



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS
Y DE LA SALUD

EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA "IGNACIO CHÁVEZ"

DEFICIENCIA DE VITAMINA D Y SU ASOCIACION CON ENFERMEDAD ARTERIAL CORONARIA EN POBLACIÓN MEXICANA

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA:

FABIOLA LÓPEZ BAUTISTA

TUTORA:

M en C. ROSALINDA POSADAS SÁNCHEZ

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS,

ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

MÉXICO, D.F. AGOSTO, 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos

Al posgrado en *Ciencias Médicas, Odontológicas y de la Salud*, **UNAM**

Al *Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)* por el financiamiento otorgado.
Proyecto No. SALUD- 2014 – 1 - 233727

A la *Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología (SMNE)* por el financiamiento otorgado para la realización del presente trabajo.

INDICE

Abreviaturas	4
Resumen	5
I. MARCO TEORICO	8
1.1 Enfermedad Cardiovascular	8
a) Prevalencia	8
b) Factores de riesgo coronario	8
1.2 Vitamina D	9
a) Metabolismo	9
b) Clasificación del estado de vitamina D	11
c) Factores de riesgo para hipovitaminosis D	12
d) Efectos de la deficiencia de vitamina D sérica	12
e) Deficiencia de vitamina D, el proceso ateroscleroso y la enfermedad cardiovascular	13
II. MARCO DE REFERENCIA	15
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
IV. PREGUNTA DE INVESTIGACION	16
V. JUSTIFICACION	16
VI. HIPOTESIS	16
VII. OBJETIVOS	17
VIII. METODOLOGÍA	17
a) Universo de estudio	17
b) Diseño	18
c) Criterios de inclusión y exclusión	18
d) Tamaño de muestra	19
e) Descripción de procedimientos	20
f) Clasificación de las variables de estudio	22
g) Consideraciones éticas	23
h) Análisis estadístico	24
IX. RESULTADOS	25
X. DISCUSION	33
XI. FORTALEZAS	37
XII. CONCLUSIONES	37
XIII. LIMITACIONES	38
XIV. RECOMENDACIONES	38
XV. BIBLIOGRAFÍA	39

ABREVIATURA	CONCEPTO
1,25(OH) ₂ D ₃	Calcitriol
25(OH)D ₃	Calcidiol
AL	América Latina
apo B	Apolipoproteína B
CAC	Calcio arterial coronario
C-HDL	Colesterol de lipoproteína de alta densidad
C-LDL	Colesterol de lipoproteína de baja densidad
CT	Colesterol total
DM	Diabetes mellitus
EAC	Enfermedad arterial coronaria
EAP	Enfermedad arterial periférica
EC	Células endoteliales
ECV	Enfermedad cardiovascular
EVC	Enfermedad vascular cerebral
GEA	Genética de la enfermedad aterosclerosa
HOMA-RI	Modelo homeostático de resistencia a la insulina
HTA	Hipertensión arterial
IL-10	Interleucina 10
IM	Infarto al miocardio
IMC	Índice de masa corporal
INSP	Instituto Nacional de Salud Pública
LC-MS	Cromatografía líquida por espectrometría de masas
PCR	Proteína C reactiva
PTH	Hormona paratiroidea
TA	Tensión arterial
TAC	Tomografía axial computada
TG	Triglicéridos
UBV	Rayos ultravioleta
VDR	Receptor de vitamina D
VSMC	Células del músculo liso vascular

RESUMEN

ANTECEDENTES. La enfermedad cardiovascular (ECV) es la primera causa de muerte en México y en el mundo. La enfermedad arterial coronaria (EAC)-*forma más frecuente de la ECV*- se caracteriza por la obstrucción de las arterias coronarias, proceso conocido como aterosclerosis, en cuyo desarrollo y progresión interactúan el medio ambiente, las alteraciones metabólicas y la carga genética. Además de los factores de riesgo cardiovascular (FRC) establecidos, también se han reportado asociaciones de la deficiencia de vitamina D con eventos cardiovasculares. La vitamina D participa en la mineralización ósea y la homeostasis del calcio, sin embargo se reconoce que tiene múltiples funciones no esqueléticas y algunas de ellas relacionadas con la aterosclerosis y la ECV.

JUSTIFICACION. La deficiencia de vitamina D es una condición de alta prevalencia en las regiones más alejadas del Ecuador, sin embargo se han reportado frecuencias altas en poblaciones de territorios con más exposición a la luz solar. En México, la deficiencia de vitamina D (<30 ng/mL) tiene una prevalencia de ≈30%. Recientemente se han confirmado hallazgos de reportes previos sobre la asociación de la deficiencia de vitamina D con la mortalidad general y cardiovascular. En nuestro país, no se han realizado estudios que hayan analizado la relación del estado de la vitamina D con la EAC. **OBJETIVO GENERAL.**

Investigar la asociación de la deficiencia de vitamina D con la enfermedad arterial coronaria en población adulta mexicana. **MATERIAL Y METODOS.** El estudio se realizó en sujetos participantes del proyecto Genética de la Enfermedad Aterosclerótica (GEA). Se llevó a cabo un estudio de casos y controles, que incluyó 250 pacientes con EAC, con 250 sujetos control, pareados por edad±1 año, sexo e IMC±1.0 kg/m². La EAC se definió por historia personal de infarto al miocardio, angioplastia, cirugía de revascularización y estenosis coronaria ≥al 50% determinada por angiografía. En los sujetos control, se demostró la ausencia de EAC clínica y subclínica, por historia personal negativa de infarto al miocardio y calcio arterial coronario= 0 unidades agatston, a través de una tomografía axial computada con multidetector. A todos los participantes se les aplicaron cuestionarios estandarizados para obtener datos de FRC, uso de medicamentos, actividad física, uso de alcohol, tabaquismo y consumo de vitamina D. Se midieron variables bioquímicas,

antropométricas y la tensión arterial. La vitamina D se cuantificó en todos los participantes por el método de quimioluminiscencia y la deficiencia de la misma se consideró cuando as concentraciones fueron menores a 30 ng/mL. **RESULTADOS.** Se estudiaron 500 sujetos (82% hombres), con edad promedio de 53 ± 6.1 años e IMC de 28 ± 3.5 kg/m². La deficiencia de vitamina D fue de 16% en los pacientes con EAC y de 21.8% en el grupo control. Los pacientes con EAC mostraron concentraciones significativamente menores de colesterol total, C-HDL, C-LDL, apoB y menor consumo de vitamina D; por el contrario, la concentración de insulina y HOMA-RI fueron significativamente mayores, en comparación con el grupo control. Los valores de proteína C reactiva (PCR) no fueron diferentes entre los dos grupos, en contraste, la concentración de adiponectina fue más alta en el grupo control. Como era de esperarse, la proporción de participantes tratados con estatinas fue significativamente más alta en los pacientes con EAC (91.2% vs 6.8%). El tabaquismo y consumo de alcohol fueron 10 puntos porcentuales más altos en el grupo control ($p < 0.01$). Los resultados mostraron, después de ajustar por los factores de riesgo cardiovascular convencionales (hipertensión, índice CT/C-HDL > 4.5 y tabaquismo actual) y los factores de riesgo no convencionales (HOMA-RI elevado, PCR elevada, hipoadectinemia y apoB), que la deficiencia de vitamina D disminuye significativamente en 55% el riesgo para EAC (RM 0.45 [0.22 - 0.94], p 0.03). Este resultado se explica porque la proporción de participantes con la deficiencia vitamínica fue significativamente más alta en el grupo control. Sin embargo, después de realizar un análisis con ajuste por las variables que fueron significativamente diferentes en el análisis bivariado (uso de estatinas, colesterol total, HOMA-RI, adiponectina, tabaquismo, uso de alcohol e ingesta de vitamina D) no se encontró asociación entre la deficiencia de vitamina D y la presencia de enfermedad arterial coronaria (RM 1.09 [0.26-4.54], p 0.90). Posteriormente se analizaron factores que pudieron haber influido en la concentración de vitamina D; se observó que el uso de estatinas incrementa las concentraciones de 25-OH-D ($\beta = 0.13$, $p = 0.007$), mientras que el uso de alcohol las disminuye ($\beta = -0.08$, $p = 0.08$). **CONCLUSIONES.** No se observó asociación de la deficiencia de vitamina D con enfermedad arterial coronaria, ni con los factores de riesgo coronario. Sin embargo, la alta prevalencia de deficiencia de esta

vitamina en población mexicana, fue similar a la reportada en otros países. En los pacientes con EAC, la concentración de vitamina D fue mayor que en los controles, por lo que los resultados sugieren que el tratamiento con estatinas y la menor proporción de consumo de alcohol, pudieran ser las explicaciones para las concentraciones más altas de 25-OH-D encontradas en los pacientes con EAC. La asociación entre deficiencia de vitamina D y la enfermedad coronaria es un tema muy controversial y hasta el momento presente no existe una conclusión definitiva.

I. MARCO TEORICO

1.1 Enfermedad cardiovascular

a. Prevalencia

La Enfermedad Cardiovascular (ECV) es una condición que afecta a las arterias que suministran sangre al corazón, al cerebro o a las regiones periféricas del cuerpo. Entre las de fisiopatología común se encuentra la enfermedad arterial coronaria (EAC), la enfermedad vascular cerebral (EVC) y la enfermedad arterial periférica (EAP)¹, que se caracterizan por el desarrollo y progresión de la aterosclerosis.

La ECV es la primera causa de muerte en el mundo², representa hasta 7,253,824 muertes por año³ y las proyecciones para el año 2030 muestran que continuará en el primer lugar⁴. En América Latina (AL) es también la primera causa de mortalidad y se considera que debido a los cambios demográficos, económicos y sociales⁵ el incremento puede superar el 60% para el año 2020. En México, aun cuando por muchos años fue considerada una enfermedad muy poco frecuente, en los últimos años la prevalencia ha crecido considerablemente y para el año 2011 ya ocasionaba 105,710 muertes por año y se constituyó como la primera causa de muerte⁶.

La EAC, es la forma más frecuente de ECV, con una mortalidad ajustada de 64 por cada 100 000 habitantes en toda AL. En México la tasa total (hombres y mujeres) es aún mayor con 77.8 por cada 100 000 habitantes; 99.8 x 100 000 hab en el caso de los hombres y 60.3 x 100 000 hab en las mujeres⁷.

b. Factores de riesgo coronario

La EAC se caracteriza por la obstrucción de las arterias coronarias, proceso conocido como aterosclerosis, que es complejo y multifactorial, en cuyo desarrollo y progresión interactúan el medio ambiente, las alteraciones metabólicas y la carga genética⁸. Entre los principales factores de riesgo tradicionales para aterosclerosis se encuentra la edad, el sexo masculino, tabaquismo, elevación de la tensión arterial (TA), del colesterol total (CT), colesterol de lipoproteína de baja densidad (C-LDL) y los triglicéridos (TG), así como niveles bajos de colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (C-HDL)⁹.

La tabla 1 muestra los factores de riesgo tradicionales y emergentes.

