

DEFINICIÓN DE DEFICIENCIA O SUFICIENCIA DE VITAMINA D SEGÚN EL PUNTO DE INFLEXIÓN DE LA HORMONA PARATIROIDEA: DIFERENCIA ENTRE ENSAYOS DE VITAMINA D TOTAL DE PRIMERA y SEGUNDA GENERACIÓN

Cabral MF¹; Cabrera NI²; Gough M²; Maldonado MV²; Cisella Y¹; de Elías RF²; Kiener G²; Inchauspe ME¹; Andrada MC¹

RESUMEN

Introducción: Existe controversia con respecto a la definición de deficiencia o suficiencia de vitamina D (VD). Los criterios utilizados se basan en la relación entre hormona paratiroidea (PTH) y VD. Nuestros objetivos fueron analizar las variaciones de PTH con la concentración de VD medida por métodos de primera y segunda generación (VD-I y VD-II) y obtener los valores de VD que permitan definir los estados de deficiencia o suficiencia de la misma.

Materiales y Métodos: se midieron los niveles de calcio, VD y PTH en 152 pacientes (127 mujeres y 25 hombres) entre 17 y 80 años. La VD fue valorada por los test VD-I y VD-II; siendo el test VD-II más específico ya que no cruza con 24,25 dihidroxi-vitamina D. Para evaluar la relación entre PTH y VD se dividió la cohorte en 2 grupos en base al límite superior de referencia de PTH. En la definición del estatus de VD se realizaron gráficos de caja estratificando las muestras de acuerdo con los niveles de VD. Se analizó la concordancia entre los test VD-I y VD-II. **Resultados:** En la comparación entre los grupos, la diferencia fue significativa para PTH y VD y no significativa para calcio. Hubo, además, diferencia significativa entre los test VD-I y VD-II y la concordancia fue buena o muy buena de acuerdo al grupo. Los puntos de inflexión en los niveles de VD fueron 22,45 ng/mL y 17,5 ng/mL para los test VD-I y VD-II, respectivamente. **Conclusión:** Se observó una relación inversa entre PTH y VD. La buena concordancia entre VD-I y VD-II sugiere que ambos test son útiles en el análisis del estatus de VD. De acuerdo con el test empleado, 22,45 ng/mL o 17,5 ng/mL podrían ser consideradas como líneas de corte para definir los estados de deficiencia y/o suficiencia de VD.

Palabras clave: vitamina D, hormona paratiroidea, deficiencia de vitamina D, suficiencia de vitamina D, puntos de inflexión

¹Bioquímica especialista en Endocrinología – Laboratorio Central – Sanatorio Allende - Córdoba - Argentina.

²Bioquímica/o – Laboratorio Central – Sanatorio Allende – Córdoba - Argentina.

✉ María Fernanda Cabral
fercabral92@hotmail.com

BIOQUINFORMA DIGITAL

Publicación on-line del Colegio de Bioquímicos de la Provincia de Córdoba (ISSN: 2344-9926)

BIOQUINFORMA DIGITAL 1/2020.

INTRODUCCIÓN

La vitamina D (VD) interviene en una gran variedad de funciones fisiológicas, fundamentalmente en las relacionadas con el mantenimiento de la homeostasis de calcio y fósforo. Mediante la unión a su receptor, la VD estimula la absorción intestinal de calcio, así como la reabsorción de calcio y fósforo a nivel de

los túbulos renales, mientras que en hueso aumenta la resorción e inhibe la mineralización de la matriz ósea. El metabolismo de la VD es regulado por el calcio, la hormona paratiroidea (PTH) y el factor de crecimiento fibroblástico 23 que tiene actividad fosfatúrica. La PTH induce la síntesis renal de la forma biológicamente activa de VD (1,25-dihidroxitamina D) quien, a su vez, suprime la producción de PTH por la glándula paratiroides ^{1,2}.

La deficiencia de VD en adultos se asocia a osteomalacia, osteopenia y osteoporosis con el subsecuente aumento del riesgo de fracturas; mientras que en los niños provoca raquitismo, anomalías esqueléticas, retraso en el crecimiento y baja estatura ³⁻⁶. Además de regular los niveles de calcio en sangre, numerosos estudios indican que la VD tiene una función fundamental en el crecimiento normal en la pubertad, en la regulación de la respuesta inmune, en la prevención del cáncer y en el control del metabolismo de la insulina. Desórdenes autoinmunes (diabetes mellitus tipo 1, artritis reumatoidea y esclerosis múltiple), cáncer y enfermedades metabólicas (diabetes mellitus tipo 2, síndrome metabólico, hipertensión arterial y enfermedad cardiovascular) han sido asociados a la deficiencia de VD ⁷⁻¹¹.

La VD o calciferol incluye 2 secoesteroides: ergocalciferol (VD₂) y colecalciferol (VD₃), que son producidos por fotólisis a partir de precursores naturales de esteroides. El 90% de VD₃ es sintetizada en la piel por efecto de la luz solar, mientras que una pequeña porción puede ser ingerida directamente por el consumo de productos animales como lácteos y aceite de pescado. VD₂, en cambio, es de origen vegetal y se incorpora al organismo a través de alimentos fortificados con vitaminas o suplementos dietarios. VD₂ y VD₃ son biológicamente inactivas y aunque difieren en sus cadenas laterales, ambas se hidroxilan en el hígado en la posición 25 para formar 25-hidroxitamina D (25[OH]D), principal forma circulante de la VD. Tanto 25(OH)D₂ como 25(OH)D₃ son metabolizadas en riñón y en sitios extrarrenales (macrófagos, piel, próstata, intestino, tejido mamario y placenta) dando lugar a una variedad de metabolitos, principalmente la forma biológicamente activa, 1,25-dihidroxitamina D (1,25[OH]₂D) y en menor medida la forma inactiva 24,25-dihidroxitamina D (24,25[OH]₂D) ^{1,2,12}.

La 25(OH)D es el principal precursor de la 1,25(OH)₂D; su medición en suero se acepta como un indicador clínico confiable del estatus o estado de la vitamina D en humanos, debido a su elevada concentración y su larga vida media de aproximadamente 2 a 3 semanas ¹².

Debido a la alta demanda en la medición de VD se han desarrollado inmunoensayos en plataformas automatizadas destinadas al uso en laboratorios clínicos. Estas técnicas son más rápidas y menos laboriosas que las manuales, pero los estudios interlaboratorios no han mostrado resultados concordantes entre los distintos métodos ¹³. A pesar de los avances tecnológicos, los inmunoensayos de VD presentan limitaciones: el carácter hidrofóbico del analito, la elevada concentración de la proteína unidora de VD (VDBP) en las muestras y problemas de reactividad cruzada con metabolitos y variantes que constituyen importantes desafíos para los diferentes inmunoensayos. La concentración sérica de VDBP excede 100 a 1000 veces la de la 25OHD, por lo que VDBP debe ser completamente separada de la muestra o inactivada ya que hasta un 0,5% de VDBP puede interferir en la medición. Por otro lado, la concentración de VDBP se ve alterada en pacientes con falla renal, cuidados intensivos o embarazadas, lo que puede afectar los resultados. Con respecto a los problemas de especificidad, se ha demostrado que en ensayos que miden 25OHD total (25OHD₂+25OHD₃) los anticuerpos no reconocen igualmente las 2 formas de VD. Se ha observado también reactividad cruzada de anticuerpos con la 24,25(OH)₂D, producto del catabolismo de la 25(OH)D. La 24,25(OH)₂D tiene una concentración aproximada de 10 ng/mL en suero constituyendo de 2 a 20% del total de la 25(OH)D circulante lo que produce una interferencia importante en la medición de la VD ¹³⁻¹⁶.

