulating levels of 25(OH)D and parameters of glucose homeostasis in a cohort of women with PMO to establish a serum concentration threshold of 25(OH)D for improved glyceimic parameters.

Materials and Methods: This cross-sectional study included 40 women with PMO. We measured 25(OH)D serum levels and glucose homeostasis parameters (glucose and insulin levels, insulin sensitivity, and b-secretion index HOMA2-%S and HOMA2-%B, respectively). Anthropometric, biochemical, and clinical parameters and bone markers were also evaluated.

Results: Circulating levels of 25(OH)D were related to glucose parameters (negatively with HOMA2-%B and insulin levels and positively with HOMA2-%S) in women with PMO, resulting in an indicator of insulin sensitivity independent of age,

body mass index, percent body fat, and undercarboxylated osteocalcin. Patients with serum 25(OH)D ≥ 45 ng/mL showed lower HOMA2-%B values and insulinemia and greater HOMA2-%S.

Conclusions: Our results support the hypothesis that circulating 25(OH)D levels are related to improved glucose homeostasis in women with PMO. However, this relationship was apparent only in the presence of high circulating levels of 25(OH)D.

2. Introduction

Currently, vitamin D insufficiency affects more than half the population of all ages¹. 25-Hydroxyvitamin D [25(OH)D] is the main circulating form of vitamin D used to determine the vitamin D status². In addition to the well-known role of vitamin D in bone health, it may play a role in extraskeletal functions. Since most tissues and organs have receptors for vitamin D, it is involved in numerous biological functions. Furthermore, it acts as a chemical messenger^{3,4} and participates in the regulation of the transcription of $\sim 3\%$ of the human genome⁵.

Owing to its numerous functions, interest in vitamin D has increased considerably. Recently, decreased vitamin D levels have been linked to several diseases such as cancer, autoimmune diseases, hypertension (HTN), cardiovascular disease (CVD), and metabolic syndrome (MS)⁶. Likewise, several studies have reported lower mortality in people with higher vitamin D levels⁷⁻⁹.

Postmenopausal osteoporosis (PMO) is a global health problem that has become increasingly important with the aging population. In Spain, it affects 35% of women older than 50 years and 52% of those older than 70 years¹⁰. In recent years, an association between bone fragility and CVD independent of age has been shown, in conjunction with the increased cardiovascular mortality in women with decreased bone mass. This suggests that osteoporosis and CVD share common pathophysiological mechanisms. However, the mechanism of connection between bone fragility and CVD is not accurately known. Recently, it has been suggested that

vitamin D may be involved in the observed relationship between bone fragility and CVD¹⁰. In contrast, alterations in glucose metabolism are an important common risk factor for bone fragility and vascular disease. However, no previous studies have examined in depth the relationship between circulating 25(OH)D levels and glucose homeostasis in a similar population to that in our study.

Moreover, the definition of adequate 25(OH)D concentrations remains controversial and there is no clear cutoff point for defining optimal levels of vitamin D¹¹. According to several studies, serum 25(OH)D above 30 ng/mL would ensure proper bone health. However, there has been no evidence regarding which levels of 25(OH)D would be optimal to obtain benefits with respect to glucose and energy metabolism and other health targets such as CVD^{9,12}.

The aim of this study was to assess the relationship between circulating levels of 25(OH)D and parameters of glucose homeostasis in a cohort of women with PMO and to establish a threshold of 25(OH)D serum concentration able to influence glucose homeostasis in a population of postmenopausal women with osteoporosis.

3. Materials and Methods

Study population

Our cross-sectional study included 40 postmenopausal women aged 50–85 years, recruited consecutively from June 2012 to January 2014 in primary care centers in the area covered by the University Hospital of Granada (Spain).

All participants were Caucasian and ambulatory, with at least 1 year of amenorrhea and with a bone mineral density (BMD) expressed as a T-score that was less than or equal to -2.5 standard deviation (in total hip, femoral neck, or lumbar spine) and/or a history of fragility fracture and absence of nutritional deficits. All patients were given instructions at their primary care center regarding a diet rich in

calcium and were receiving 266 µg calcifediol monthly for at least 3 months, according to the latest Spanish clinical practice guidelines¹³. All participants received specific antiosteoporotic treatment that was initiated immediately after the evaluation and the baseline analysis.

Patients treated with any antiosteoporotic drug during the last year or with drugs that interfere with carbohydrate metabolism or bone were excluded. Additional exclusion criteria were the presence of metabolic bone diseases other than PMO, secondary osteoporosis, type 1 and 2 diabetes, chronic kidney or liver disease, or active neoplastic diseases.

The study was conducted with the approval of the Ethics Committee of San Cecilio University Hospital and in accordance with the code of ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki). Written informed consent was obtained from all subjects.

Clinical evaluation

Height and weight were measured at baseline according to standard procedures. Participants reported their alcohol use, smoking status, and level of physical activity in response to specific health questionnaires. For physical activity, the Spanish version of the questionnaire for Rapid Assessment of Physical Activity, validated in a U.S. Latin population aged 16–74 years¹⁴, was used. Body composition, including percentage of body fat (PBF) and body mass index (BMI), was assessed by bioelectrical impedance using the Tanita TBF-300A equipment (IL). Daily calcium intake was estimated from a nutritional survey assessing the frequency of consumption of various, mainly dairy, products¹⁵.