Tabla 1. Factores de riesgo para aterosclerosis

1^{os} factores convencionales	2^{os} factores convencionales	Factores emergentes
Sexo (hombres)	Síndrome metabólico.	Apolipoproteína B Apolipoproteína A-I
Edad	Diabetes mellitus y glucosa de ayuno alterada.	Triglicéridos, lipoproteínas remanentes ricas en triglicéridos
Historia familiar de enfermedad cardiovascular prematura		LDL pequeñas y densas, LDL oxidadas Colesterol no HDL
Colesterol total y C-LDL elevados, C-HDL bajo		Lipoproteína (a)
Hipertensión		Homocisteína
Tabaquismo		Proteína C reactiva elevada
Sobrepeso/Obesidad		HDL pequeñas y densas

Adaptado de Fruchart, et al. New Risk Factors for Atherosclerosis and Patient Risk Assessment (2004)

Además de los factores de riesgo cardiovascular establecidos, se ha puesto interés en otros que han sido propuestos a partir de estudios epidemiológicos, como la deficiencia de vitamina D.

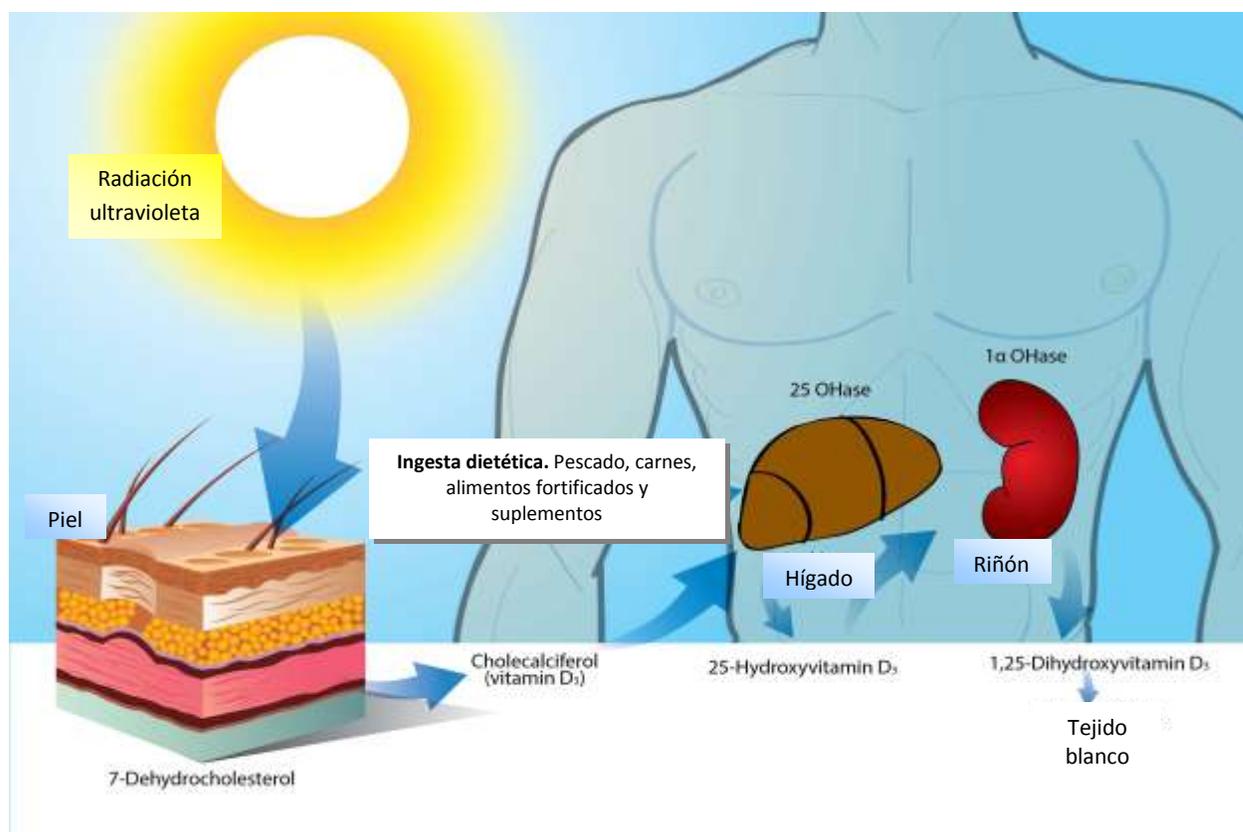
1.2 VITAMINA D

a. Metabolismo

La vitamina D, más que una vitamina es una prohormona, que se conoce tanto por su participación en la mineralización ósea, como en la homeostasis del calcio. Se encuentra en la naturaleza en dos formas: ergocarciferol o vitamina D₂ y colecalciferol o vitamina D₃¹⁰. Las fuentes principales de obtención son la exposición solar (≈90%) y la dieta/suplementos (≈10%)¹¹. La radiación solar ultravioleta (UVB) favorece la conversión del 7-dehidrocolesterol presente en la piel a previtamina D₃, la cual se transforma rápidamente en vitamina D₃; la exposición a la luz solar degrada el exceso de vitamina D₃ en subproductos inactivos y evita la intoxicación¹². Por otro lado, la vitamina D proveniente

de la dieta, se incorpora a los quilomicrones, y una vez en la circulación se une a la proteína transportadora de vitamina D. En el hígado la 25 vitamina D-hidroxilasa la convierte a 25(OH)D (calcidiol), la forma más abundante de vitamina D circulante ¹¹. Únicamente después de la conversión de 25(OH) D en 1,25(OH)₂D₃ (calcitriol), en el túbulo proximal del riñón y otros tejidos, se activa el receptor de vitamina D (VDR) presente en el núcleo de la célula. La hormona paratiroidea (PTH) y los niveles en suero de calcio y fósforo regulan la producción renal de 1,25(OH)₂D₃(figura 1).

Figura 1. Representación esquemática de la biosíntesis de la vitamina D.



Tomada de *Is vitamin D deficiency a new risk factor for cardiovascular disease?* Mandarino, N.R., (2015).

b. Clasificación del estado de vitamina D

Hasta el momento no existe consenso para la clasificación del estado de vitamina D. Los puntos de corte han sido propuestos por el Instituto de Medicina (*Institute of Medicine-IOM*)¹³ y por la Sociedad de Endocrinología (*The Endocrine Society*)¹⁴ se muestran en las tablas 2 y 3, respectivamente.

Tabla 2. Clasificación del estado de vitamina D – Instituto de Medicina

Concentración 25 (OH)D	Clasificación
≤10 ng/mL	Deficiencia
11-20 ng/mL	Insuficiencia
>20 ng/mL	Óptimo

A. Catharine Ross, Christine L. Taylor, Ann L. Yaktine, and Heather B. Del Valle, Editors; Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium; Institute of Medicine. (2011)

Tabla 3. Clasificación del estado de vitamina D –Sociedad de Endocrinología

Concentración 25 (OH)D	Clasificación
< 30 ng/mL	Deficiente
≥30 ng/mL	Óptimo

Holick. J Clin Endocrinol Metab, July 2011, 96(7):1911–1930

Sin embargo, a partir de resultados de estudios epidemiológicos se ha establecido que el valor sérico necesario para inhibir a la hormona paratiroidea en humanos es de más de 30 ng/mL, de tal manera que esta representa la concentración óptima para la salud ósea^{15,16}, y no así para el resto de las enfermedades relacionadas con las concentraciones de 25-OH-D, para las cuales no se ha establecido un punto de referencia de concentraciones de riesgo.

c. Factores de riesgo para hipovitaminosis D

El consumo insuficiente en la dieta y la disminución en la síntesis cutánea por exposición inadecuada a luz solar, son las causas más comunes de deficiencia de vitamina D ¹¹, sin embargo, una amplia variedad de factores y condiciones clínicas se han encontrado asociadas a concentraciones bajas en suero; la obesidad y el envejecimiento son las más frecuentes.

En sujetos con obesidad, la vitamina D ingerida o sintetizada en la piel es diluida en la gran masa adiposa y se ha sugerido que este mecanismo explica el estado de concentraciones bajas de vitamina D ¹⁷. Por otro lado, el envejecimiento se acompaña de disminución en piel del precursor 7-dehidrocolesterol y menor síntesis de la vitamina D¹⁸.

Entre las causas asociadas a la absorción reducida de la vitamina D también se encuentra la absorción deficiente de grasa en pacientes con síndromes intestinales de malabsorción o aquellos en quienes se ha realizado cirugía bariátrica, debido a que la vitamina D es liposoluble¹⁹.

Los valores bajos de la vitamina D son también consecuencia de pérdidas excesivas en la orina del complejo 25, hidroxí vitamina D (25(OH) D₃) y su proteína transportadora. Algunos medicamentos como las estatinas, antirretrovirales, los glucocorticoides y los anticonvulsivantes pueden resultar en deficiencia de vitamina D, mediada por la conversión de la 25(OH)D₃ y la forma activa (1,25(OH)D₃), al producto inactivo ácido calcitroico¹¹.

d. Efecto de la deficiencia de Vitamina D en la salud

La vitamina D tiene una participación fundamental en el mantenimiento del metabolismo del calcio y la mineralización ósea adecuada, por lo que, los trastornos en el sistema músculo esquelético son las secuelas de la deficiencia de vitamina D mejor estudiadas. Cuando hay deficiencia de vitamina D, la absorción intestinal de calcio disminuida conduce a menor concentración del calcio sérico, lo cual, a su vez, estimula la secreción de la (PTH) que para mantener las concentraciones normales de calcio circulantes moviliza el calcio óseo¹¹.

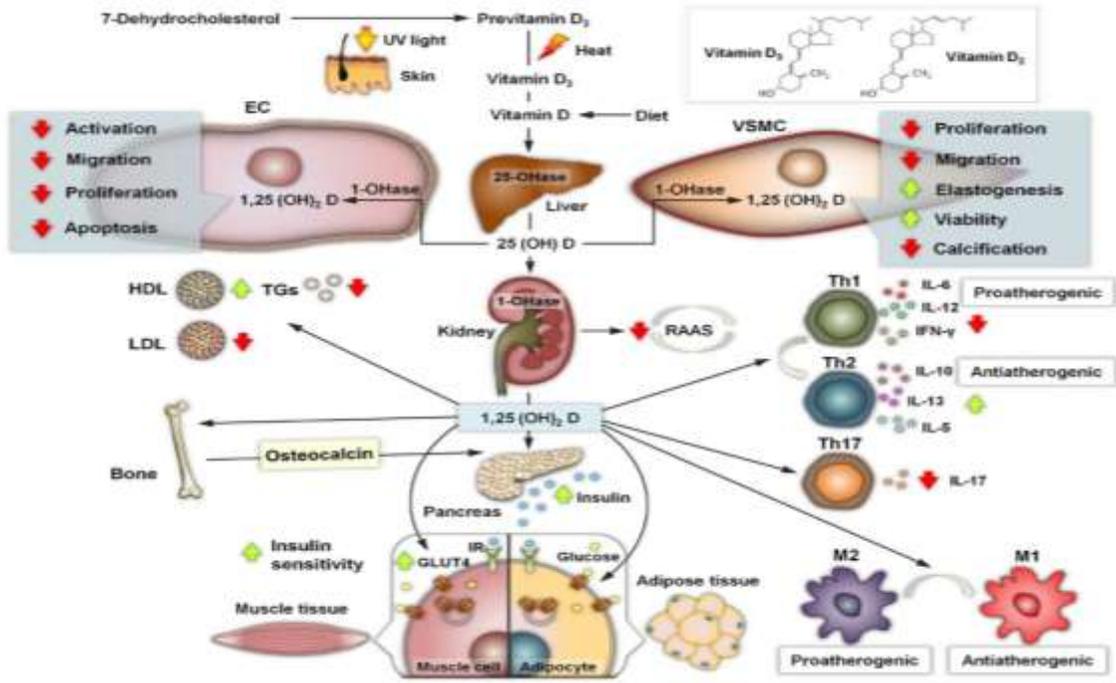
Por otro lado, el hiperparatiroidismo secundario activa los osteoclastos, aumenta la resorción ósea y disminuye la densidad mineral de los huesos con la consecuente aparición de osteopenia y osteoporosis²⁰. La deficiencia de vitamina D también produce alteraciones en la función y coordinación muscular que se manifiesta en debilidad y tendencia a caídas frecuentes que, en conjunto con la desmineralización ósea, favorece la recurrencia de fracturas²¹.