La falta de trazabilidad de los estándares y la ausencia de valores de referencia ha conducido a diferencias en los resultados de los distintos inmunoensayos, por lo que en el año 2010 surgió, a nivel internacional, el Programa de estandarización de VD (VDSP), con el propósito de que los resultados de VD sean comparables entre los distintos laboratorios independientemente del tiempo, el lugar o el método empleado. Según este programa, todos los test comerciales deberían tener calibradores trazables frente al método de referencia y a los

materiales de referencia proporcionados por el *National Institute of Standards and Technology* (NIST) ¹⁷⁻¹⁹. El método de espectrometría de masas en tándem acoplado a la cromatografía líquida (LC-MS/MS) ha sido reconocido como el método de referencia o estándar de oro para la medición de 25(OH)D por el *Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine*. Inicialmente descrito por Tai y col.²⁰, es una metodología que proporciona una alta sensibilidad y especificidad pero es más compleja y requiere de personal entrenado ²¹⁻²³.

Roche comercializa un inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (EQL) de primera generación (VD-I) que valora la 25(OH)D total (VD total) ²⁴. Recientemente, ha presentado un inmunoensayo de segunda generación (VD-II) que no da reacción cruzada con el metabolito 24,25(OH)₂D ²⁵. Ambos test son trazables frente al método de referencia y a los materiales de referencia proporcionados por el NIST.

En la práctica clínica, suelen encontrarse con frecuencia niveles elevados de PTH en pacientes que tienen valores normales de creatinina, filtrado glomerular, calcio y fósforo. En general, este aumento de PTH está asociado al déficit de VD. Varios estudios han reportado la correlación negativa entre PTH y VD. La disminución progresiva de los niveles de VD estimula la secreción de PTH por un mecanismo de retroalimentación conduciendo a un hiperparatiroidismo secundario sin que se observen modificaciones en la concentración de calcio sérico ²⁶⁻²⁹.

Algunos investigadores definen la deficiencia de VD en base a los efectos biológicos a nivel esquelético y extra-esquelético que producen los niveles bajos de VD. Otros en cambio, en base a la relación inversa que existe entre PTH y VD, han establecido criterios para definir los niveles de deficiencia de VD según los puntos de inflexión o líneas de corte de la concentración de VD. De acuerdo a este concepto, la deficiencia de VD se ha definido como la concentración de VD por debajo de la cual la PTH comienza a aumentar, dando lugar a un hiperparatiroidismo secundario cuando se produce la estimulación máxima de su secreción. Con este mismo criterio, la suficiencia de VD (valores óptimos o deseables) se establece cuando los niveles de PTH descienden hacia una meseta alcanzando valores constantes al producirse una supresión máxima de su secreción.

En general, existe consenso en considerar que la deficiencia de VD se observa a concentraciones de VD menores a 20 ng/mL, pero hay mucha controversia con respecto a los niveles óptimos o deseables ^{30,31}.

Resulta de interés investigar cuáles son los niveles de VD capaces de producir una elevación anormal de los niveles de PTH o la supresión máxima de su secreción cuando se utilizan test estandarizados de primera y segunda generación.

Los objetivos de este estudio fueron analizar la variación de los niveles de PTH en relación con la concentración de VD medida por VD-I y VD-II en un grupo de sujetos de la ciudad de Córdoba, Argentina y obtener los valores de VD que permitan definir los estados de deficiencia o suficiencia de VD.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio transversal. Se analizaron las muestras de 152 pacientes (127 mujeres y 25 hombres) con una edad media de 50 años (rango: 17 a 80 años) que concurren al Laboratorio Central del Sanatorio Allende en el periodo agosto-noviembre de 2019. Todos los pacientes tenían indicación de estudio del metabolismo fosfocálcico. Se excluyeron los pacientes en tratamiento con VD, embarazo, lactancia, enfermedad renal, enfermedad hepática, enfermedad granulomatosa, linfoma, enfermedades autoinmunes con compromiso renal (artritis reumatoidea, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple), osteopenia, raquitismo, osteomalacia, enfermedad paratiroidea, cáncer o HIV ^{32,33}.

Las muestras de sangre fueron obtenidas en condiciones de ayuno. Luego de la centrifugación, se separaron alícuotas de plasma y suero que se conservaron a -20 °C hasta el momento de la medición. La PTH fue valorada en plasma por EQL en COBAS 8000 e602 (Roche diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania) por un inmunoensayo no competitivo de segunda generación. La medición de calcio sérico se realizó en COBAS 8000 c502 (Roche diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania). Los niveles de VD total fueron determinados por EQL mediante 2 ensayos: VD-I en COBAS 8000 e602 (Roche diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania) y VD-II en COBAS e801 (Roche diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania). Tanto VD-I como VD-II son ensayos competitivos diseñados para la

medición de VD total. Ambos utilizan como proteína de captura una proteína fijadora de VD marcada con quelato de rutenio que une tanto 25(OH)D3 como 25(OH)D2. En el ensayo VD-II, la reactividad cruzada con la 24,25(OH)₂D está bloqueada por un anticuerpo monoclonal específico^{25,34}. VD-I y VD-II han sido estandarizados frente a los procedimientos de medición de referencia ID-LC-MS/MS, trazable a su vez, al material de referencia estándar 2972 del NIST. La sensibilidad funcional es similar para ambos test (5,0 ng/mL), pero los intervalos de medición son diferentes (3 a 70 ng/mL para VD-I y 3 a 100 ng/mL para VD-II). La repetibilidad y la precisión intermedia son 4,6% y 4,7% para niveles respectivos de 20,2 ng/mL y 39,6 ng/mL en VD-I y 5,8% y 7,2% para niveles de 20,2 ng/mL y 39,6 ng/mL en VD-II. La reactividad cruzada de la 24,25(OH)D es 149% en VD-I y 13,7% en VD-II.

Para estudiar la relación entre los niveles de PTH y VD, se dividió la cohorte de pacientes en 2 grupos en base al valor del límite superior del rango (LSR) de PTH (65 pg/mL): PTH<65 y PTH>65. Se analizó la concordancia *kappa* entre VD-I y VD-II en las muestras PTH<65 y las muestras PTH>65.