Serum measurements

Samples of venous blood were taken in the morning after fasting overnight. Serum was stored at -80°C until it was analyzed. Serum glucose levels, albumin, and

lipid profile (high-density and low-density lipoprotein cholesterol and triglyceride levels) were measured using standard automated laboratory techniques. Glycated hemoglobin (HbA1c) was determined using high-performance liquid chromatography (ADAMS A1c, HA-8160; Menarini, Florence, Italy) and expressed as a percentage. The b-secretion index (HOMA2- %B) and the insulin sensitivity index (HOMA2-%S) were calculated using HOMA2 calculator version 2.

Bone metabolism parameters

Calcitropic hormone measurements included serum intact parathormone (iPTH) determined using the two-site immunoassay for iPTH (Roche Diagnostics SL, Barcelona, Spain) and 25(OH)D determined using a chemiluminescence assay (CLIA) (Beckman Coulter UniCel DxI 800; CA). Bone turnover markers were measured as follows: total osteocalcina (OC) by CLIA (N-Mid Osteocalcin; Immunodiagnostic Systems iSYS, Boldon, United Kingdom, [IDS-iSYS] automated analyzer) and serum carboxyl-terminal crosslinked telopeptide of type I collagen (CTX) by enzyme immunoassay (Elecsys b-CrossLaps; Roche Diagnostics, Basel, Switzerland). Serum undercarboxylated OC (ucOC) was measured using a quantitative enzyme immunoassay kit developed by Takara Bio Inc. (Shiga, Japan).

Bone density measurement and vertebral fracture assessment

BMD at the lumbar spine (vertebrae L1, L2, L3, and L4) and proximal femur (femoral neck and total hip) was determined by dual X-ray absorptiometry using a Hologic QDR 4500 densitometer (Waltham, MA) with a variation coefficient of 1%. The vertebral fractures identified by lumbar spine radiographs were excluded from the analysis to avoid false measurements. Measurements were made according to the criteria of Genant¹⁶. The assessment of fracture risk was established according to the Fracture Risk Assessment Tool (FRAX) index¹⁷.

Statistical analysis

Data for continuous variables are presented as mean \pm standard deviation. Data for categorical variables are presented as numbers and/or percentages. The Kolmogorov–Smirnov test was used to test the normality of distribution of continuous variables. When the sample size was greater than 30, tests for normal variables were applied independently of their characteristics using the central limit theorem.

Comparisons of continuous variables among groups were performed using the unpaired Student's *t* test for normally distributed variables or the Mann–Whitney U test for variables without a normal distribution. The χ^2 test was used to compare categorical variables between groups. Associations between continuous variables were evaluated using a univariate linear regression test. Multiple linear regression was performed to identify the variables influencing glucose homeostasis (dependent variable), including as independent variables those that correlated significantly in univariate analysis with serum levels of 25(OH)D, as well as other possible variables related to glucose homeostasis. Statistical significance was set at $p < 0.05$ (two tailed) and at $p < 0.10$ for the multiple regression analysis. Data were recorded and analyzed using SPSS version 18.0 software (SPSS, Inc., Chicago, IL).

The sample size was calculated using the Student's *t* test for equality to compare the means of two independent samples. A statistical power of 90%, confidence level of 95%, accuracy of 3%, and significance level of 5% required a sample size of 40 study subjects.

4. Results

Characteristics of the study population

Table 1 shows the descriptive analysis of the demographic, anthropometric, and biochemical characteristics of the study population. Regarding bone and mineral

metabolism status, 60% of the subjects reached a daily calcium intake between 500 and 1000 mg/day, 42.5% of the women reported a history of osteoporotic fractures, and 12.5% of the study population had 25(OH)D levels lower than 30 ng/mL. We found no relationship between 25(OH)D concentrations and physical activity.

Table 1. Mean values of the characteristics of the study population.

VARIABLES	Mean	SD
Age(years)	62	8.5
Height (m)	1.56	0.05
Weight (kg)	61.8	10.4
BMI (kg /m ²)	25.4	3.9
Cardiovascular risk factors		
Smokers (%)	15	
Alcohol (%)	0	
Sedentarism (%)	65	
HTN (%)	27.5	
Dyslipidemia (%)	42.5	
Overweight or obesity (%)	47.5	
Glucose metabolism		
Fasting glucose (mg/dL)	87	9
HbA1c (%)	5.4	0.3
Insulin (μU/mL)	8.7	3.9
HOMA2-%S (%)	107	46
HOMA2-%B (%)	109	30
Lipid profile (mg/dL)		
Total Cholesterol	201	23
Cholesterol HDL	67	11
Cholesterol LDL	118	22
Tryglicerides	80	28
Body composition		
PBF (%)	33.9	6.9
25(OH)D (ng/mL)	43	20
Bone metabolism		
OC (ng/mL)	18.5	8.5
ucOC (ng/mL)	8.3	10.0
CTX (ng/mL)	0.473	0.198
iPTH (pg/mL)	49.9	15.6
BMD measurement		
LS T-score (SD)	-2.9	0.6
FN T-score (SD)	-1.8	0.7
TH T-score (SD)	-1.6	0.8
Prevalence of fracture (%)	42.5	
Vertebral fracture (%)	17.5	
Non-vertebral fracture (%)	30	
Calcium intake		
≥500 mg/day (%)	60	

HTN: Hypertension; HbA1c: Glycated haemoglobin; HOMA2-%S: Insulin sensitivity index; HOMA2-%B: β -secretion index; PBF: Percentage of body fat; 25(OH)D: 25-hydroxyvitaminD; OC: Osteocalcin; ucOC: Undercarboxylated osteocalcin; CTX: Serum carboxyl-terminal cross-linked telopeptide of type I collagen; iPTH: Serum intact parathormone; BMD: Bone mineral density; LS: Lumbar spine; FN: Femoral neck; TH: Total hip.