Por otro lado, se ha reconocido que la vitamina D, además de su participación en la salud ósea, también se asocia con reducción del riesgo de esclerosis múltiple, diabetes mellitus (DM), cáncer y ECV²².

e. Deficiencia de vitamina D, el proceso ateroscleroso y la enfermedad cardiovascular

Las funciones no calcémicas de la vitamina D y que están relacionadas con el proceso ateroscleroso se muestran en la *figura 2*. En las células musculares lisas, la concentración normal de vitamina D, disminuye la proliferación y migración de las células e incrementa la elastogénesis y viabilidad de las fibras musculares cardíacas, para así evitar la calcificación. En las células endoteliales cuando existen concentraciones séricas suficientes de 25-OH-Dse reduce el estrés oxidativo y la migración y proliferación de macrófagos. En el riñón, concentraciones suficientes de 25-OH-D, actúan como regulador endocrino negativo del sistema renina-angiotensina-aldosterona, principal regulador de la tensión arterial. El sistema inmune produce menos citocinas proaterogénicas (IL-6, IL-12, IL-17 Y TNF- α). El páncreas mejora la producción de insulina y hay mayor sensibilidad a la insulina en el tejido muscular y en el adiposo. Además, en el perfil de lípidos se observan concentraciones más altas de C-HDL y menores de TG y C-LDL²³.

Figura 2. Efecto de la vitamina D en el proceso ateroscleroso



Tomada de Role of Vitamin D in Atherosclerosis. Kassi, E., (2011)

EC: Células endoteliales; VSMC: Células del músculo liso vascular; RAAS: Sistema renina angiotensina aldosterona.

II. MARCO DE REFERENCIA

Se ha mostrado que las concentraciones bajas de la 25-OH-D se asocian con varios factores de riesgo para aterosclerosis, tales como la obesidad general, definida de acuerdo al índice de masa corporal (IMC) y la obesidad abdominal definida de acuerdo a circunferencia de cintura²⁴. En forma similar, se ha observado asociación con diabetes, hipertensión, dislipidemia^{25,26,27,28,29}, síndrome metabólico^{30,31} y elevación de la proteína C reactiva (PCR)³² e interleucina 10 (IL-10)^{33,34}. Sin embargo, solo las relaciones con obesidad y triglicéridos elevados se han observado de manera consistente^{25,35,36}, mientras que las asociaciones con los otros factores han sido controversiales^{29,37,38,39,40,41,42}.

Varios estudios han investigado la relación de la vitamina D con factores de riesgo cardiovascular y las diferentes expresiones de la aterosclerosis. Previamente se ha descrito que la morbi-mortalidad por ECV varía con la estación del año, siendo menor durante el verano⁴³. En ese mismo estudio se mostró que esta morbi-mortalidad es mayor en regiones alejadas del Ecuador. Otros estudios han informado asociaciones de la deficiencia de vitamina D con eventos cardiovasculares²⁰, infarto del miocardio^{18,44} y mortalidad cardiovascular y no vascular^{32,45,46}. Adicionalmente se ha mostrado que la deficiencia de vitamina D se asocia a mayor prevalencia de EAC asintomática^{47,48}, de enfermedad vascular periférica⁴⁹ y a un incremento en el grosor de la íntima media de la arteria carótida^{30,50,51}. Por el contrario, otros estudios no han encontrado asociación entre la deficiencia de esta vitamina y la enfermedad cardiovascular⁵²⁻⁵⁵, por lo que no está bien definido si las concentraciones de 25-OH-D se asocian con las diferentes expresiones de la aterosclerosis.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los resultados de estudios transversales que han investigado la relación de la deficiencia de vitamina D con la enfermedad cardiovascular no han sido consistentes, mientras unos apoyan la asociación, otros no la han encontrado. La discrepancia en los resultados podría deberse a diferencias en el tipo de población estudiada, la selección de los sujetos, método de cuantificación de vitamina D, puntos de corte para definir el estado de vitamina D y a los estudios utilizados en el diagnóstico de EAC. Por lo tanto, en el momento actual, no está aclarada la relación entre la deficiencia de vitamina D y la EAC.

IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿La enfermedad arterial coronaria en población adulta mexicana se asocia con la deficiencia de vitamina D?

V. JUSTIFICACIÓN

La deficiencia de vitamina D es una condición de alta prevalencia en los países del hemisferio norte que están más alejados del ecuador^{11,56}, pero también es frecuente en poblaciones de territorios con más luz solar, como la mexicana⁵⁷.

En México, la deficiencia de vitamina D (<30 ng/mL) tiene una prevalencia de $\approx 30\%$ ⁵⁷ y la enfermedad cardiovascular es la primera causa de muerte, por lo que, consideramos de gran relevancia estudiar la asociación entre la deficiencia de vitamina D y la EAC, con el fin de identificar otros factores de riesgo y ampliar las alternativas de prevención de los problemas cardiovasculares.

VI. HIPÓTESIS

En comparación con los sujetos control, la deficiencia de vitamina D, será aproximadamente 14.4% ⁵⁸ más alta en los sujetos con enfermedad arterial coronaria.

VII.OBJETIVOS

Objetivo general

- Investigar la asociación de la deficiencia de vitamina D con la enfermedad arterial coronaria en población adulta mexicana.

Objetivos específicos

- Conocer las características clínicas y bioquímicas de los sujetos con y sin EAC.
- Determinar si la deficiencia de vitamina D se asocia con la EAC, con factores de riesgo cardiovascular convencionales (sexo, edad, hipertensión arterial, dislipidemia y tabaquismo) y con factores de riesgo cardiovascular no convencionales (resistencia a la insulina, PCR, adiponectina y apolipoproteína B).
- Analizar si algunos factores de riesgo cardiovascular participan como mediadores de la asociación entre 25(OH) D y enfermedad arterial coronaria.

VIII. METODOLOGIA

a) Universo de estudio

El presente es parte del proyecto Genética de la Enfermedad Aterosclerosa (GEA), que es un estudio de cohorte prospectiva, actualmente en curso en el departamento de Endocrinología del Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez", el cual fue diseñado para investigar las bases genéticas y metabólicas que se asocian al desarrollo de EAC en población mexicana. El proyecto GEA se está desarrollando cuidadosamente, para caracterizar a los sujetos con EAC y a los sujetos sin EAC. El grupo de pacientes se ha conformado con sujetos provenientes de la consulta externa y del departamento de Hemodinamia del Instituto, se han incluido pacientes con diagnóstico de EAC estable, definida por historia personal de infarto al miocardio, angioplastia o cirugía de revascularización. Para el grupo control se han reclutado sujetos de población abierta que han acudido por invitación a través de medios escritos. El proyecto GEA ha sido aprobado por los comités de investigación y ética del instituto y todos los participantes han firmado carta de consentimiento informado.

b) Diseño

CASOS Y CONTROLES pareado

Los grupos fueron caracterizados en función de la presencia o ausencia de EAC, característica esencial de este tipo de diseño epidemiológico.

Las variables de pareamiento fueron edad \pm 1 año, sexo e IMC \pm 1 kg/m².

c) Criterios de inclusión y exclusión

CASOS:

Criterios de inclusión:

- \geq 40 años
- Sujetos con EAC, definida por:
 - Historia personal de infarto al miocardio
 - Angioplastia
 - Cirugía de revascularización
 - Estenosis coronaria \geq al 50% determinada por angiografía

Criterios de exclusión

- Evento cardiovascular agudo en los 3 meses previos
- Insuficiencia cardiaca congestiva
- Diabetes mellitus
- Enfermedad hepática, renal u oncológica
- Distiroidismo no tratado
- Tratamiento con corticosteroides
- Uso de suplementos de vitamina D₃

CONTROLES

Criterios de inclusión:

- ≥ 40 años
- Calcio arterial coronario = 0.0 U.A. determinado a través de tomografía axial computada con multidetector.

Criterios de exclusión:

- Diabetes mellitus
- Historia de trastornos hepáticos, renales u oncológicos
- Problemas tiroideos
- Tratamiento con corticosteroides
- Uso de suplementos de vitamina D₃

d) Tamaño de muestra

El tamaño de muestra se estimó a través de la fórmula de diferencia de proporciones:

$$n = \left(\frac{z_{\alpha} \sqrt{2p(1-p)} + z_{\beta} \sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)}}{p_1 - p_2} \right)^2$$

Considerando datos del artículo ***Associations between vitamin D and cardiovascular outcomes; Tehran Lipid and Glucose Study***⁵⁸.

Dónde:

p1: proporción de deficiencia de vitamina D en los casos= **68.25%**

p2: proporción de deficiencia de vitamina D en los controles= **53.8%**

Z α unilateral= **0.05**

Z β = poder de 90% = **1.28**

n= 198.9

Sin embargo, al considerar las covariables, se recalculó el tamaño de muestra, con la fórmula de Freeman^{59,60}, considerando las variables de estudio y sus categorías.

Formula Freeman

$$n = 10 * (k + 1)$$

Dónde:

K= número de variables independientes

$$n = 10 * (23 + 1) =$$

240

Se incluyeron 250 sujetos por cada grupo.

e) Descripción de procedimientos

- Recolección de datos

A todos los participantes se les aplicaron cuestionarios estandarizados para obtener información demográfica, actividad física, consumo de alcohol, uso de medicamentos, dieta habitual durante el año previo y actividad física. El consumo de vitamina D se obtuvo a través de una frecuencia de consumo de alimentos, diseñada y validada por el Instituto Nacional de Salud Pública, con una r ajustada de 0.50⁶¹. La cantidad consumida por día se calculó por medio del programa "sistema de evaluación de hábitos nutricionales y consumo de nutrimentos (SNUT)"⁶². La actividad física se cuantificó mediante un cuestionario que proporciona información sobre la frecuencia, intensidad y duración de la actividad física⁶³.