Con el propósito de encontrar la concentración de VD (punto de inflexión) que permita establecer los estados de deficiencia o suficiencia de VD, se estratificaron las muestras de acuerdo con las concentraciones de VD en subgrupos de 5 ng/mL (excepto el subgrupo 1 que incluyó las muestras con concentraciones entre 5 y 15 ng/mL). Se calculó la mediana de cada subgrupo y se realizaron gráficos de caja. El valor mediana del subgrupo en el cual la curva cambia su pendiente fue considerado como el punto de inflexión. Se realizó correlación entre PTH y VD y entre PTH y VD con la edad.

Análisis estadístico: Los valores de VD medidos mediante VD-I y VD-II no mostraron una distribución Gaussiana, por lo que se aplicaron test no paramétricos para su análisis. Se utilizaron análisis de correlación de Spearman, test de Wilcoxon para muestras apareadas, gráficos de dispersión, gráficos de caja, prueba de Kruskal-Wallis y análisis de concordancia *Kappa*. Se consideró significativo $p < 0,05$.

RESULTADOS

Los valores mediana (mínimo-máximo) de VD obtenidos para los test VD-I y VD-II fueron 27,4

(6,5-68,9) ng/mL y 21,0 (6,2-62,8) ng/mL, respectivamente, siendo la diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$).

Al distribuir los pacientes de acuerdo con el LSR de PTH, 96 (63%) conformaron el grupo PTH<65 y 56 (37%) el grupo PTH>65. Las medianas (mínimo-máximo) de PTH fueron respectivamente 41,3 (13,1-64,5) pg/mL y 81,2 (65,0-146,0) pg/ml para cada grupo, mientras que los niveles de calcio fueron similares en ambos. La distribución según el género fue semejante para los 2 grupos, 17 masculinos (18%) y 79 femeninos (82%) en PTH<65 y 8 masculinos (14%) y 48 femeninos (86%) en PTH>65. La edad fue significativamente menor en PTH<65; en el análisis de regresión, se observó cierto grado de correlación positiva entre PTH y edad ($R=0,39$, $p < 0,05$). Independientemente de su medición por VD-I o VD-II, los valores de VD fueron mayores en PTH<65, aunque sin significancia estadística para VD-II. (Tabla 1). No se halló correlación entre edad y VD.

Los gráficos de dispersión de los valores de PTH en función de los niveles de VD mostraron una variación de PTH muy amplia; sin embargo, se pudo observar una tendencia de incremento de la PTH a medida que las concentraciones de VD eran menores. La correlación negativa entre PTH y VD fue baja pero significativa ($R=-0,37$ para VD-I y $-0,26$ para VD-II) (Figuras I y II).

Para hallar los puntos de inflexión en la variación de PTH en función de VD, se estratificaron los valores de VD obteniéndose 9 subgrupos para VD-I y 8 subgrupos para VD-II y se calcularon las medianas para cada uno de ellos (Tablas 2 y 3). Se excluyeron 4 valores de VD-II por ser *outliers*. Los datos se expresaron mediante gráficos de caja. En cada gráfico se observa que, a nivel del punto de inflexión, la curva cambia su pendiente. El punto de inflexión para VD-I se halló en el subgrupo 3 y fue una concentración de VD de 22,5 (20,0-24,9) ng/mL, mientras que para VD-II el punto de inflexión fue 17,5 (15,1-19,9) ng/mL dentro del subgrupo 2 (Figuras 3 y 4). Por debajo de estos valores, la PTH se incrementó notablemente, mientras que, a valores mayores a estos puntos de inflexión, alcanzó una meseta. Cuando se compararon las medianas de los subgrupos en cada parte de la curva, se halló que en la zona de incremento de PTH la diferencia fue significativa entre las subgrupos 1,2 y 3 ($p=0,0008$) en VD-I y entre los subgrupos 1 y 2 ($p < 0,045$) en VD-II, mientras que, en la

zona de meseta, no hubo diferencia significativa entre los subgrupos 3 (VD-I) o 2 (VD-II) y los restantes.

Se realizó el análisis de concordancia entre VD-I y VD-II en todo el rango de valores de VD y se halló un $k=0,71$, considerado como bueno. Cuando se efectuó el análisis por separado en los grupos $PTH<65$ y $PTH>65$, la concordancia hallada fue buena para el grupo $PTH<65$ ($k=0,59$) y muy buena ($k=0,82$) para el grupo $PTH>65$.

DISCUSIÓN

En este trabajo se utilizaron los inmunoensayos VD-I y VD-II para la medición de VD total, obteniéndose como era de esperar, valores más bajos con VD-II en relación a VD-I. Batista y col.³⁴ compararon el desempeño de VD-I y VD-II en el proceso de validación del nuevo test de segunda generación obteniendo un *bias* negativo para VD-II en relación a VD-I. Los autores realizaron también la comparación de VD-I y VD-II con LC-MS/MS, hallando un *bias* positivo para VD-I pero negativo para VD-II. Además, VD-II correlacionó mejor que VD-I con LC-MS/MS. Nuestros resultados mostraron efectivamente la diferencia entre VD-I y VD-II, ya que al no cruzar con la $24,25(OH)_2D$, la mediana de VD-II fue significativamente menor que la de VD-I demostrando la mayor especificidad del test VD-II.

La relación inversa entre PTH y VD es bien conocida; sin embargo, no es lineal y los valores reportados de Rho demuestran que las correlaciones halladas son significativas pero débiles ($R=-0,30$ o menor)^{26,35,36}. En este trabajo se observó también esta relación inversa, los pacientes con niveles de PTH dentro del rango normal ($PTH<65$ pg/mL) tuvieron concentraciones de VD mayores a las de los sujetos con valores de $PTH >65$ pg/mL, pero la correlación entre PTH y VD fue muy baja tanto para VD-I ($R=-0,37$) como para VD-II ($R=0,26$). La concentración de calcio fue similar en los grupos $PTH<65$ pg/mL y $PTH>65$ pg/mL, implicando que el sistema de regulación de la calcemia está conservado.

Los gráficos de dispersión mostraron también la misma tendencia en la relación entre PTH y VD, pero no permitieron establecer un punto de inflexión debido a la amplia dispersión de los datos. A pesar de la falta de linealidad de la relación entre PTH y VD, varios expertos han