Data for continuous variables are presented as mean \pm SD. Data for categorical variables are presented as percentages.

Relationship between serum 25(OH)D concentrations and glucose metabolism parameters

A univariate linear regression analysis showed a significant positive association between the serum 25(OH)D level and HOMA2-%S ($p = 0.018$) (Fig. 1A). Likewise, inverse associations between the serum 25(OH)D level and HOMA2-%B ($p = 0.003$) (Fig. 1B) and serum insulin levels ($p = 0.048$) (Fig. 1C) were observed. For each increase of 10 ng/mL in the serum 25(OH)D concentration, an increase of 8.86% in HOMA2-%S and a decrease of 7.10% and 0.65 μ g/mL in HOMA2-%B and serum insulin levels, respectively, occurred. However, no association was observed between circulating concentrations of 25(OH)D and serum fasting glucose or HbA1c levels.

Relationship between 25(OH)D and fracture risk

To determine the relationship between levels of 25(OH)D and the risk of fracture in our study population, the association between FRAX index, 25(OH)D, and the parameters of glucose homeostasis was evaluated. In the correlation analysis a significant positive association between HbA1c and the risk of major osteoporotic fracture was found ($r = 0.434$, $p = 0.006$). However, this association was not observed between HbA1c and absolute risk of hip fracture ($r = 0.229$, $p = 0.167$). In a linear regression model, including FRAX index for major osteoporotic fracture as dependent variable and the parameters of glucose homeostasis (HbA1c, serum fasting glucose, serum insulin levels, HOMA2-% B, and HOMA2-% S) and 25(OH)D as independent variables, we found that HbA1c is the only variable

related to FRAX index ($B = 8.788$, 95% CI [1.785–15.792], $p = 0.016$). No association was found between absolute fracture risk measured by FRAX and the rest of the glucose homeostasis parameters analyzed.

The association between bone remodeling markers (ucOC, CTX, and OC) and 25(OH)D was evaluated in a correlation analysis. No significant relationship was observed between bone remodeling markers and 25(OH)D.