- Mediciones antropométricas

El peso se midió en una báscula calibrada y la talla utilizando un estadímetro de pared SECA 222(Hamburgo, Alemania). El IMC se calculó con la fórmula peso kg/talla m². La circunferencia de cintura se midió con una cinta métrica de fibra de vidrio, en el punto medio de la distancia entre la parte inferior de la última costilla y la cresta iliaca. La tensión arterial se midió en posición sedente, después de por lo menos cinco minutos de reposo utilizando un esfigmomanómetro digital WelchAllyn, series 52000 (Skaneateles Falls, N.Y., E.U.A.), y el promedio de las dos últimas de tres mediciones consecutivas se utilizó en el análisis.

- Análisis bioquímico

En ayuno de 12 horas y después 15 minutos de reposo en posición sedente, se colectaron 45 ml de sangre venosa en tubos de EDTA y en tubos sin anticoagulante. Después de centrifugar en frío, el plasma y el suero se dividieron en 16 alícuotas. A las alícuotas de plasma se añadieron inhibidores de proteasas (Aprotinina 100 KIU/ml, Benzamidina 1 mm). Todas las alícuotas se almacenaron a -70 °C. Los lípidos, lipoproteínas y glucosa fueron cuantificadas en muestras frescas. Las determinaciones de colesterol total (CT), triglicéridos y glucosa en plasma, se realizaron en un autoanalizador Hitachi 902 (Hitachi LTD Tokio, Japón), utilizando estuches enzimáticos comerciales (Roche Diagnostics, Mannheim Alemania y WakoChemicals, E.U.A.). El C-HDL se determinó mediante un método enzimático homogéneo (Roche Diagnostics, Mannheim Alemania)⁶⁴. El C-LDL fue calculado con la fórmula de Friedewald modificada por De Long⁶⁵. Las concentraciones de apolipoproteína B (apo B) se determinaron por inmunonefelometría (BN Pro Specnephelometer, DadeBchringMarburg GMBH, Ge.). En el laboratorio de endocrinología, la precisión y exactitud de las determinaciones de lípidos, son evaluadas periódicamente por el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades Atlanta, GA (CDC, por sus siglas en inglés). Las concentraciones de insulina en suero se determinaron por radioinmunoanálisis (Millipore Cat#HI-14K, Billerica, MA). Se estimó la resistencia a la insulina empleando el modelo de homeostasis (HOMA-RI)⁶⁶. La proteína C reactiva (PCR) se

cuantificó por inmunonefelometría (BN Pro SpecNephelometer, DadeBehringMarburgGmbH, Ge). La concentración de adiponectina se determinó por inmunoensayo (Quantikine. ELISA, R&D Minneapolis, USA). La concentración de 25(OH)D se cuantificó por quimioluminiscencia (Architect plus CI8200), que tiene una buena correlación ($r=0.90$)⁶⁷, comparado con la cromatografía líquida por espectrometría de masas (LC-MS), que es el "gold standard".

- Estudio de Tomografía axial computada

La tomografía axial computada (TAC) es un método validado para cuantificar el calcio arterial coronario (CAC)⁶⁸. Se utilizó un tomógrafo multidetector de 64 canales (SomatomSensation, 64, Forcheim, Alemania) y las imágenes fueron interpretadas por un médico radiólogo con amplia experiencia en este tipo de estudios.

f) Clasificación de las variables

Variable dependiente. Enfermedad Arterial Coronaria.

Se definió como la manifestación clínica de obstrucción de las arterias coronarias y se consideró con base en la historia de eventos clínicos de etiología aterosclerosa, como: Infarto al miocardio, angioplastia, cirugía de revascularización y estenosis coronaria \geq al 50% determinada por angiografía.

Variable independiente. Deficiencia de vitamina D.

Las concentraciones séricas de 25-OH-Dse categorizaron en concentraciones normales o deficientes (leve y moderada), de acuerdo a los puntos de corte establecidos por el *Institute of Medicine* de EUA, puntos de corte que también han sido utilizados por el Instituto Nacional de Salud Pública (INSP)⁵⁷.

1. Normal ≥ 20 ng/mL
2. Deficiente < 20 ng/mL

Covariables.

Se consideró la edad en años, género, IMC (desnutrición ≤ 18.5 kg/m², peso normal 18.5–24.9 kg/m², sobrepeso 25.0–29.9 kg/m², obesidad ≥ 30.0 kg/m²). La dislipidemia se definió de acuerdo a los siguientes puntos de corte: hipercolesterolemia > 200 mg/dl, valor bajo de C-HDL elevado en hombres ≤ 40 mg/dl y en mujeres ≤ 50 mg/dl, C-LDL > 130 mg/dl, hipertrigliceridemia ≥ 150 mg/dl, y/o cuando el individuo se encontraba en tratamiento regulador de lípidos^{69,70}; o bien con el índice aterogénico (CT/C-HDL > 4.5)⁷¹. La hipertensión arterial (HTA) se definió con cifras $\geq 140/90$ mg/dl o uso de medicamentos antihipertensivos,⁷⁰. La glucosa en ayuno de 100 a 125 mg/dl se consideró como glucemia de ayuno alterada, mientras que los valores ≥ 126 mg/dl o el tratamiento con hipoglucemiantes definieron la presencia de diabetes mellitus⁷².

La PCR se consideró anormal cuando los valores fueron ≥ 3 mg/L. Los puntos de corte para HOMA-RI y adiponectina se obtuvieron de una submuestra de sujetos del estudio GEA, sin obesidad y con valores normales en lípidos, glucosa y tensión arterial; se consideró HOMA-RI elevado cuando el valor fue ≥ 3.38 en hombres y ≥ 3.66 en mujeres. La hipoadectinemia se definió por valores inferiores a ≤ 11.7 µg/mL en hombres y ≤ 18.17 µg/mL en mujeres. Tabaquismo actual se consideró cuando el sujeto había fumado en el año previo y el uso de alcohol en los 6 meses previos, a la inclusión en el estudio. La actividad física total por día y el consumo de vitamina D se consideraron como variables continuas.

Las estaciones se clasificaron de acuerdo a las fechas establecidas para el hemisferio norte: Primavera: 21 marzo-20 junio, Verano: 21 junio-20 septiembre, Otoño: 21 septiembre-20 diciembre e Invierno: 21 diciembre-20 marzo.

g) Consideraciones éticas

Este estudio fue considerado de riesgo mínimo de acuerdo al reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, artículo 17 parte II. Se obtuvo el consentimiento informado de todos los participantes. El proyecto fue aprobado por los comités de investigación y ética del Instituto Nacional de Cardiología.

h) Análisis estadístico

Las variables se presentan como media \pm DE, mediana (RIC, rango intercuartilico) o porcentaje. La comparación de los grupos se realizó con las pruebas estadísticas t-Student, U de Mann-Whitney y Chi², según correspondiera. Se usó el análisis de regresión logística condicionado (debido al pareamiento por edad, sexo e IMC). La regresión logística simple y múltiple se realizaron para evaluar la relación entre la deficiencia de vitamina D y la EAC con ajuste de acuerdo a tres modelos. El primero incluyó a los factores de riesgo convencionales (HTA, índice CT/C-HDL >4.5 y tabaquismo actual), el segundo incluyó los factores de riesgo no convencionales (HOMA-RI elevado, PCR elevada, hipoadectinemia y apo B) y el tercer modelo fue la suma del modelo 1 + modelo 2. Adicionalmente, se realizó un análisis de regresión logística múltiple condicionado, en el que se construyeron modelos con las variables que fueron estadísticamente diferentes en el análisis bivariado y que no tuvieran colinealidad.

Análisis complementarios

Se compararon las variables por grupo, que se relacionan con el cambio en las concentraciones de 25-OH-D y que han sido descritas en la literatura (población total, grupo con EAC y grupo control). La concentración de vitamina D se muestran como mediana (RIC), de acuerdo a sexo, grupo de edad, uso de alcohol, tabaquismo, categoría de IMC, uso de estatinas y estación de muestreo; la comparación se realizó empleando las pruebas de U de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis, según fue el caso. Se realizó una correlación de Spearman de la concentración de vitamina D con el índice de actividad física y otra con el consumo de vitamina D. Debido a que tanto el empleo de estatinas como el uso de alcohol tuvieron efecto sobre las concentraciones de 25-OH-D, se realizó un análisis de regresión lineal simple y múltiple, la última, ajustada por sexo, categoría de edad, tabaquismo, categoría de IMC, actividad física total, estación de muestreo e ingesta de vitamina D.

Los valores de $p < 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos. Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico *STATA, Special Edition*, versión 12.

IX. RESULTADOS

Se estudiaron 250 pacientes con EAC y 250 sujetos control, pareados por edad, sexo e IMC, cuyas características se muestran de acuerdo a la presencia o ausencia de EAC, en la **tabla 1**. En la población total, 82% fueron del género masculino, la media de edad fue de 53 años, y el IMC de $\approx 28 \text{ kg/m}^2$. En pacientes con EAC, la concentración de colesterol total, C-HDL, C-LDL, apoB y el consumo de vitamina D de la dieta, fueron significativamente menores en comparación con el grupo control ($p < 0.05$). Por el contrario, la concentración de insulina y el valor de HOMA-RI fueron significativamente mayores ($p < 0.005$). En los parámetros relacionados con el perfil de inflamación, los valores de PCR no fueron diferentes entre los dos grupos, pero se observó que la concentración de adiponectina fue más alta en el grupo control de manera estadísticamente significativa ($p = 0.007$). La proporción de participantes tratados con estatinas fue significativamente más alta en los pacientes con EAC (91.2% vs 6.8%; $p < 0.001$). El tabaquismo y consumo de alcohol-*independientemente de la cantidad ingerida*- fueron 10 puntos porcentuales más altos en el grupo control ($p < 0.01$).