utilizado diferentes test estadísticos para establecer estos valores “*target*” o “líneas de corte” o “puntos de inflexión” en la definición de deficiencia o suficiencia de VD. En nuestro trabajo, los puntos de inflexión se obtuvieron mediante gráficos de caja estratificando los valores de VD. Las líneas de corte publicadas varían ampliamente entre 15 a 50 ng/mL de VD, dependiendo del criterio adoptado por cada autor para la definición de deficiencia o insuficiencia. Ya en el año 1998, O’Shea y col.³⁷ consideraron que el concepto de deficiencia de VD basado en el límite inferior del intervalo de referencia de cada método debía ser abandonado debido a que la amplia diferencia observada entre ellos (3 a 18 ng/mL) no permitía reflejar las variaciones en la homeostasis del calcio. Los autores estaban a favor de un valor “*target*” derivado de mediciones de PTH como marcador sustituto del estatus de VD. Chapuy y col.³⁸, realizaron un estudio en Francia entre los meses de noviembre y abril, que comprendió 1569 pacientes entre 35 y 65 años. Para la medición de VD, emplearon un radioinmunoensayo con rango de referencia para invierno entre 12 y 25 ng/mL. La PTH fue valorada por quimioluminiscencia (QL) con rango normal entre 11 y 55 pg/mL. Los autores adoptaron como criterio de insuficiencia de VD un valor de 12 ng/mL (límite inferior del rango del método) y observaron que el 11% de los sujetos tenían $VD<12$ ng/mL, el 44% entre 12 y 24 ng/mL y el 29% entre 24 y 36 ng/mL. Sin embargo, los niveles de PTH comenzaban a aumentar por debajo de 31 ng/ml de VD, valor bastante mayor al elegido como criterio de insuficiencia, alcanzando el LSR (55 pg/mL) a una concentración de VD de 4,6 ng/mL. Por encima de 31 ng/mL, la PTH se estabilizaba llegando a un valor constante de 36 pg/mL. Los autores concluyeron que estos pequeños incrementos de PTH, aún dentro del rango normal, podían tener efectos negativos sobre la salud ósea, por lo que en sujetos saludables se debería asegurar una concentración de VD mayor a 31 ng/mL. Holick y col.²⁶ estudiaron 1536 pacientes posmenopáusicas (57% tenía más de 70 años) que recibían tratamiento para osteoporosis y dosis de VD. El estudio se realizó también durante los meses de invierno. Cuando analizaron los valores de PTH para diferentes líneas de corte de VD (<9 , <15 , <20 , <25 o <30 ng/ml), hallaron que el incremento de PTH se producía por debajo de 29,8 ng/mL, valor similar al reportado por Chapuy y col.³⁸ y la

concentración alcanzada por PTH en la meseta era 27,2 pg/mL. La prevalencia de hiperparatiroidismo secundario era significativamente mayor en individuos con niveles más bajos de VD. Con el valor de 29,8 ng/mL como línea de corte, los autores concluyeron que la prevalencia de insuficiencia de VD era muy elevada a pesar de la terapia con VD. Resultados semejantes fueron publicados por Okazaki y col.²⁷ que establecieron un valor de VD de 28 ng/mL como umbral para lograr la supresión máxima de PTH y demostraron que a partir de este valor, los niveles de PTH no se redujeron a menos de 35-40 pg/mL después de la suplementación con VD. Tampoco se observó correlación entre PTH y VD por encima de 28 ng/mL de VD, mientras que por debajo de 28 la correlación fue significativa. Los autores consideraron que, aunque los niveles de PTH se encuentren dentro del rango normal, el incremento de PTH por debajo del umbral está implicando un grado de insuficiencia de VD que genera un “hiperparatiroidismo funcional” y sugirieron evaluar el estatus de VD cuando los niveles de PTH superan 35-40 pg/mL.

Sin embargo, otras publicaciones mostraron valores más bajos para los puntos de inflexión. Mukhopadhyay y col.³⁹ estudiaron sujetos de 18 a 68 años de edad; la mitad de ellos pertenecía a poblaciones tribales. Los autores hallaron una correlación negativa entre PTH y VD y observaron que, por debajo de una concentración de VD de 16 ng/mL, la PTH mostraba un aumento pronunciado. Malabanan y col.⁴⁰ analizaron la relación entre PTH y VD en pacientes de 49 a 83 años antes y después del tratamiento con VD. Estratificaron los valores de VD en base a la concentración de VD previa a la terapia y observaron que el 45% de los sujetos con niveles de VD menores a 20 ng/ml tenían hiperparatiroidismo secundario. Al cabo de 8 semanas de tratamiento con VD, la PTH disminuyó significativamente en este grupo pero no se modificó en el grupo con VD mayor a 20 ng/mL a pesar del aumento en los niveles de VD. Los autores concluyeron que el valor de 20 ng/mL de VD debería ser considerado el nivel mínimo de suficiencia de VD en grupos de esta edad.

De acuerdo a nuestros resultados, los puntos de inflexión obtenidos para VD coincidieron con los publicados por Mukhopadhyay y col.³⁹ y Malabanan y col.⁴⁰. Los gráficos de caja mostraron que las medianas de PTH aumentaron

significativamente cuando los niveles de VD se encontraban por debajo de 22,45 (rango: 20,0-24,9) ng/mL para VD-I y 17,5 (rango:15-19,9) ng/mL para VD-II. Por encima de estos valores, la PTH se mantenía constante. Es decir que, 22,45 ng/mL y 17,5 ng/mL podrían considerarse como líneas de corte para definir los estados de deficiencia y/o suficiencia de VD cuando se emplean respectivamente los ensayos VD-I y VD-II.

Por otro lado, se pudo observar que, independientemente del test utilizado, los valores mediana de PTH en los puntos de inflexión fueron similares en los 2 ensayos, 43,6 pg/mL (VD-I) y 44,45 pg/mL (VD-II). Esto permite inferir que es el calcio y no la VD quien regula principalmente los niveles de PTH y que la diferencia hallada entre los puntos de inflexión sería puramente metodológica.

Considerando el rango completo de valores de VD, la concordancia entre VD-I y VD-II fue buena ($k=0,71$). No obstante, se efectuó también el análisis por separado de los grupos PTH<65 y PTH>65 para observar el comportamiento de ambos test en muestras con diferentes niveles de VD. La concordancia hallada fue muy buena ($k=0,82$) para el grupo PTH>65 pg/mL pero solo buena para el grupo PTH<65 pg/mL ($k=0,59$). Esta diferencia puede ser atribuida a una menor interferencia de la 24,25(OH)₂D a concentraciones más bajas de VD. Se ha reportado que la 24,25(OH)₂D comienza a interferir a partir de concentraciones de 25(OH)₂D de 8,0 ng/mL, debido a que en condiciones de deficiencia, se maximiza la conversión de 25(OH)₂D en 1,25(OH)₂D, mientras que, en muestras con concentraciones más altas de 25(OH)₂D, la interferencia de la 24,25(OH)₂D es más significativa⁴¹. Es decir que, debido a su mayor especificidad, sería preferible utilizar VD-II, especialmente en rangos más elevados de VD.