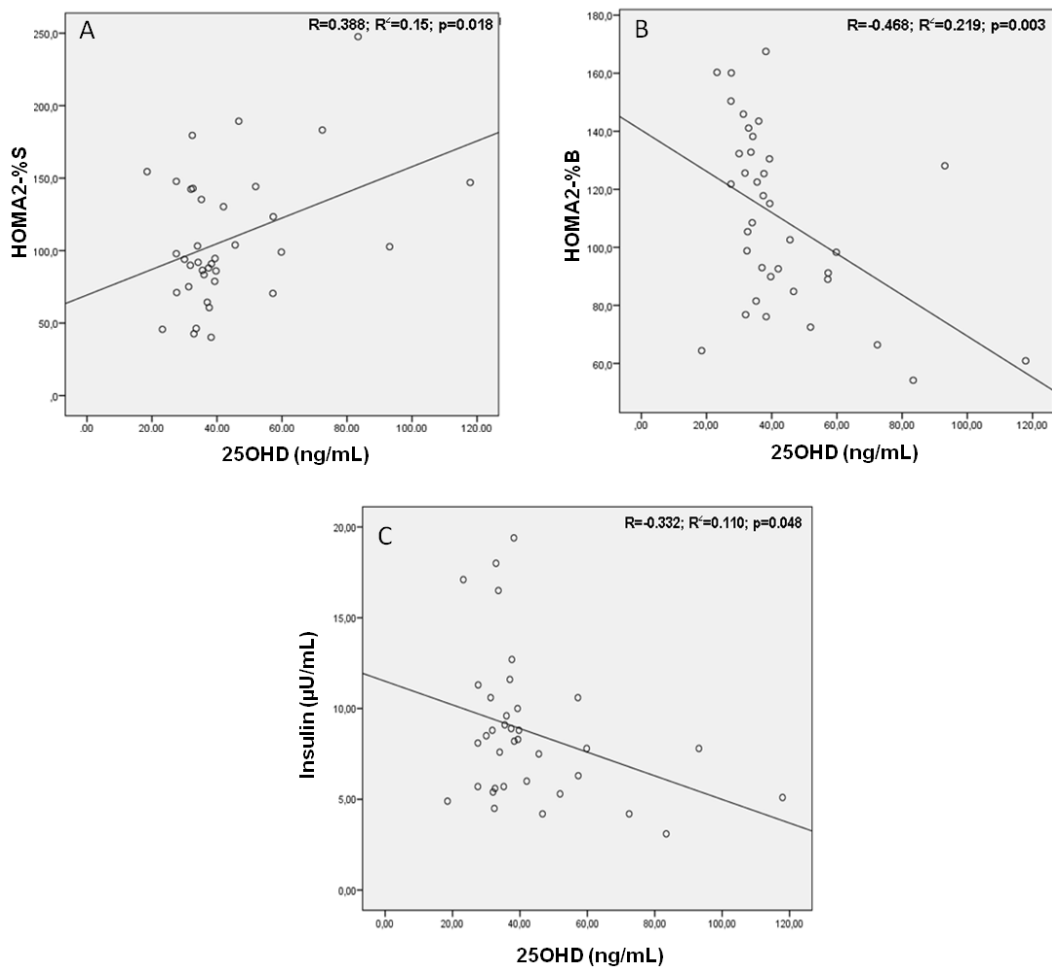


FIG. 1. Scatter plot showing the relationship between serum levels of 25(OH)D and glucose metabolism parameters by linear regression analysis. (A) 25(OH)D and HOMA2-%S; (B) 25(OH)D and HOMA2-%B; (C) 25(OH)D and insulin levels. 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D; HOMA2-%S, insulin sensitivity index; HOMA2-%B, b-secretion index.

Effect of serum 25(OH)D on glucose homeostasis parameters

To determine the independent effect of serum 25(OH)D on glucose metabolism parameters, multiple linear regression analysis, adjusted for the effect of other related variables, was performed. For this purpose, besides 25(OH)D, other variables that are biologically linked to glucose metabolism were included in the models (age, BMI, PBF, and ucOC) as independent variables. As dependent variables, the HOMA2-%S, HOMA2-%B and insulin levels were included in multiple linear regression analysis (Table 2).

Considering HOMA2-%S as the dependent variable and after adjustment for the variables that were included, a positive influence of 25(OH)D levels on the index of insulin sensitivity independently of age, BMI, PBF, and ucOC was observed. Likewise, the results showed an inverse effect of PBF on HOMA2-%S after adjusting for the other variables included in the model (Table 2).

The opposite effect was observed when HOMA2-%B was considered a dependent variable showing a significant negative effect of serum 25(OH)D on the insulin secretion index after adjusting for the effect of all variables included in the model. The PBF showed no effect on HOMA2-%B. Similar results were found for the effect of serum 25(OH)D on serum insulin levels. In this case, the results showed a negative effect of 25(OH)D and a direct influence of PBF on circulating concentrations of insulin independent of age, BMI, and ucOC (Table 2).

Table 2. Multiple linear regression analysis.

Dependent variable		Non-Standardized Coefficients		Typified Coefficients	<i>t</i>	<i>p</i>
		B	Error Typ.	Beta		
HOMA2-%S	Age (years)	-.422	.931	-.079	-.454	.653
	BMI (kg/m ²)	6.267	4.049	.524	1.548	.132
	PBF (%)	-4.738	2.327	-.687	-2.036	.050*
	ucOC (ng/mL)	-.099	.703	-.022	-.140	.889
	25(OH)D(ng/mL)	.842	.366	.368	2.297	.029*
HOMA2-%B	Age (years)	.301	.631	.085	.477	.637
	BMI (kg/m ²)	-1.446	2.744	-.182	-.527	.602
	PBF (%)	.580	1.576	.127	.368	.716
	ucOC (ng/mL)	-.284	.476	-.096	-.596	.555
	25(OH)D(ng/mL)	-.755	.248	-.498	-3.042	.005*
Insulin (μU/mL)	Age (years)	.036	.085	.077	.420	.677
	BMI (kg/m ²)	-.641	.368	-.601	-1.741	.092
	PBF (%)	.395	.217	.627	1.822	.078*
	ucOC (ng/mL)	-.032	.064	-.083	-.498	.622
	25(OH)D(ng/mL)	-.065	.033	-.332	-1.945	.061*

BMI: Body mass index; PBF: Percentage of body fat; ucOC: Undercarboxylated osteocalcin; 25(OH)D: 25-hydroxyvitamin D; HOMA2-%S: Insulin sensitivity index; HOMA2-%B: β-secretion index. *Level of significance: <0.10.

Subgroup analysis according to 25(OH)D concentrations

To study differences in glucose metabolism in the study population depending on the serum levels of 25(OH)D, a subgroup analysis was performed. When the sample was divided into two groups according to a cutoff of 30 ng/mL of 25(OH)D, which is considered sufficient for bone health, no significant differences were obtained in the parameters related to glucose metabolism (Table 3).

Table 3. Comparison of the glucose metabolism parameters according to the levels of 25(OH)D (≥ 30 ng/mL *vs* < 30 ng/mL).

	<30 ng/mL (n = 5)	≥ 30 ng/mL (n = 35)	<i>p</i>
HOMA2-%S (%)	103.4 \pm 47.4	108 \pm 46.5	0.837
HOMA2-%B (%)	131.4 \pm 40.6	106.5 \pm 27.9	0.090
Insulin (μU/mL)	9.4 \pm 4.9	8.5 \pm 3.9	0.666
Glucose (mg/dL)	82 \pm 11	87 \pm 8	0.168
HbA1c (%)	5.7 \pm 0.08	5.4 \pm 0.3	0.12

HOMA2-%S: insulin sensitivity index; HOMA2-%B: Index β -secretion; basal plasma insulin; basal plasma glucose; HbA1c: glycated hemoglobin.