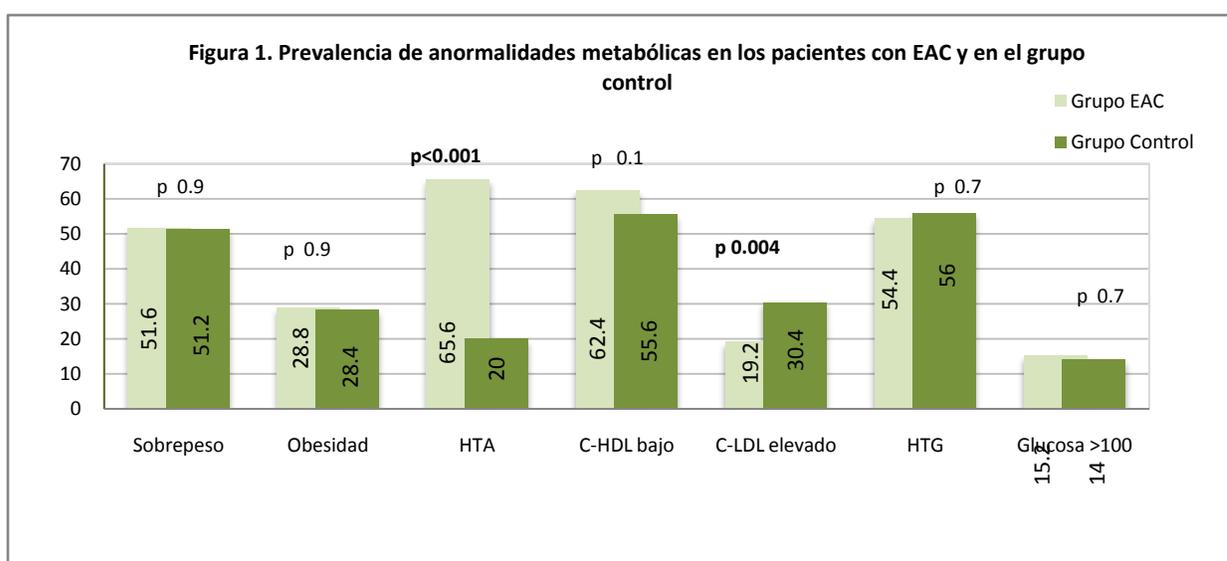
La concentración de vitamina D en el grupo de EAC fue significativamente más alta en comparación con el grupo control (27.1 ng/mL vs 24.3 ng/mL, $p < 0.001$) La prevalencia de insuficiencia de vitamina D ($< 30 \text{ ng/mL}$) resultó mayor en los sujetos control (79.2% vs 66%, $p = 0.13$), al igual que la prevalencia de deficiencia ($< 20 \text{ ng/mL}$) (21.2% vs 16%, $p = 0.13$). El muestreo se realizó de manera proporcional en cada estación del año ($p = 0.20$) con el fin de controlar el efecto de la variación en las concentraciones de 25-OH-D circulante producido por la exposición en las diferentes estaciones. El resto de las variables fueron similares en ambos grupos.

Tabla 1. Características de la población de estudio de acuerdo a la presencia de Enfermedad Arterial Coronaria

	GRUPO CON EAC	GRUPO CONTROL	
	n: 250	n: 250	p
Parámetros clínicos			
Sexo(H) n/%	206/82.47	206/82.47	0.99
Edad (años)	53.30±6.08	53.58±6.21	0.61
IMC (kg/m ²)	28.04±3.50	27.95±3.58	0.78
TAS (mmHg)	114.5 (106-123.5)	113.2 (105.5-122)	0.47
TAD (mmHg)	72 (65.5-77.5)	71 (66.5-76.5)	0.83
Parámetros bioquímicos			
Colesterol total (mg/dl)	163.7 (139.8-195.0)	187.0 (164.5-209.0)	<0.001
Triglicéridos (mg/dl)	159.5 (116.0-208.0)	160.6 (113-233.7)	0.77
C-HDL (mg/dl)	38.1 [32.0- 45.2]	40.3 [34.0- 49.0]	0.01
C-LDL (mg/dl)	97.8 [76.0- 118.2]	114.2 [93.2-135.4]	<0.001
Glucosa (mg/dl)	89.5 [84- 95]	90 [85- 95]	0.95
Insulina (U/L)	18.2 [14.5- 26.4]	16.6 [12.3- 23.1]	0.002
HOMA-RI	4.0 [3.1- 6.0]	3.6 [2.63- 5.26]	0.003
apoB (mg/dl)	80.0 [65.0- 103.0]	96.5 [77.0- 116.0]	<0.001
Biomarcadores de inflamación			
Adiponectina (µg/ml)	5.1 [3.3 - 8.2]	6.1 [3.8- 10.1]	0.007
PCR (mg/L)	1.11 [.62- 2.22]	1.24 [.64- 2.48]	0.37
Uso de estatinas (n/%)	228/91.2	17/6.8	<0.001
Hábitos de riesgo			
Tabaquismo (n/%)	30/12	57/22.8	0.001
Uso de alcohol (n/%)	(168/72.1)	(205/82.6)	0.006
Actividad física	7.9±1.2	7.9±1.2	0.70
Vitamina D			
Vitamina D sérica (ng/mL)	27.8 ± 7.9	25.0 ±6.7	<0.001
Estado de vitamina D			
≤10 ng/mL	0/0	1/0.4	-
<20 ng/mL	40/16	52/21.8	0.13
<30 ng/ml	165/66	198/79.2	0.001
Consumo de vitamina D(UI/día)	129.6 [88.1-219]	158.9 [102.3-249.1]	0.01
Estación de muestreo			
Primavera (n/%)	56/22.4	50/20	
Verano (n/%)	74/29.6	74/29.6	
Otoño (n/%)	71/28.4	90/36.0	0.20
Invierno(n/%)	49/19.6	36/14.4	

Los datos se muestran como media ± DE y mediana (RIC). p sig<0.05: t-student, U de Mann-Whitney y Chi² IMC, Índice de masa corporal; TAS, Tensión arterial sistólica; TAD, Tensión arterial diastólica; C-HDL, Colesterol de las lipoproteínas de alta densidad; C-LDL, Colesterol de las lipoproteínas de baja densidad, HOMA-RI, Modelo homeostático de resistencia a la insulina; apo B, Apolipoproteína B; PCR, Proteína C reactiva.

La prevalencia de los factores de riesgo cardiovascular por grupo de estudio se muestra en la **figura 1**. La HTA, mostró una prevalencia significativamente más elevada en los pacientes (65.6% vs 20%, $p < 0.001$), mientras que, el C-LDL elevado fue más prevalente entre los controles (30.4% vs 19.2%, $p 0.004$). El resto de las anomalías fue similar en ambos grupos, pero cabe destacar que estas tuvieron prevalencias altas; el C-HDL bajo tuvo una prevalencia de 62.4% vs 55.6%, la hipertrigliceridemia fue de 54.4% vs 56% y la glucosa de ayuno alterada de 15.2% vs 14%, en el grupo de EAC y en el grupo control, respectivamente.



HTA: Hipertensión; HTG: hipertrigliceridemia

Para conocer la asociación independiente de la deficiencia de vitamina D con la EAC y factores de riesgo, convencionales y no convencionales, se realizó un análisis de regresión logística condicionado (**tabla 2**). Los resultados mostraron con el ajuste completo (modelo 3), que la deficiencia de vitamina D disminuye significativamente en 55% el riesgo para EAC (RM 0.45 [0.22 - 0.94], $p 0.03$). Este resultado se explica porque la proporción de participantes con la deficiencia vitamínica fue significativamente más alta en el grupo control.

Tabla 2. Asociación de la deficiencia de 25-OH-D y la Enfermedad Arterial Coronaria

	RM (IC 95%)	p
<i>Deficiencia de 25-OH-D (<20 ng/mL)</i>	<i>0.68 [0.42 - 1.10]</i>	<i>0.12</i>
<i>Modelo 1</i>	<i>0.56 [0.29 - 1.07]</i>	<i>0.08</i>
<i>Modelo 2</i>	<i>0.60 [0.36 - 1.02]</i>	<i>0.06</i>
<i>Modelo 3</i>	0.45 [0.22 - 0.94]	0.03

Valores expresados en RM (IC 95%). Análisis multivariado de regresión logística condicionada
 Modelo 1: Deficiencia de vitamina, hipertensión, CT/C-HDL y tabaquismo actual.
 Modelo 2: Deficiencia de vitamina D, HOMA-RI elevado, PCR >3, Hipoadectinemia, y apo B.
 Modelo 3: Modelo 1 + Modelo 2.

Debido a los resultados contradictorios, se realizó adicionalmente un análisis multivariado de regresión logística condicionado (**tabla 3**), en el que se ajustó por las variables que mostraron ser significativamente diferentes en el análisis bivariado. Los resultados no mostraron asociación entre la deficiencia de vitamina D y la EAC (1.09 [0.26-4.54], p 0.90).

Tabla 3. Asociación de la deficiencia de 25-OH-D y la enfermedad arterial coronaria

	RM (IC 95%)	p
<i>Deficiencia de 25-OH-D (<20 ng/mL)</i>	<i>0.68 [0.42 - 1.10]</i>	<i>0.12</i>
<i>Modelo 1</i>	<i>0.85 [0.28- 2.55]</i>	<i>0.78</i>
<i>Modelo 2</i>	<i>0.72 [0.22-2.27]</i>	<i>0.57</i>
<i>Modelo 3</i>	<i>0.74 [.23-2.24]</i>	<i>0.65</i>
<i>Modelo 4</i>	1.09 [0.26-4.54]	<i>0.90</i>

Valores expresados en RM (IC 95%). Análisis multivariado de regresión logística condicionada
 Modelo 1: Deficiencia de vitamina D y estatinas
 Modelo 2: Modelo 1 + colesterol total
 Modelo 3: Modelo 2 + HOMA-RI y adiponectina
 Modelo 4: Modelo 3 + tabaquismo, uso de alcohol e ingesta de vitamina D

Análisis complementarios

Se realizaron análisis adicionales, con el fin de conocer los factores que pudieron haber influido en la concentración de vitamina D, en ambos grupos (**tabla 4, figura 2 y 3**).

En la población total, las concentraciones de 25-OH-D fueron significativamente mayores en los que no consumían alcohol y en aquellos que estaban en tratamiento con estatinas. No se observó diferencia de acuerdo a sexo, grupo de edad, tabaquismo, IMC, estación de muestreo, actividad física e ingesta de vitamina D de la dieta.

Tabla 4. Concentración de 25-OH-D (ng/mL) de acuerdo a variables moduladoras

Variable	Población total	p	Grupo EAC	p	Grupo Control	p
Sexo						
Hombres	25.7 [21.0-31.1]	0.7	27.3 [21.7-32.2]	0.9	24.4 [20.7-29.4]	0.6
Mujeres	25 [22.1-29.9]		25.5 [22.9-32.9]		24.1 [20-28.6]	
Grupo de edad						
40-49	26.4 [21.8-31.3]		27.5 [23.1-32.4]		25.2 [21.3-30]	
50-59	25.1 [21.2-30.1]	0.42	26.1 [21.9-31.2]	0.31	24.1 [20.7-29.2]	0.25
+60	24.6 [20.3-31.7]		30.1 [21.9-34.9]		22.6 [20.1-28.1]	
Uso de alcohol						
Sí	25 [20.7-30.6]		25.9 [20.9-32.4]		24.3 [20.3-39.6]	
No	26.8 [22.5-31.4]	0.02	28.6 [24.6-34.3]	0.02	24.1 [20.8-28.3]	0.99
Tabaquismo						
Sí	25.2 [20.7-29.6]		27.1 [23.1-31.4]		24.8 [20.1-29.1]	
No	25.4 [21.3-31]	0.5	27.05 [21.9-33.3]	0.9	24.2 [20.7-29.6]	0.8
IMC						
Peso normal	25.3 [21.8-30.4]		27.9 [23.1-34.3]		24.3 [21.3-26.8]	
sobrepeso	25.7 [21.2-31.2]		27.1 [21.9-33.2]		24.4 [20.8-29.8]	
Obesidad	25 [20.3-30.6]	0.7	26.5 [21.2-31.8]	0.6	24.5 [19.7-28.3]	0.7
Uso de estatinas						
Sí	27 [22-32.8]		27.1 [22.2-33.2]		24 [19.1-28.5]	
No	24.6 [20.7-29.6]	0.0002	25.4 [20.7-31.4]	0.3	24.5 [20.7-29.1]	0.5
Estación de muestreo						
Primavera	26.5 [21.1-31.2]		28.1 [23.8-33.6]		23.2 [19.9-28.5]	
Verano	25.3 [21.4-30.9]	0.3	26.1 [21.9-33.5]	0.03	24.8 [21.1-30.3]	0.43
Otoño	24.5 [20.7-30]		24.2 [20.4-31.1]		24.6 [20.8-29.1]	
Invierno	25.9 [21.5-31.7]		29 [24.7-35.2]		24.1 [19.8-25.9]	