En general, las variaciones reportadas en la bibliografía de los puntos de inflexión de VD pueden ser explicadas por diferentes causas, como el empleo de distintos test estadísticos o la inexactitud de algunos ensayos de VD. Las diferencias se deben también a factores como edad, sexo, raza, ingesta de calcio y fósforo, peso, estado puberal o grado de insuficiencia de VD³². La variabilidad de PTH y VD en relación a la edad es atribuida a cambios fisiológicos relacionados con el envejecimiento, a menor exposición solar, menor conversión de

precursores de VD en la piel en individuos ancianos o el uso regular de medicamentos que aumentan el catabolismo de VD, lo que conduce a un requerimiento de VD mayor que en grupos más jóvenes ⁴². La relación entre VD y edad es controversial. Algunos autores han demostrado correlación entre VD y edad, mientras que otros no. En algunos estudios la asociación encontrada fue positiva ^{43,44}, en otros fue negativa ^{38,42} y varios no hallaron correlación ⁴⁵⁻⁴⁷. Holick y col.²⁶, mostraron una asociación significativa entre insuficiencia de VD y edad solamente en mayores de 80 años. En el análisis de nuestros resultados, el grupo con VD más elevada (PTH<65) tenía un predominio de sujetos menores a 60 años, mientras que en el grupo con VD más baja (PTH>65), el 60 % eran mayores a 60 años. Sin embargo, la edad correlacionó con PTH, pero no con la VD. La razón de la divergencia entre estos resultados es poco clara. Se ha especulado que la causa podría estar en las diferencias en hábitos nutricionales y estilo de vida, en la baja proporción de individuos mayores a 60 años incluidos en los estudios, o factores genéticos o ambientales que afectan el envejecimiento de la piel.

Los niveles de VD muestran variaciones estacionales. La síntesis de VD en la piel se produce por efecto de la luz solar dependiendo de la intensidad de la irradiación ultravioleta que varía con la estación del año y la latitud ⁴⁸⁻⁵⁰. Las diferencias halladas en los niveles de VD entre verano e invierno oscilan entre 30% y 50%, lo que produce en muchos casos alteraciones en el diagnóstico clínico. Estas variaciones han dificultado el establecimiento de valores de referencia para VD, originando controversias sobre los valores óptimos o suficientes recomendados por diferentes grupos de investigación ^{51,52}. El presente trabajo fue realizado a fines de invierno, por lo que sería importante repetir el estudio a fines del verano con el objeto de comprobar si se producen variaciones en los valores de VD en los puntos de inflexión.

El comité del Instituto de Medicina (IOM) ³¹ ha cuestionado la Guía de Práctica Clínica sobre Evaluación, Tratamiento y Prevención del Déficit de VD publicada por la Sociedad de Endocrinología en el año 2011, que sugiere considerar como nivel suficiente u óptimo a un valor de VD ≥ 30 ng/ml ³⁰. El aumento de PTH es un indicador de hiperparatiroidismo secundario y,

por lo tanto, de sus efectos adversos como son la pérdida de masa ósea y las fracturas. Por tal razón, el informe publicado por el IOM analizó los resultados de numerosas publicaciones que coinciden en que un nivel sérico de VD mayor a 20 ng/mL es el adecuado para conservar la salud ósea. En este informe, IOM recomienda que, con una ingesta diaria de 600 UI/día para la población de 1 a 70 años y 800 UI/día para los sujetos de 71 años o más, se mantienen niveles de VD superiores a 20 ng/ml, suficientes para satisfacer los requerimientos nutricionales del 97,5% de la población. Por otra parte, la Sociedad de Endocrinología recomienda niveles séricos de VD superiores a 30 ng/ml, y, para ello, una ingesta de VD de 1500 a 2000 UI/día. Según el IOM, no hay suficientes datos que fundamenten la necesidad de lograr una concentración de VD mayor a 30 ng/mL y considera que las recomendaciones de la Guía de la Sociedad de Endocrinología han conducido a la sobre-estimación de la insuficiencia de VD. La controversia continúa y produce confusión. Sin embargo, un valor de 30 ng/mL es el más aceptado por la mayoría de los investigadores ya que asegura tanto la salud ósea como beneficios adicionales no esqueléticos ⁵³⁻⁵⁶.

CONCLUSIÓN

Aunque los valores proporcionados por VD-II fueron inferiores a los de VD-I, la concordancia entre ambos fue buena sugiriendo que el test de segunda generación es también adecuado para medir el estatus de VD. De acuerdo al test utilizado, 22,45 ng/mL o 17,5 ng/mL podrían ser consideradas como líneas de corte para definir los estados de deficiencia y/o suficiencia de VD cuando se emplean los ensayos VD-I o VD-II, respectivamente. Aunque estos valores son inferiores a los aceptados habitualmente en nuestro medio, están de acuerdo con los publicados por el IOM y otros investigadores. La mayoría de los pacientes estudiados tuvieron una concentración de PTH superior a la obtenida en los puntos de inflexión, lo que hace suponer que hay una prevalencia importante de deficiencia o insuficiencia de VD en el grupo estudiado; por lo tanto, al momento de establecer una línea de corte, se deberían tener en cuenta los requerimientos de calcio y VD de cada paciente para garantizar los beneficios óseos y extra-esqueléticos que implica el tratamiento con VD.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Khundmiri SJ, Murray RD, Lederer E. PTH and Vitamin D. *Compr Physiol*. 2016 Mar 15;6(2):561-601.
2. Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D: metabolism. *Physiol Rev* 2016; 96(1):365-408.
3. Antonucci R, Locci C, Clemente MG, Chicconi E, Antonucci L. Vitamin D deficiency in childhood: old lessons and current challenges. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2018;31(3):247-60.
4. Carpenter TO, Shaw NJ, Portale AA, Ward LM, Abrams SA, Pettifor JM. Rickets. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17101.
5. Grossman Z, Hadjipanayis A, Stiris T, Del Torso S, Mercier JC, Valiulis A, et al. Vitamin D in European children-statement from the European Academy of Paediatrics (EAP). *Eur J Pediatr*. 2017;176(6):829-31.
6. Saggese G, Vierucci F, Boot AM, Czech-Kowalska J, Weber G, Camargo CA Jr, et al. Vitamin D in childhood and adolescence: an expert position statement. *Eur J Pediatr*. 2015;174(5):565-76.
7. Napativamnuay N; Gramlich L. The Prevalence of Vitamin D Insufficiency and Deficiency and Their Relationship with Bone Mineral Density and Fracture Risk in Adults Receiving Long-Term Home Parenteral Nutrition. *Nutrients* 2017;9(5):481.
8. Gil Á, Plaza-Diaz J, Mesa MD. Vitamin D: Classic and Novel Actions. *Ann Nutr Metab*. 2018;72(2):87-95.
9. Soubrier M, Lambert C, Combe B, Gaudin P, Thomas T, Sibilia J, et al. A randomised, double-blind, placebo-controlled study assessing the efficacy of high doses of vitamin D on functional disability in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2018;36(6):1056-60.
10. Niroomand M, Fotouhi A, Irannejad N, Hosseinpanah F. Does high-dose vitamin D supplementation impact insulin resistance and risk of development of diabetes in patients with pre-diabetes? A double-blind randomized clinical trial. *Diabetes Res Clin Pract*. 2019;148:1-9.
11. Al-Ghafari AB, Balamash KS, Al Doghather HA. Relationship between Serum Vitamin D and Calcium Levels and Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms in Colorectal Cancer. *Biomed Res Int*. 2019; 2019:8571541.
12. Dirks NF, Ackermans MT, Lips P, de Jongh RT, Vervloet MG, de Jonge R, et al. The When, What & How of Measuring Vitamin D Metabolism in Clinical Medicine. *Nutrients*. 2018;10(4):482.
13. Carter GD, Berry J, Durazo-Arvizu R, Gunter E, Jones G, Jones J, Makin HLJ, et al. Hydroxyvitamin D assays: An historical perspective from DEQAS. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2018;177:30-5.
14. Ofenloch-Haehnle B. Approaches to measurement of vitamin D concentrations-immunoassays. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*. 2012;243:50-3.
15. Bikle D, In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, et al. Vitamin D: Production, Metabolism, and Mechanisms of Action. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): 2017.
16. Berg AH, Powe CE, Evans MK, Wenger J, Ortiz G, Zonderman AB, et al. 24,25-Dihydroxyvitamin d3 and vitamin D status of community-dwelling black and white Americans. *Clin Chem* 2015; 61(6):877-84.
17. Glendenning P, Inderjeeth CA. Controversy and consensus regarding vitamin D: recent methodological changes and the risks and benefits of vitamin D supplementation. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2016;53:13-28.
18. Binkley N, Sempos CT; Vitamin D Standardization Program (VDSP). Standardizing vitamin D assays: the way forward. *J Bone Miner Res*. 2014;29(8):1709-14.
19. Carter GD. 25-hydroxyvitamin D: a difficult analyte. *Clin Chem*. 2012;58(3):486-8.
20. Tai SS, Bedner M, Phinney KW. Development of a candidate reference measurement procedure for the determination of 25-hydroxyvitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D2 in human serum using isotope-dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chem*. 2010;82(5):1942-8.
21. Binkley N, Dawson-Hughes B, Durazo-Arvizu R, Thamm M, Tian L, Merkel JM. Vitamin D measurement standardization: The way out of the chaos. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2017;173:117-21.
22. Elsenberg EH, Ten Boekel E, Huijgen H, Heijboer AC. Standardization of automated