Data for continuous variables are presented as mean \pm SD. Data for categorical variables are presented as percentages. Unpaired t test or Mann–Whitney test were used for comparisons between quantitative variables and χ^2 test for categorical variables. Level of significance: < 0.05 .

Subgroup analysis by 25(OH)D percentiles

To assess the level of 25(OH)D that determines significant differences in the glucose homeostasis of the study population, the whole sample was divided into subgroups based on 25(OH)D percentiles. A comparative study was performed according to the 50 percentile (37 ng/mL) and the 75 percentile (45 ng/mL). Statistically significant differences in HOMA2-%B and basal glucose were observed when the study groups were divided according to the 50 percentile (Table 4).

Table 4. Comparison of the glucose metabolism parameters according to the 50 and 75 percentiles of 25(OH)D (37 ng/mL and 45 ng/mL respectively).

	<i>p50</i>			<i>p75</i>		
	<37 ng/mL (n=18)	≥37 ng/mL (n=22)	<i>p</i>	<45ng/mL (n=28)	≥45ng/mL (n=12)	<i>p</i>
HOMA2- %S (%)	101.6±40.3	112.8±51.2	0.46	95.2±36.1	145.2±54.6	0.03*
HOMA2- %B (%)	122.7±28.2	97.6±27.9	0.01*	118.5±27.7	82.8±22.5	0.001*
Insulin (μU/mL)	9.2±4.3	8.2±3.7	0.44	9.5±4.0	6.0±2.3	0.02*
Glucose (mg/dL)	83.5±8.6	90.4±7.9	0.01*	86.3±9.1	89.5±8.1	0.34
HbA1c (%)	5.4±0.3	5.5±0.2	0.67	5.49±0.3	5.45±0.3	0.7

HOMA2-% S: insulin sensitivity index; HOMA2-% B: Index β-secretion; basal plasma insulin; basal plasma glucose; HbA1c: glycated hemoglobin.

Data for continuous variables are presented as mean ± SD. Data for categorical variables are presented as percentages. Unpaired t test or Mann–Whitney test were used for comparisons between quantitative variables and X² test for categorical variables. Level of significance: <0.05.

Considering the 75 percentile, we found that the patients with serum 25(OH)D ≥45 ng/mL showed greater HOMA2- %S values (Fig. 2A), lower HOMA2-%B values (Fig. 2B), and lower insulinemia (Fig. 2C).

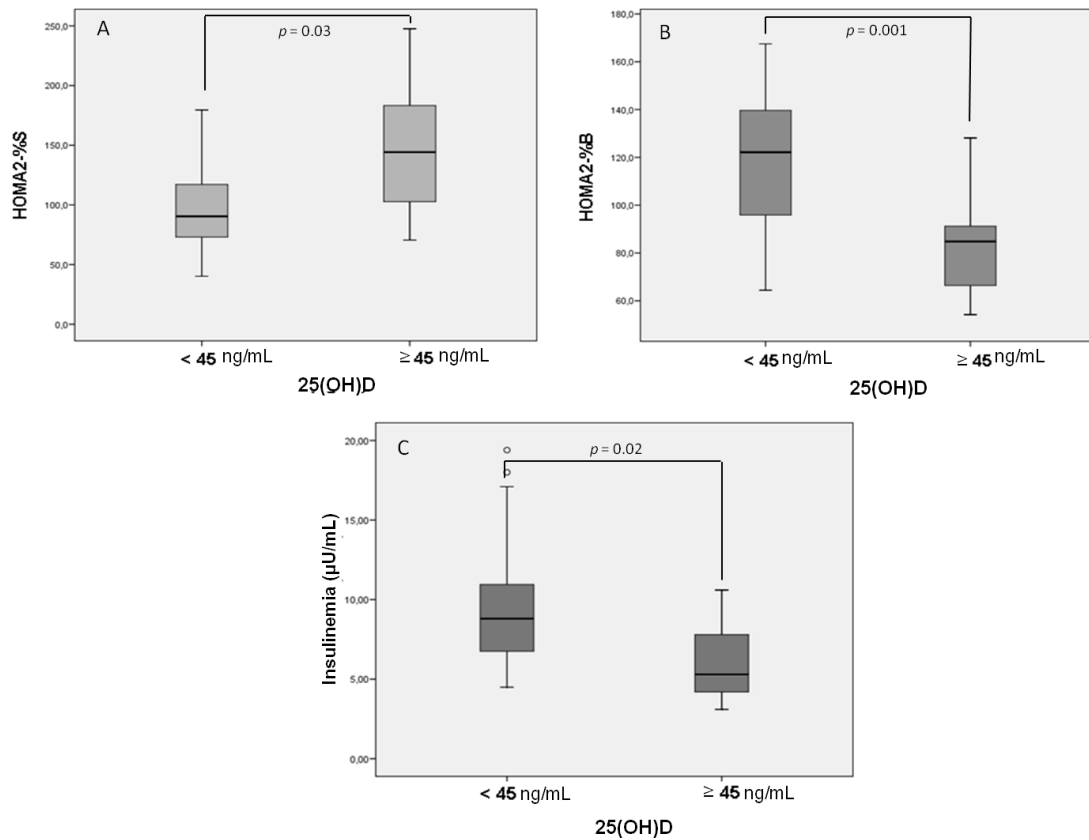


FIG. 2. Box plot representing glucose metabolism parameters according to the 75 percentile of 25(OH)D levels. (A) HOMA2-%S; (B) HOMA2-%B; (C) insulinemia. Differences between groups were determined by the Mann–Whitney t test. The statistical significance was set at $p < 0.05$ (two tailed).