Valores expresan mediana (RIC). p sig<0.05 U de Mann-Whitney y Kruskal -Wallis

Figura 2. Correlación entre la actividad física y la concentración de 25-OH-D

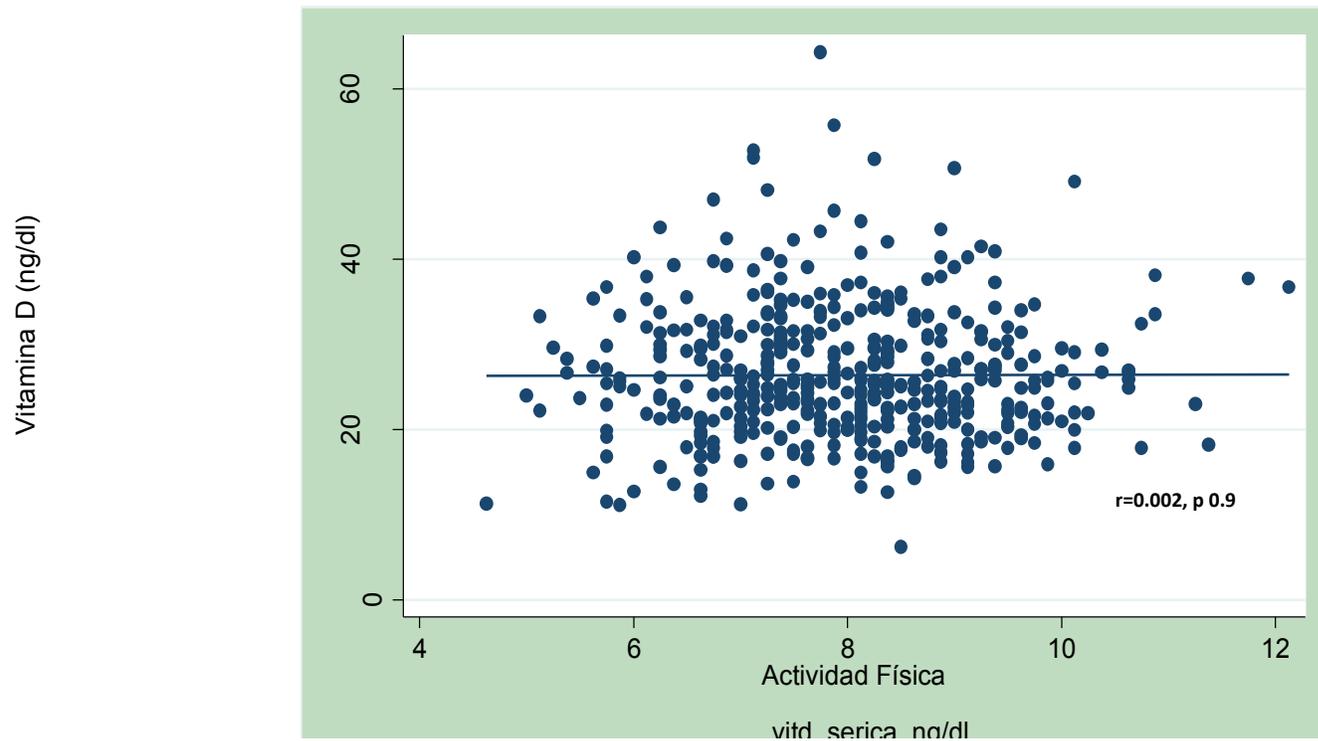
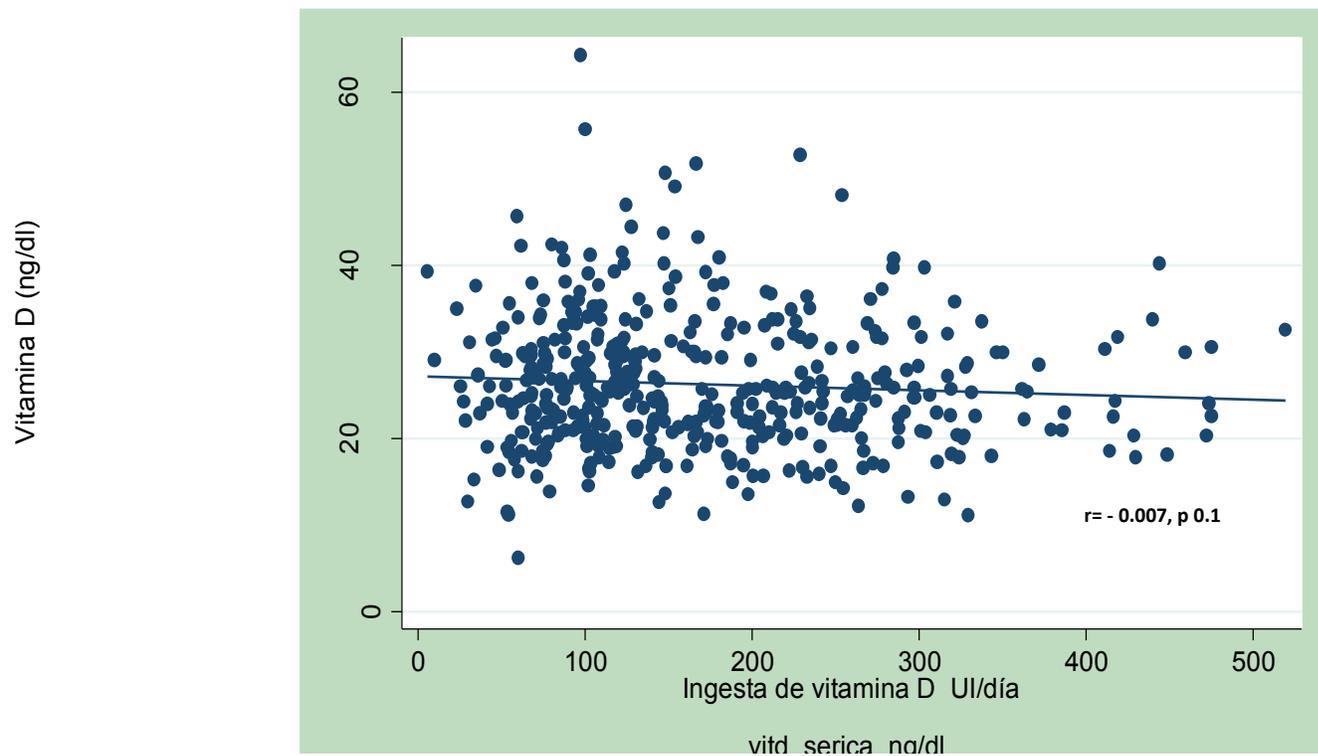


Figura 3. Correlación entre ingesta de vitamina D y la concentración de 25-OH-D



Después de conocer las variables que se relacionaron con concentraciones significativamente diferentes entre los grupos, para evaluar el comportamiento de la concentración de 25-OH-D de acuerdo a uso de alcohol y tratamiento con estatinas, se usó un análisis de regresión lineal simple (**tabla 5**).

Se observó que el uso de estatinas incrementa significativamente la concentración de vitamina D y explica 16% de la variación ($p < 0.001$), en contraste, el uso de alcohol la disminuye significativamente y explica el 9% de las concentraciones bajas de 25-OH-D ($p = 0.03$). Sin embargo después de realizar el análisis multivariado con ajuste por el resto de las variables descritas en la literatura como modificadoras de las concentraciones de 25-OH-D, solo las concentraciones altas de 25-OH-D por el uso de estatinas permanecen significativas ($\beta = 0.13$, $p = 0.007$), mientras que efecto del uso de alcohol en la disminución de las mismas se atenúa ($\beta = -0.08$, $p = 0.08$). En la población de estudio, la pravastatina es la estatina usada con mayor frecuencia, seguida de atorvastatina, simvastatina y rosuvastatina (**tabla 6**)

Tabla 5. Análisis de regresión lineal de los factores asociados con la concentración de 25-OH-D.

	SIMPLE			MULTIVARIADO*		
	b	β	p	b	β	p
Uso de estatinas	2.51	0.16	<0.001	2.0	0.13	0.007
Uso de alcohol	-1.70	-0.09	0.03	-1.49	-0.08	0.08

Valores expresados como coeficientes b y β

Análisis regresión simple y análisis de regresión multivariado (ajustado por sexo, categoría de edad, tabaquismo, categoría de IMC, actividad física total, estación de muestreo e ingesta de vitamina D)

* $R^2 = 0.03$.

Tabla 6. Uso de estatinas por grupos de estudio

	Grupo con EAC n: 228	Grupo Control n: 16	p
Pravastatina	83(36.4)	7(43.7)	0.59
Atorvastatina	50(21.9)	5(31.2)	0.36
Simvastatina	50(21.9)	2(12.5)	0.53
Rosuvastatina	43(18.8)	2(12.5)	0.74
Simvastatina + Ezetimibe	2(0.88)	0	0.99

Datos presentados porcentajes p sig<0.05: Prueba de Fisher.

X. DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio no mostraron asociación entre la deficiencia de vitamina D y la presencia de enfermedad arterial coronaria bien documentada mediante estudio clínico, de laboratorio y de gabinete. De hecho, los datos mostraron que en comparación con el grupo control, los pacientes con EAC tuvieron valores medios más altos de vitamina D y menor prevalencia de la deficiencia de esta vitamina. Una posible explicación para estos hallazgos es la observación de que el consumo de estatinas y la abstinencia en la ingestión de alcohol aumentaron en 16% y en 9%, respectivamente, la concentración circulante de vitamina D en los pacientes. El estudio también mostró que los valores bajos de vitamina D no se asociaron con factores de riesgo coronario. Por tanto los resultados no confirmaron la hipótesis del trabajo, en la que se postuló la asociación de la deficiencia de la vitamina D con la EAC.

Es importante señalar que después de ajustar por los factores que mostraron diferencia significativa entre el grupo control y el grupo de EAC, en el presente estudio no se observó asociación de la deficiencia de vitamina D con la EAC. Este hallazgo es consistente con lo encontrado por otros autores ^{48,53-55}. Sin embargo, el análisis de regresión logística condicionado ajustado por factores de riesgo, convencionales y no convencionales, que se realizó para investigar la asociación entre la deficiencia de vitamina D y la EAC, mostró contra lo esperado, que la deficiencia de la vitamina se asoció independiente y significativamente con la disminución del riesgo para EAC. Este hallazgo es similar únicamente con lo reportado por *Lai y cols.*⁵² en una población con VIH, en la que la razón de momios ajustada en los sujetos con vitamina D entre 10 ng/mL y 20 ng/mL, mostró un riesgo 47% menor para la presencia de CAC (RM 0.53 [0.33-0.85]). En contraste, otros estudios observacionales han mostrado asociación entre la deficiencia de vitamina D y la presencia de EAC clínica^{58,73,74} y subclínica^{51,52,75,76}. Sin embargo, estos estudios no han sido conducidos en sujetos aparentemente sanos de población abierta, sino que se han realizado en muestras de pacientes con VIH^{52,75}, con diabetes^{51,73,76,77}, con excreción elevada de albumina⁷⁷, o de edad mayor a 65 años⁴⁸, condiciones todas ellas

frecuentemente asociadas a cardiopatía coronaria, por lo que a pesar del ajuste de los resultados por diferentes factores, es posible la persistencia de sesgos en los hallazgos.