- 25-hydroxyvitamin D assays: How successful is it?. *Clin Biochem.* 2017;50(18):1126-30.
23. Herrmann M, Farrell CL, Pusceddu I, Fabregat-Cabello N, Cavalier E. Assessment of vitamin D status – a changing landscape. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:3-26.
 24. Asif M, Groboske SE, Leung EKY, Yeo KJ, van Wijk XMR. Evaluation of a New Generation Automated Assay for 25-Hydroxy Vitamin D Based on Competitive Protein Binding. *J Appl Lab Med.* 2019;4(2):247-53.
 25. Roche Diagnostics, Method Sheet Elecsys® Vitamin D total II, 2019. Disponible en: https://pim-eservices.roche.com/eLD_SF/es/es/Documents/GetDocument?documentId=b89e1a51-4491-e911-7aad-00215a9b3428
 26. Holick MF, Siris ES, Binkley N, Beard MK, Khan A, Katzer JT, et al. Prevalence of Vitamin D inadequacy among postmenopausal North American women receiving osteoporosis therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(6):3215-24.
 27. Okazaki R, Sugimoto T, Kaji H, Fujii Y, Shiraki M, Inoue D. Vitamin D insufficiency defined by serum 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone before and after oral vitamin D₃ load in Japanese subjects. *J Bone Miner Metab.* 2011;29(1):103-10.
 28. López-Ramiro E, Rubert M, Mahillo I, de la Piedra C. Hiperparatiroidismo secundario al déficit de vitamina D. *Rev Osteoporos Metab Miner.* 2016;8(2):55-60.
 29. Mendes MM, Hart KH, Lanham-New SA, Botelho PB. Association between 25-Hydroxyvitamin D, Parathyroid Hormone, Vitamin D and Calcium Intake, and Bone Density in Healthy Adult Women: A Cross-Sectional Analysis from the D-SOL Study. *Nutrients.* 2019;11(6):1267.
 30. 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.
 31. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:53-8.
 32. Tsiaras WG, Weinstock MA. Factors Influencing Vitamin D Status. *Acta Derm Venereol* 2011;91:115-24.
 33. Jiménez-Sousa MÁ, Martínez I, Medrano LM, Fernández-Rodríguez A, Resino S. Vitamin D in Human Immunodeficiency Virus Infection: Influence on Immunity and Disease. *Front Immunol.* 2018;9:458.
 34. Batista MC, Menegat FD, Ferreira CE, Faulhaber AC, Campos DA, Manguiera CL. Analytical and clinical validation of the new Roche Elecsys Vitamin D Total II assay. *Clin Chem Lab Med.* 2018;56(12):e298-e301.
 35. Yalla N, Bobba G, Guo G, Stankiewicz A, Ostlund R. Parathyroid hormone reference ranges in healthy individuals classified by vitamin D status. *J Endocrinol Invest.* 2019;42(11):1353-60.
 36. Souberbielle JC, Massart C, Brailly-Tabard S, Cormier C, Cavalier E, Delanaye P, et al. Serum PTH reference values established by an automated third-generation assay in vitamin D-replete subjects with normal renal function: consequences of diagnosing primary hyperparathyroidism and the classification of dialysis patients. *Eur J Endocrinol.* 2016;174(3):315-23.
 37. O'Shea D, Carter GD. Hypovitaminosis D in medical inpatients. *N Engl J Med.* 1998;339(5):345-6.
 38. Chapuy MC, Preziosi P, Maamer M, Arnaud S, Galan P, Hercberg S, et al. Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos Int.* 1997;7(5):439-43.
 39. Mukhopadhyay P, Ghosh S, Bhattacharjee K, Chowdhury S. Inverse Relationship Between 25 Hydroxy Vitamin D and Parathormone: Are there Two Inflection Points?. *Indian J Endocrinol Metab.* 2019;23(4):422-7.
 40. Malabanan A, Veronikis IE, Holick MF. Redefining vitamin D insufficiency. *Lancet* 1998;351:805-6.
 41. Carter GD, Jones JC, Shannon J, Williams EL, Jones G, Kaufmann M, et al. 25-Hydroxyvitamin D assays: Potential interference from other circulating vitamin D metabolites. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2016;164:134-8.