5. Discussion

Postmenopausal women with bone fragility commonly have other comorbidities such as MS, type 2 diabetes (T2D), or CVD^{3,6}. Moreover, inadequate circulating concentrations of 25(OH)D have been associated with cardiometabolic complications in addition to their effects on bone health in the general population. However, the association between these disorders in women with PMO has not been established. Serum levels of 25(OH)D showed a significant positive association with HOMA2-%S and an inverse association with HOMA2-%B and insulin levels, independent of other factors usually associated with insulin resistance such as age, BMI, PBF, and ucOC.

Although one of the antidiabetic effects attributed to vitamin D is the stimulation of insulin secretion by pancreatic beta cells where the vitamin D receptor is expressed^{23,24}, our results seem to link a better vitamin D status with a lower rate of insulin secretion (HOMA2-%B) and insulinemia. This could be explained by the improved insulin sensitivity (HOMA2-%S), which results in a lower requirement of insulin to achieve the same effect. This would constitute a protective mechanism against hyperinsulinism and exhaustion of pancreatic beta cells.

Several mechanisms have been proposed to explain the improvement in insulin sensitivity caused by vitamin D, from an increased expression of insulin receptors to a modulation of the inflammatory response²³⁻²⁷. Recently, involvement of vitamin D in the modulation of insulin sensitivity at the skeletal muscle level through Forkhead Box O1 factor (FOXO1) has been shown²⁸. FOXO1 is a key negative regulator in glucose homeostasis inhibited by insulin under physiological conditions. In vitro and animal model studies have demonstrated the role of vitamin D in the regulation of FOXO1 activation and its involvement in the genesis of insulin resistance²⁸, constituting an important metabolic pathway involved in the development of MS and T2D. Our results show no relationship between ucOC and parameters of glucose homeostasis, suggesting that the influence of the 25(OH)D in the glucose metabolism is not mediated by ucOC.

Furthermore, our results show that PBF, rather than BMI, in postmenopausal women is an important indicator for the development of insulin resistance. According to this, we found a direct association between PBF and insulin levels and an inverse association with HOMA2-%S. This could be explained by the weight gain and visceral fat that postmenopausal women experience, promoting the development of insulin resistance and its clinical consequences such as glucose intolerance, T2D, HTN, and dyslipidemia²⁹.

The relationship between vitamin D deficiency and insulin resistance has been evidenced in numerous studies in recent years³⁰⁻³². However, to date, there are no studies that have evaluated this relationship in nondiabetic women with PMO. In

agreement with our results, some longitudinal studies have examined the relationship between 25(OH)D and insulin resistance in a nondiabetic general population³³⁻³⁴, suggesting that the improvement in the status of vitamin D reduces the risk of developing insulin resistance, contributing to the primary prevention of T2D and CVD³³⁻³⁴. However, the studies conducted in populations with prediabetes or established T2D have not shown the benefits of the improvement of vitamin D status on glycemic control or prevention of T2D^{35,36}. These findings suggest that the beneficial effects of vitamin D could be restricted to subjects without established T2D, but not for the treatment of insulin resistance in T2D. Thus, subjects with no established disturbances in glucose metabolism but at high risk of developing MS, T2D, and/or CVD, such as women with PMO, could constitute an attractive target population to optimize circulating 25(OH)D levels. In this way, this strategy could contribute to the primary prevention of glucose metabolism disorders and the development of cardiovascular complications.

Therefore, it is of great interest to determine the optimal levels of 25(OH)D associated with improved glucose metabolism in postmenopausal women. Most scientific societies consider that serum 25(OH)D concentrations above 30 ng/mL are sufficient to maintain appropriate bone health¹³. However, our results show no apparent differences in glucose metabolism parameters considering vitamin D levels ≥ 30 ng/mL. Our most consistent finding was observed when we set the cutoff point at 45 ng/mL. Patients with 25(OH)D levels above this cutoff point showed an increase of 52.5% in HOMA2-%S, a reduction of 30.1% in HOMA2-%B, and a decrease of 36.8% in basal plasma insulin concentrations.

Thus far, there are few data regarding the optimal concentration of 25(OH)D to reduce the risk of developing insulin resistance, T2D, and the subsequent complications. A recent study showed that 25(OH)D concentrations ≥ 26 ng/mL support normal glucose homeostasis in overweight and obese postmenopausal black and white women³⁷. The discrepancy in the results on the level of 25(OH)D may be because that study included black and white women who were not osteoporotic. Moreover, the authors mention that a large prospective interventional study is

needed to confirm that increasing 25(OH)D concentration above 26 ng/mL improves glucose homeostasis and insulin sensitivity³⁷. Consistent with our findings, a recent study has shown a significant increase in HOMA-IR, HbA1c, and fasting plasma glucose in healthy individuals with serum concentrations of 25(OH)D <20 ng/mL versus those with 25(OH)D concentrations >40 ng/mL³⁸.