En otro estudio, de casos y controles, en el que se incluyeron tanto pacientes con enfermedad coronaria como pacientes con enfermedad vascular cerebral, la deficiencia de 25-OH-D, definida por concentraciones inferiores a 15 ng/mL, mostró alta prevalencia en pacientes (68%) y en controles (54%), y se encontró asociada a la presencia de la enfermedad cardiovascular⁵⁸. En ese estudio, los autores no especifican si en el grupo control se descartó la enfermedad aterosclerosa subclínica. De manera similar, en 1370 sujetos de 45 a 84 años, de los cuales 394 cursaban con insuficiencia renal crónica, Boer y cols.⁵⁴ reportaron deficiencia de vitamina D (<15 ng/mL) en 73.2% de la población y su relación modesta pero independiente con la prevalencia de CAC (RR 1.06 [1.00-1.13], p=0.06). En contraste, Lim y cols.⁴⁸, informaron que en 921 sujetos mayores de 65 años, la deficiencia de vitamina D (<30 ng/mL), observada en 94% de la población estudiada, no se asoció con estenosis o con la calcificación de las arterias coronarias. En un estudio realizado en 387 sobrevivientes del primer infarto al miocardio, con sus respectivos 387 controles, pareados por edad y sexo, la deficiencia de vitamina D (<30 ng/mL) encontrada en 80% de los pacientes y 75% del grupo control, no mostró asociación con la cardiopatía coronaria⁵³. Por lo anotado, se puede concluir que los estudios observacionales que han investigado la relación entre la deficiencia de vitamina D y la enfermedad cardiovascular no han mostrado consistencia en los resultados. Las discrepancias entre los hallazgos de los diferentes estudios pudieran ser debidas a las importantes diferencias en las características de las poblaciones estudiadas y en los puntos de corte utilizados para definir la deficiencia de vitamina D.

Los resultados del presente muestran concentraciones más bajas de 25-OH-D, comparados con el INSP que reportan una concentración media de 39 ± 15.6 ng/mL y una prevalencia de concentraciones alteradas (<30 ng/mL) de $\approx 30\%$, con una proporción mayor en el D.F., y en la zona sur de México (39.8% y 41%)⁵⁷. Mientras que en nuestra población total de estudio, la media fue de 26.4 ± 7.5 ng/mL y la prevalencia de concentraciones alteradas (<30 ng/mL) de 72.6%. Es interesante, que la deficiencia sea

≈40% más alta en nuestra población. Esta diferencia en parte pudiera estar dada por el método de cuantificación de vitamina D, ya que el empleado en la determinación en nuestra muestra es más preciso. Pero, a pesar de ello, los resultados obtenidos coinciden con lo reportado por otros países, entre algunos de ellos esta Corea⁴⁸, EUA⁵⁵ y Suecia⁵³, que han presentado deficiencia (<30 ng/mL) en 94%, 78% y 75-80%, respectivamente.

Por otro lado, a diferencia de lo observado en el presente trabajo, ningún estudio previo ha reportado concentraciones más altas de vitamina D en la población con EAC (clínica o subclínica) en comparación con el grupo control.

Algunos estudios han descrito factores que influyen sobre la concentración circulante de vitamina D^{78,79}. En nuestro estudio se realizaron análisis complementarios con el objeto de identificar la posible participación de estos factores. En la población total no se observó influencia del género, edad, consumo de tabaco, IMC, estación del año en que se realizó el muestreo y actividad física sobre las concentraciones de 25-OH-D. Sin embargo, el tratamiento con estatinas y el no consumo de alcohol se asociaron con valores más altos de vitamina D. En el grupo EAC la estación del año en que se obtuvo la muestra y también el no consumo de alcohol se encontraron asociados con la concentración de vitamina D. La síntesis de vitamina D está regulada por la exposición solar, que varía por estación del año. Se ha descrito que en invierno las concentraciones de 25-OH-D son más bajas por la menor exposición solar¹. En nuestro estudio los valores más altos en el grupo EAC se observaron en los participantes cuya muestra se obtuvo en invierno seguidos por los estudiados en primavera. En el estudio de Elizondo-Montemayor y cols., realizado en población mexicana, tampoco se encontró relación entre la actividad física (indicador indirecto de la exposición solar) y la concentración de vitamina D⁸⁰.

La obesidad es otro factor consistentemente asociado con las concentraciones bajas de 25-OH-D^{79,80}. Es interesante, que a pesar de la alta prevalencia de exceso de peso (sobrepeso y obesidad; 79.8%) en la población estudiada, los valores de vitamina D son más altos tanto en pacientes como en controles, que los informados en otras poblaciones^{52,53,58,75}. El género femenino también incrementa el riesgo para deficiencia/insuficiencia

de vitamina D⁸¹. No obstante, la mediana en la población total de estudio, por sexo fue similar (25.7 vs 25.0 ng/mL, p=0.7) y consistente con lo publicado por Mitineen y cols.⁷⁹ (23.2 ng/mL en hombres y 22.8 ng/mL en mujeres). También, se ha reportado que conforme avanza la edad disminuye la concentración de vitamina D⁷⁹; este fenómeno no se observó en nuestra población. En el presente trabajo, tanto en la población total como en el grupo con EAC, el consumo de alcohol se asoció con concentraciones significativamente menores de 25-OH-D lo que coincide con la observación de que los sujetos con consumo mayor de 20 gramos de alcohol al día tienen concentraciones menores de 25-OH-D⁸².

Se ha informado que el uso de estatinas es un factor que influye de manera independiente en las concentraciones de 25-OH-D. El 91.2% de los pacientes estudiados en el presente trabajo se encontraban en tratamiento con alguna estatina. Sus valores de vitamina D fueron significativamente más altos que los observados en el 8.8% de los pacientes sin estatinas y en los participantes del grupo control. Esta observación confirma los resultados de estudios que han mostrado que la lovastatina⁸³, simvastatina⁸⁴, atorvastatina⁸⁵ y rosuvastatina⁸⁶, incrementan significativamente las concentraciones de 25-OH-D. Además, se ha reportado que los sujetos con uso continuo de estatinas cursan con valores circulantes más altos de 25-OH-D y presentan menor riesgo de tener concentraciones inferiores a 20 ng/mL⁸⁷. No se tiene certeza del mecanismo mediante el cual las estatinas incrementan los niveles circulantes de esta vitamina.

La aterosclerosis es una enfermedad que cursa con inflamación, reflejada por concentraciones altas de biomarcadores como la PCR. En nuestro estudio no se encontró diferencia significativa con los valores de PCR al comparar los pacientes coronarios con los sujetos del grupo control. La posible explicación de esta observación está dada por el efecto reductor que el uso de estatinas ejerce sobre los marcadores de inflamación⁸⁸.

XI. FORTALEZAS

1. Los grupos de estudio estuvieron bien caracterizados. El grupo de pacientes estaba recibiendo tratamiento farmacológico adecuado y a diferencia de estudios previos, se tuvo la certeza de que el grupo control no presentaba aterosclerosis subclínica.
2. En la población total estudiada, no se incluyeron sujetos con diabetes, debido a que esta enfermedad es un factor altamente confusor para la EAC.
3. El punto de corte para definir deficiencia de vitamina D fue el usado también por el INSP para definir deficiencia severa y moderada (<30 ng/mL), con el fin de tener comparabilidad en los resultados.

XII. CONCLUSIONES

En este trabajo no se encontró asociación entre la deficiencia de vitamina D y la presencia de enfermedad arterial coronaria.

No se observaron asociaciones entre las concentraciones de 25-OH-D y los factores de riesgo coronario.

Las concentraciones de 25-OH-D en la población estudiada fueron más altas en comparación con las observadas en otras poblaciones.

Igualmente, la alta prevalencia de deficiencia de esta vitamina en población mexicana, fue similar a la reportada en otros países.

En los pacientes con EAC, la concentración de vitamina D fue mayor y la prevalencia de un estado de deficiencia de esta vitamina fue menor, que en sus controles pareados por género, edad e IMC.

Los resultados sugieren que el tratamiento con estatinas y el menor consumo de alcohol, pudieran ser las explicaciones para las concentraciones más altas de 25-OH-D encontradas en los pacientes con EAC.

La asociación entre deficiencia de vitamina D y la enfermedad coronaria es un tema muy controversial y hasta el momento presente no existe una conclusión definitiva.

XIII. LIMITACIONES

1. Debido al carácter transversal del estudio, no se puede establecer causalidad.
2. La medición de vitamina D se realizó en una sola ocasión, sin embargo, se cuidó que la inclusión de los sujetos fuera proporcional en cada estación del año.
3. Los pacientes tratados con estatinas no podían ser excluidos.
4. Debido al diseño del proyecto del cual parte el presente, no se obtuvieron datos de uso de bloqueadores solares y horas de exposición al sol.

XIV. RECOMENDACIONES

Un estudio de individuos con aterosclerosis subclínica, identificada por la presencia de calcio en las arterias coronarias o por aumento en el grosor de la intima media de arterias carótida, y sin tratamiento con múltiples fármacos, pudiera ser de utilidad para identificar la posible participación de los valores bajos de vitamina D en fases tempranas del proceso ateroscleroso.

XV. BIBLIOGRAFÍA

1. Zittermann, A. & Gummert, J. F. Sun, vitamin D, and cardiovascular disease. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **101**, 124– 129 (2010).
2. WHO. Global health estimates 2014 summary tables: Deaths by cause , age and sex, 2000-2012. (2014). at <http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/estimates/en/index1.html>
3. LeDuc Media. World Life Expectancy. (2015). at <<http://www.worldlifeexpectancy.com/world-rankings-total-deaths>>
4. WHO. Global health estimates summary tables: projection of deaths by cause, age and sex. (2013). at <http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/projections/en/>
5. Lanas, F., Serón, P. & Lanas, A. Cardiovascular disease in Latin America: the growing epidemic. *Prog. Cardiovasc. Dis.* **57**, 262–7 (2014).
6. INEGI. Estadísticas de mortalidad. (2011). at <<http://www.inegi.org.mx/sistemas/sisept/Default.aspx?t=mdemo107&s=est&c=23587>>
7. OPS/OMS. Situación de la Salud en las Americas. Indicadores Básicos 2014. (2014). at <http://www.paho.org/uru/index.php?option=com_content&id=756:situacion-de-salud-en-las-americas-indicadores-basicos-2013&Itemid=260>
8. Rafieian-Kopaei, M., Setorki, M., Doudi, M., Baradaran, A. & Hamid, N. Atherosclerosis: process, indicators, risk factors and new hopes. *Int. J. Prev. Med.* **5**, 927– 946 (2014).
9. Fruchart, J.-C., Nierman, M. C., Stroes, E. S. G., Kastelein, J. J. P. & Duriez, P. New risk factors for atherosclerosis and patient risk assessment. *Circulation* **109**, III–15–19 (2004).
10. Valero-Zanuy, M. A. & Hawkins-Carranza, F. Metabolismo, fuentes endógenas y exógenas de vitamina D. *REEMO (Revista Española de Enfermedades Metabólicas Óseas)* **16**, 63 – 70 (2007).
11. Holick, M. F. Vitamin D deficiency. *N. Engl. J. Med.* **357**, 266–81 (2007).
12. DeLuca, H. F. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am. J. Clin. Nutr.* **80**, 1689S–96S (2004).