42. Elizondo-Montemayor L, Castillo EC, Rodríguez-López C, Villarreal-Calderón JR, Gómez-Carmona M, Tenorio-Martínez S, et al. Seasonal Variation in Vitamin D in Association with Age, Inflammatory Cytokines, Anthropometric Parameters, and Lifestyle Factors in Older Adults. *Mediators Inflamm.* 2017;2017:5719461.
43. Moan J, Lagunova Z, Lindberg FA, Porojnicu AC. Seasonal variation of 1,25-dihydroxyvitamin D and its association with body mass index and age. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2009;113(3-5):217-21.
44. Bischof MG, Heinze G, Vierhapper H. Vitamin D status and its relation to age and body mass index. *Horm Res.* 2006;66(5):211-5.
45. Nichols EK, Khatib IM, Aburto NJ, Sullivan KM, Scanlon KS, Wirth JP, et al. Vitamin D status and determinants of deficiency among non-pregnant Jordanian women of reproductive age. *Eur J Clin Nutr.* 2012;66(6):751-6.
46. Dawoud NM, Bakry OA, Shoeib MA, Ismael HN. Serum Vitamin D and Facial Aging: Is There a Link?. *Skin Pharmacol Physiol* 2016;29(2):76-82.
47. Orgaz-Molina J, Buendía-Eisman A, Arrabal-Polo MA, Ruiz JC, Arias-Santiago S. Deficiency of serum concentration of 25-hydroxyvitamin D in psoriatic patients: a case-control study. *J Am Acad Dermatol.* 2012;67(5):931-8.
48. Konicoff I, Páez MS, Trucco ME, Benzi M, Torre DM. Hipovitaminosis D en una población de mujeres adultas de la ciudad de Córdoba. <http://cobico.com.ar/wp-content/archivos/2018/05/hipovitaminosis-d-en-una-poblaci%C3%93n-de-mujeres-1.pdf>
49. Sosa LG, Cabrera NI, Inchauspe ME, Gough M, Maldonado V, De Elías RF y col. Vitamina D: su relación con los marcadores del síndrome metabólico y riesgo cardiovascular en mujeres pre y posmenopáusicas en los períodos de verano e invierno. [http://cobico.com.ar/wp-content/archivos/2019/11/vitamina D.pdf](http://cobico.com.ar/wp-content/archivos/2019/11/vitamina-D.pdf).
50. Serdar MA, Batu Can B, Kilercik M, Durer ZA, Aksungar FB, Serteser M. Analysis of Changes in Parathyroid Hormone and 25 (OH) Vitamin D Levels with Respect to Age, Gender and Season: A Data Mining Study. *J Med Biochem.* 2017; 36(1):73-83.
51. Bolland MJ, Grey AB, Ames RW, Mason BH, Horne AM, Gamble GD, Reid IR. The effects of seasonal variation of 25-hydroxyvitamin D and fat mass on a diagnosis of vitamin D sufficiency, *Am J Clin Nutr.* 2007;86(4):959-64.
52. Sahin ON, Serdar M, Serteser M, Unsal I, Ozpinar A. Vitamin D levels and parathyroid hormone variations of children living in a subtropical climate: a data mining study. *Ital J Pediatr.* 2018;44(1):40.
53. 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.
54. Sai AJ, Walters RW, Fang X, Gallagher JC. Relationship between vitamin D, parathyroid hormone, and bone health. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(3):E436-46.
55. Heaney RP, Michael F, Holick MF. Why the IOM Recommendations for Vitamin D Are Deficient. *J Bone Miner Res* 2011;26(3):455-7.
56. 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.

Tabla 1. Edad y niveles de PTH, calcio y VD en pacientes con PTH<65 ng/mL y PTH>65 ng/mL

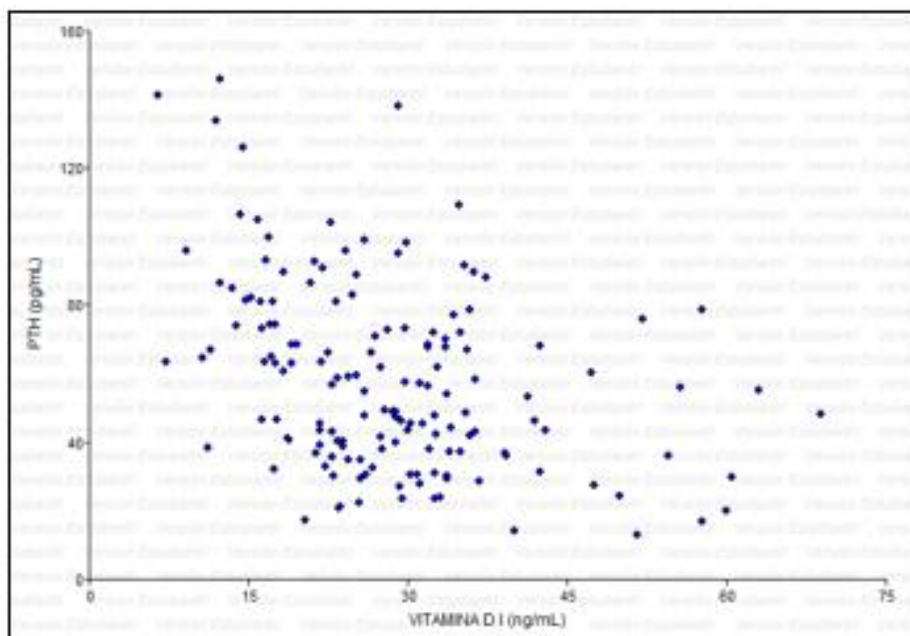
	PTH<65 n=96	PTH>65 n=56
Edad (años)	44,0(17,0-87,0)	59,0(24,0-85,0)*
PTH (pg/mL)	41,3(13,1-64,5)	81,2(65,0-146,0)*
Calcio (mg/dL)	9,4±0,4	9,4±0,6

PTH: hormona paratiroidea; VD: vitamina D total;

VD-I: test de generación I; VD-II: test de generación II. *p< 0,05: significativo.

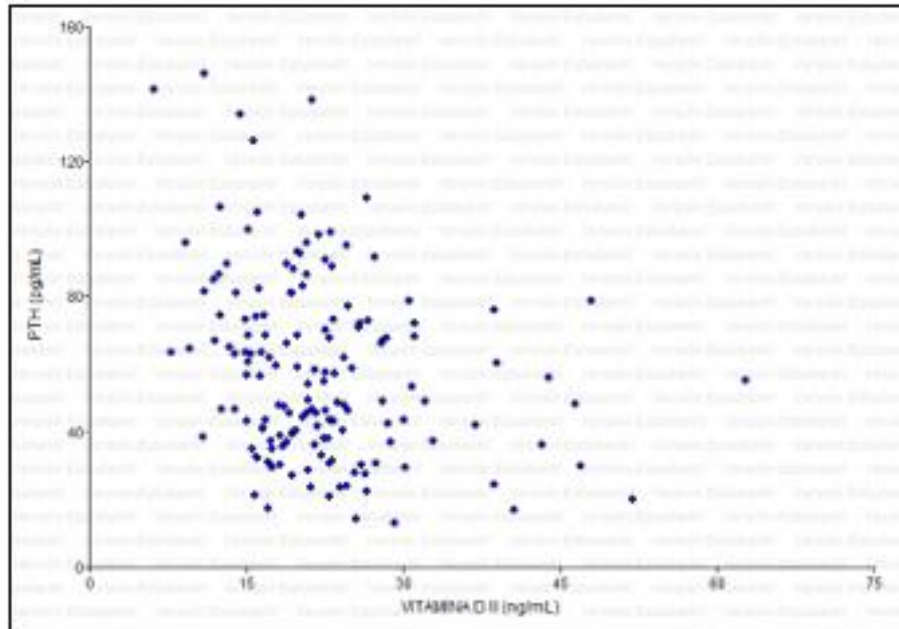
Los valores de edad, PTH y VD están expresados en medianas (mínimo-máximo). Los valores de calcio están expresados en media±DS.