Our study has some limitations. First, our study population included only nondiabetic women with PMO, all of them Caucasians and from southern Granada. Therefore, our results cannot be extrapolated to the entire population of postmenopausal women. Second, the small sample size due to strict inclusion and exclusion criteria limits the ability to adjust for other potential confounders in our model, and therefore, the possibility of bias cannot be excluded completely. Third, we do not have specific measurements of visceral fat in our study population, which could provide additional information to our results. Finally, a cross-sectional study does not allow us to establish a cause–effect relationship or the direction of the results. However, although additional studies are needed to confirm our results, the present findings, for a population of women with PMO that has not been studied thus far, provide valuable information to augment these preliminary results to establish new preventive strategies to minimize glucose and cardiovascular disturbances. Moreover, the potential of the data obtained in our study lies in its clinical impact. If we consider 25(OH)D status as a modifiable risk factor against the development of MS, T2D, and CVD, our results could be of great importance, taking into account the high number of women with PMO receiving vitamin D supplementation.

6. Conclusions

Our results show that 25(OH)D status may be related to glucose homeostasis. We suggest that the optimization of 25(OH)D serum levels in women with PMO without established disturbances in glucose metabolism could represent a preventive strategy against the development of comorbidities associated with PMO such as MS, T2D, and CVD, in addition to its known benefit on bone health. We suggest that

the established aim of achieving a 25(OH)D level ≥ 30 ng/mL is insufficient to improve glucose metabolism and propose that the optimal 25(OH)D status should be ≥ 45 ng/mL to achieve this purpose. However, future prospective intervention studies with a larger sample size are necessary to confirm this hypothesis.

7. References

1. Hilger J, Friedel A, Herr R, et al. A systematic review of vitamin D status in populations worldwide. *Br J Nutr.* 2014;111(1):23-45. doi:10.1017/S0007114513001840
2. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007;357(3):266-281. doi:10.1056/NEJMra070553
3. Holick MF. Vitamin D: extraskeletal health. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010;39(2):381-400. doi:10.1016/j.ecl.2010.02.016
4. Pike JW, Meyer MB. The vitamin D receptor: new paradigms for the regulation of gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D(3). *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010;39(2):255-269. doi:10.1016/j.ecl.2010.02.007
5. Mizwicki MT, Norman AW. The vitamin D sterol-vitamin D receptor ensemble model offers unique insights into both genomic and rapid-response signaling. *Sci Signal.* 2009;2(75):re4. doi:10.1126/scisignal.275re4
6. Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(6):2017-2029. doi:10.1210/jc.2007-0298
7. Melamed ML, Michos ED, Post W, Astor B. 25-hydroxyvitamin D levels and the risk of mortality in the general population. *Arch Intern Med.* 2008;168(15):1629-1637. doi:10.1001/archinte.168.15.1629
8. Schöttker B, Haug U, Schomburg L, et al. Strong associations of 25-hydroxyvitamin D concentrations with all-cause, cardiovascular, cancer, and respiratory disease mortality in a large cohort study. *Am J Clin Nutr.* 2013;97(4):782-793. doi:10.3945/ajcn.112.047712
9. Zittermann A, Iodice S, Pilz S, Grant WB, Bagnardi V, Gandini S. Vitamin D deficiency and mortality risk in the general population: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Am J Clin Nutr.* 2012;95(1):91-100. doi:10.3945/ajcn.111.014779
10. Reyes-García R, Rozas-Moreno P, Muñoz-Torres M. [Cardiovascular disease, osteoporosis and risk of fracture]. *Rev Clin Esp.* 2012;212(4):188-192. doi:10.1016/j.rce.2011.06.006
11. Manson JE, Brannon PM, Rosen CJ, Taylor CL. Vitamin D Deficiency - Is There Really a Pandemic? *N Engl J Med.* 2016;375(19):1817-1820. doi:10.1056/NEJMp1608005

12. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr.* 2006;84(1):18-28.
13. González-Macías J, Del Pino-Montes J, Olmos JM, Nogués X, en nombre de la Comisión de Redacción de las Guías de Osteoporosis de la SEIOMM. Clinical practice guidelines for postmenopausal, glucocorticoid-induced and male osteoporosis. Spanish Society for Research on Bone and Mineral Metabolism (3rd updated version 2014). *Rev Clin Esp.* 2015;215(9):515-526. doi:10.1016/j.rce.2015.08.003
14. Topolski TD, LoGerfo J, Patrick DL, Williams B, Walwick J, Patrick MB. The Rapid Assessment of Physical Activity (RAPA) among older adults. *Prev Chronic Dis.* 2006;3(4):A118.
15. Mezquita-Raya P, Muñoz-Torres M, Luna JD, et al. Relation between vitamin D insufficiency, bone density, and bone metabolism in healthy postmenopausal women. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res.* 2001;16(8):1408-1415. doi:10.1359/jbmr.2001.16.8.1408
16. Genant HK, Jergas M. Assessment of prevalent and incident vertebral fractures in osteoporosis research. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA.* 2003;14 Suppl 3:S43-55. doi:10.1007/s00198-002-1348-1
17. Leslie WD, Majumdar SR, Lix LM, et al. High fracture probability with FRAX usually indicates densitometric osteoporosis: implications for clinical practice. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA.* 2012;23(1):391-397. doi:10.1007/s00198-011-1592-3
18. Napoli N, Chandran M, Pierroz DD, et al. Mechanisms of diabetes mellitus-induced bone fragility. *Nat Rev Endocrinol.* 2017;13(4):208-219. doi:10.1038/nrendo.2016.153
19. Sellmeyer DE, Civitelli R, Hofbauer LC, Khosla S, Lecka-Czernik B, Schwartz AV. Skeletal Metabolism, Fracture Risk, and Fracture Outcomes in Type 1 and Type 2 Diabetes. *Diabetes.* 2016;65(7):1757-1766. doi:10.2337/db16-0063
20. Shanbhogue VV, Mitchell DM, Rosen CJ, Bouxsein ML. Type 2 diabetes and the skeleton: new insights into sweet bones. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2016;4(2):159-173. doi:10.1016/S2213-8587(15)00283-1
21. García-Martín A, Rozas-Moreno P, Reyes-García R, et al. Circulating levels of sclerostin are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(1):234-241. doi:10.1210/jc.2011-2186
22. Janghorbani M, Van Dam RM, Willett WC, Hu FB. Systematic review of type 1 and type 2 diabetes mellitus and risk of fracture. *Am J Epidemiol.* 2007;166(5):495-505. doi:10.1093/aje/kwm106
23. Pilz S, Tomaschitz A, März W, et al. Vitamin D, cardiovascular disease and mortality. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2011;75(5):575-584. doi:10.1111/j.1365-2265.2011.04147.x