Figura I. Relación entre los niveles de PTH y VD (VD-I).



VD (VD-I): Valores de VD obtenidos por el test de generación I. PTH: hormona paratiroidea

Figura II. Relación entre los niveles de PTH y VD (VD-II).



VD (VD-II): Valores de VD obtenidos por el test de generación II. PTH:hormona paratiroidea

Tabla 2. Estratificación de los niveles de VD (VD-I) en subgrupos.

Subgrupos (n)	VD (VD-I) (ng/mL)	PTH (pg/mL)
1 (14)	10,0 (5,0-15,0)	85,6 (38,4-146,0)
2 (22)	17,5 (15,1-19,9)	68,4 (31,9-105,0)
3 (27)	22,5 (20,0-24,9)	43,6 (17,4-104,0)
4 (29)	27,5 (25,0-29,9)	48,9 (22,3-98,8)
5 (28)	32,5 (30,0-34,9)	45,4 (23,6-109,0)
6 (13)	37,5 (35,0-39,9)	48,6 (28,6-91,6)
7 (9)	44,5 (40,0-49,9)	43,6 (14,2-68,1)
8 (6)	54,5 (50,0-59,9)	45,9 (13,1-78,8)
9 (4)	61,8 (60,1-68,9)	39,0 (19,8-55)

VD: vitamina D; VD-I: test de generación I; PTH: hormona paratiroidea

Los valores de VD están expresados en valores mediana (mínimo-máximo).

Los valores destacados en negrita corresponden al valor del punto de inflexión de VD.

Tabla 3. Estratificación de los niveles de VD (VD-II) en subgrupos.

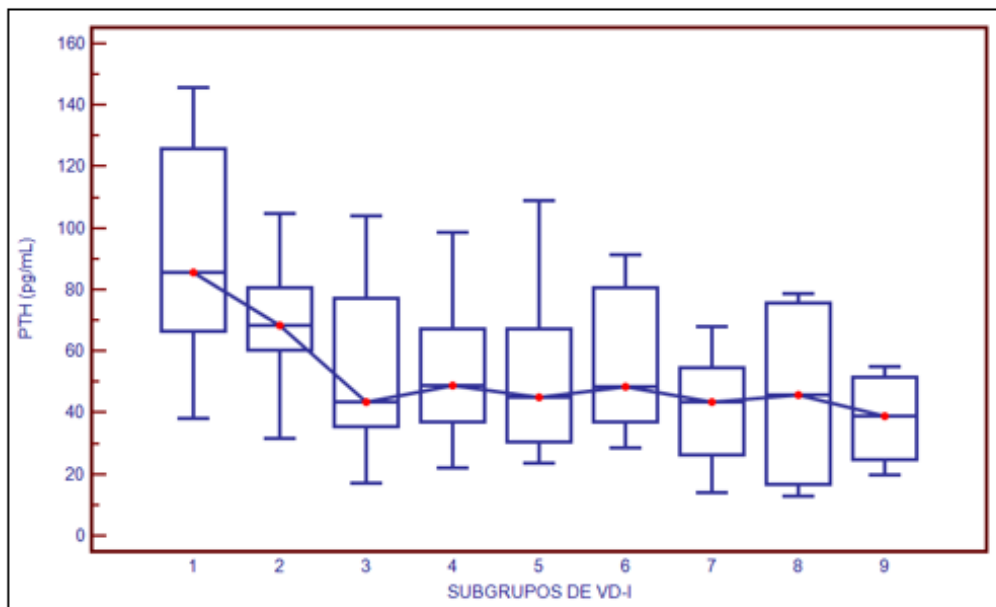
Subgrupos (n)	VD (VD-II) (ng/mL)	PTH (pg/mL)
1 (18)	10,0 (5,0-15,0)	69,9 (38,4-106,4)
2 (44)	17,5 (15,1-19,9)	44,5 (17,4-105,0)
3 (47)	22,5 (20,0-24,9)	49,1 (20,7-104,0)
4 (19)	27,5 (25,0-29,9)	48,9 (13,1-109,0)
5 (8)	32,5 (30,0-34,9)	50,9 (29,2-78,6)
6 (4)	37,5 (35,0-39,9)	51,15 (24,3-75,7)
7 (6)	44,9 (40,0-49,9)	42,1 (16,7-78,8)
8 (2)	57,4 (52,4-62,4)	37,4 (19,8-55)

VD: vitamina D; VD-II: test de generación II; PTH: hormona paratiroidea.

Los valores de VD y PTH se expresan en valores mediana (mínimo-máximo).

Los valores destacados en negrita corresponden al valor del punto de inflexión de VD.

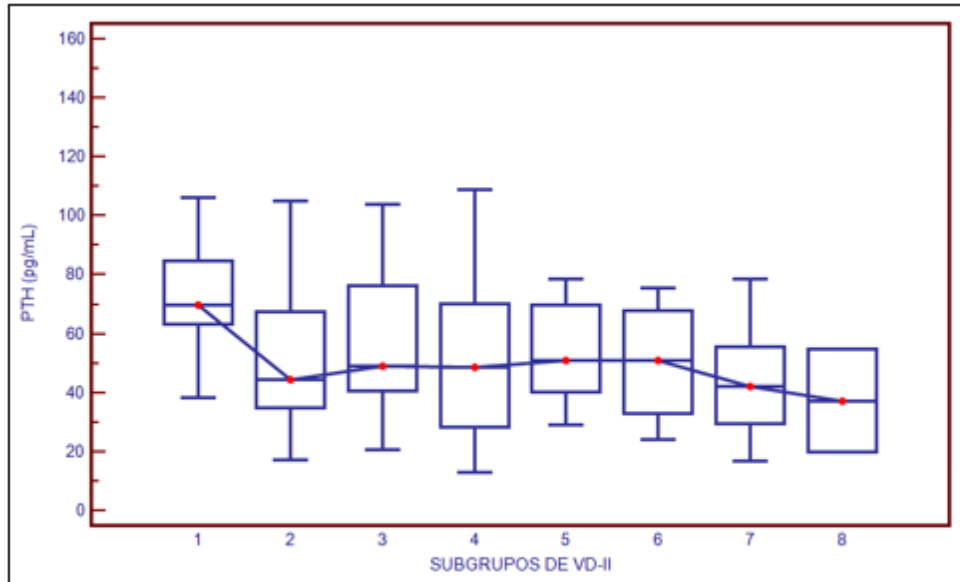
Figura 3. Variación de los niveles de PTH de acuerdo con las concentraciones de VD (VD-I).



PTH: hormona paratiroidea; VD: vitamina D; VD-I: test de generación I.

Los puntos rojos corresponden a los valores mediana para cada subgrupo.

Figura 4. Variación de los niveles de PTH de acuerdo con las concentraciones de VD (VD-II).



PTH: hormona paratiroidea; VD: vitamina D; VD-II: test de generación II.

Los puntos rojos corresponden a los valores mediana para cada grupo.