24. von Hurst PR, Stonehouse W, Coad J. Vitamin D supplementation reduces insulin resistance in South Asian women living in New Zealand who are insulin resistant and vitamin D deficient - a randomised, placebo-controlled trial. *Br J Nutr.* 2010;103(4):549-555. doi:10.1017/S0007114509992017
25. Belenchia AM, Tosh AK, Hillman LS, Peterson CA. Correcting vitamin D insufficiency improves insulin sensitivity in obese adolescents: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2013;97(4):774-781. doi:10.3945/ajcn.112.050013
26. Harris SS, Pittas AG, Palermo NJ. A randomized, placebo-controlled trial of vitamin D supplementation to improve glycaemia in overweight and obese African Americans. *Diabetes Obes Metab.* 2012;14(9):789-794. doi:10.1111/j.1463-1326.2012.01605.x
27. Holick MF. Nutrition: Diabetes and Death Defying vitamin D. *Nat Rev Endocrinol.* 2012;8(7):388-390. doi:10.1038/nrendo.2012.84
28. Chen S, Villalta SA, Agrawal DK. FOXO1 Mediates Vitamin D Deficiency-Induced Insulin Resistance in Skeletal Muscle. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res.* 2016;31(3):585-595. doi:10.1002/jbmr.2729
29. Tchernof A, Després J-P. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. *Physiol Rev.* 2013;93(1):359-404. doi:10.1152/physrev.00033.2011
30. Mirhosseini N, Vatanparast H, Mazidi M, Kimball SM. The Effect of Improved Serum 25-Hydroxyvitamin D Status on Glycemic Control in Diabetic Patients: A Meta-Analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017;102(9):3097-3110. doi:10.1210/jc.2017-01024
31. Santos RKF, Brandão-Lima PN, Tete RMDD, Freire ARS, Pires LV. Vitamin D ratio and glycaemic control in individuals with type 2 diabetes mellitus: A systematic review. *Diabetes Metab Res Rev.* November 2017. doi:10.1002/dmrr.2969
32. Tao S, Yuan Q, Mao L, Chen F-L, Ji F, Cui Z-H. Vitamin D deficiency causes insulin resistance by provoking oxidative stress in hepatocytes. *Oncotarget.* 2017;8(40):67605-67613. doi:10.18632/oncotarget.18754
33. Pham T-M, Ekwaru JP, Loehr SA, Veugelers PJ. The Relationship of Serum 25-Hydroxyvitamin D and Insulin Resistance among Nondiabetic Canadians: A Longitudinal Analysis of Participants of a Preventive Health Program. *PloS One.* 2015;10(10):e0141081. doi:10.1371/journal.pone.0141081
34. Tepper S, Shahar DR, Geva D, Ish-Shalom S. Differences in homeostatic model assessment (HOMA) values and insulin levels after vitamin D supplementation in healthy men: a double-blind randomized controlled trial. *Diabetes Obes Metab.* 2016;18(6):633-637. doi:10.1111/dom.12650
35. Jorde R, Sollid ST, Svartberg J, et al. Vitamin D 20,000 IU per Week for Five Years Does Not Prevent Progression From Prediabetes to Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(4):1647-1655. doi:10.1210/jc.2015-4013

36. Krul-Poel YHM, Westra S, ten Boekel E, et al. Effect of Vitamin D Supplementation on Glycemic Control in Patients With Type 2 Diabetes (SUNNY Trial): A Randomized Placebo-Controlled Trial. *Diabetes Care*. 2015;38(8):1420-1426. doi:10.2337/dc15-0323
37. 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. doi:10.3945/jn.114.190660
38. Esteghamati A, Aryan Z, Esteghamati A, Nakhjavani M. Vitamin D deficiency is associated with insulin resistance in nondiabetics and reduced insulin production in type 2 diabetics. *Horm Metab Res*. 2015;47(4):273-279. doi:10.1055/s-0034-1389903

Verónica Ávila Rubio

Tesis Doctoral

Granada, 2018