13. Institute of Medicine (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium. *Dietary reference intakes for calcium and vitamin D*. (National Academies Press (US), 2011).
14. Holick, M. F. *et al.* Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **96**, 1911–1930 (2011).
15. Heaney, R. P. & Holick, M. F. Why the IOM recommendations for vitamin D are deficient. *J. Bone Miner. Res.* **26**, 455–457 (2011).
16. Holick, M. F. Vitamin D status: Measurement, interpretation and clinical application. *Ann. Epidemiol.* **19**, 73–78 (2009).
17. Drincic, A. T., Armas, L. A. G., Van Diest, E. E. & Heaney, R. P. Volumetric dilution, rather than sequestration best explains the low vitamin D status of obesity. *Obesity* **20**, 1444–8 (2012).
18. Holick, M. F. High Prevalence of Vitamin D Inadequacy and Implications for Health. *Mayo Clin. Proc.* **81**, 353–73 (2006).
19. Lo, C. W., Paris, P. W., Clemens, T. L., Nolan, J. & Holick, M. F. Vitamin D absorption in healthy subjects and in patients with intestinal malabsorption syndromes. *Am. J. Clin. Nutr.* **42**, 644–9 (1985).
20. Boonen, S. *et al.* Addressing the Musculoskeletal Components of Fracture Risk with Calcium and Vitamin D: A Review of the Evidence. *Calcif. Tissue Int.* **78**, 257–270 (2006).
21. Holick, M. F. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J. Clin. Invest.* **116**, 2062–2072 (2006).
22. Zittermann, A. & Grant, W. B. 25-hydroxyvitamin D levels and all-cause mortality. *Arch. Intern. Med.* **169**, 1075–6 (2009).
23. Kassi, E., Adamopoulos, C., Basdra, E. K. & Papavassiliou, A. G. Role of Vitamin D in Atherosclerosis. *Circulation* **128**, 2517–31 (2013).
24. Cheng, S. *et al.* Adiposity, Cardiometabolic Risk, and Vitamin D Status: The Framingham Heart Study. *Diabetes* **59**, 242–248 (2010).
25. Chacko, S. A. *et al.* Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in relation to cardiometabolic risk factors and metabolic syndrome in postmenopausal women. *Am. J. Clin. Nutr.* **94**, 209–217 (2011).

26. Scragg, R., Sowers, M. & Bell, C. Serum 25-hydroxyvitamin D, diabetes, and ethnicity in the Third National Health and Nutrition Examination. *Diabetes Care* **27**, 2813–8 (2004).
27. Ford, E. S., Ajani, U. A., McGuire, L. C. & Liu, S. Concentrations of Serum Vitamin D and the Metabolic Syndrome Among U.S. Adults. *Diabetes Care* **28**, 1228–1230 (2005).
28. Forman, J. P. *et al.* Plasma 25-Hydroxyvitamin D Levels and Risk of Incident Hypertension. *Hypertension* **49**, 1063–1069 (2007).
29. Martins, D. *et al.* Prevalence of cardiovascular risk factors and the serum levels of 25-hydroxyvitamin D in the United States: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch. Intern. Med.* **167**, 1159–65 (2007).
30. Richart, T. *et al.* The metabolic syndrome and carotid intima-media thickness in relation to the parathyroid hormone to 25-OH-D(3) ratio in a general population. *Am. J. Hypertens.* **24**, 102–9 (2011).
31. Kim, M. K. *et al.* The association of serum vitamin D level with presence of metabolic syndrome and hypertension in middle-aged Korean subjects. *Clin. Endocrinol.* **73**, 330–8 (2010).
32. Tomson, J. *et al.* Vitamin D and risk of death from vascular and non-vascular causes in the Whitehall study and meta-analyses of 12,000 deaths. *Eur. Heart J.* **34**, 1365–74 (2013).
33. Zittermann, A. Vitamin D and disease prevention with special reference to cardiovascular disease. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **92**, 39–48 (2006).
34. Zittermann, A. *et al.* Low vitamin D status: a contributing factor in the pathogenesis of congestive heart failure? *J. Am. Coll. Cardiol.* **41**, 105–12 (2003).
35. Chiu, K. C., Chu, A., Go, V. L. W. & Saad, M. F. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and B cell dysfunction. *Am. J. Clin. Nutr.* **79**, 820–825 (2004).
36. Rodríguez-Rodríguez, E., Ortega, R. M., González-Rodríguez, L. G. & López-Sobaler, A. M. Vitamin D deficiency is an independent predictor of elevated triglycerides in Spanish school children. *Eur. J. Nutr.* **50**, 373–8 (2011).
37. Guillot, X., Semerano, L., Saldenber-Kermanac'h, N., Falgarone, G. & Boissier, M.-C. Vitamin D and inflammation. *Joint. Bone. Spine* **77**, 552–7 (2010).

38. Zittermann, A. *et al.* Vitamin D supplementation enhances the beneficial effects of weight loss on cardiovascular disease risk markers. *Am. J. Clin. Nutr.* **89**, 1321–7 (2009).
39. Pittas, A. G., Harris, S. S., Stark, P. C. & Dawson-Hughes, B. The Effects of Calcium and Vitamin D Supplementation on Blood Glucose and Markers of Inflammation in Nondiabetic Adults. *Diabetes Care* **30**, 980–6 (2007).
40. Johnson, M. D., Nader, N. S., Weaver, A. L., Singh, R. & Kumar, S. Relationships between 25-hydroxyvitamin D levels and plasma glucose and lipid levels in pediatric outpatients. *J. Pediatr.* **156**, 444–9 (2010).
41. Michos, E. D. *et al.* Serum 25-hydroxyvitamin D levels are not associated with subclinical vascular disease or C-reactive protein in the Old Order Amish. *Calcif. Tissue Int.* **84**, 195–202 (2009).
42. Rueda, S., Fernández-Fernández, C., Romero, F., Martínez de Osaba, M. J. & Vidal, J. Vitamin D, PTH, and the Metabolic Syndrome in Severely Obese Subjects. *Obes. Surg.* **18**, 151–4 (2008).
43. Scragg, R. Seasonality of cardiovascular disease mortality and the possible protective effect of ultra-violet radiation. *Int. J. Epidemiol.* **10**, 337–41 (1981).
44. Giovannucci, E., Liu, Y., Hollis, B. W. & Rimm, E. B. A Prospective Study of 25-Hydroxy-Vitamin D and Risk of Myocardial Infarction in Men. *Arch. Intern. Med.* **168**, 1174–1180 (2008).
45. Hutchinson, M., Grimnes, G., Joakimsen, R., Figenschau, Y. & Jorde, Y. Low serum 25-hydroxyvitamin D levels are associated with increased all cause mortality risk in a general population: the Tromsø study. *Eur. J. Endocrinol.* **162**, 935–942 (2010).
46. Michaëlsson, K. *et al.* Plasma vitamin D and mortality in older men: a community-based prospective cohort study. *Am. J. Clin. Nutr.* **92**, 841–8 (2010).
47. Shor, R. *et al.* 25 hydroxyvitamin D levels in patients undergoing coronary artery catheterization. *Eur. J. Intern. Med.* **23**, 470–473 (2012).
48. Lim, S. *et al.* Vitamin D inadequacy is associated with significant coronary artery stenosis in a community-based elderly cohort: the Korean Longitudinal Study on Health and Aging. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **97**, 169–78 (2012).
49. Melamed, M. L. *et al.* Serum 25-hydroxyvitamin D levels and the prevalence of peripheral arterial disease: results from NHANES 2001 to 2004. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **28**, 1179–85 (2008).

50. Reis, J. P. *et al.* Serum Vitamin D, Parathyroid Hormone Levels, and Carotid Atherosclerosis. *Atherosclerosis* **207**, 585–90 (2009).
51. Targher, G. *et al.* Serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and carotid artery intima-media thickness among type 2 diabetic patients. *Clin. Endocrinol.* **65**, 593–7 (2006).
52. Lai, S., Gerstenblith, G., Brinker, J. & Tong, W. Vitamin D deficiency is associated with coronary artery calcification in cardiovascularly asymptomatic African Americans with HIV infection. *Vasc. Health Risk Manag.* **9**, 493–500 (2013).
53. Deleskog, A. *et al.* Serum 25-hydroxyvitamin D concentration, established and emerging cardiovascular risk factors and risk of myocardial infarction before the age of 60 years. *Atherosclerosis* **223**, 223–9 (2012).
54. De Boer, I. H. *et al.* 25-hydroxyvitamin D levels inversely associate with risk for developing coronary artery calcification. *J. Am. Soc. Nephrol.* **20**, 1805–12 (2009).
55. Kiani, A. N., Fang, H., Magder, L. S. & Petri, M. Vitamin D deficiency does not predict progression of coronary artery calcium, carotid intima-media thickness or high-sensitivity C-reactive protein in systemic lupus erythematosus. *Rheumatol.* **52**, 2071–6 (2013).
56. Judd, S. E., Nanes, M. S., Ziegler, T. R., Wilson, P. W. & Tangpricha, V. Optimal vitamin D status attenuates the age-associated increase in systolic blood pressure in white Americans: results from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am. J. Clin. Nutr.* **87**, 136–141 (2008).
57. Flores, M. *et al.* Concentraciones séricas de vitamina D en niños , adolescentes y adultos mexicanos. *Resultados de la ENSANUT 2006.* (2006).
58. Hosseinpanah, F. *et al.* Associations between vitamin D and cardiovascular outcomes; Tehran Lipid and Glucose Study. *Atherosclerosis* **218**, 238–42 (2011).
59. Ortega Calvo, M. & Cayuela Domínguez, A. Regresión Logística no condicionada y tamaño de muestra: una revisión bibliográfica. *Rev. Esp. Salud Publica* **76**, 85–93 (2002).
60. Hosmer, D. W., Lemeshow, S. & Sturdivant, R. X. in *Applied Logistic Regression* 377–457 (John Wiley & Sons, 2013).
61. Hernández-Avila, M. *et al.* Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire to assess dietary intake of women living in Mexico City. *Salud Publica Mex.* **40**, 133–40 (1998).

62. Hernández- Ávila, M., Resoles, M., Parra, S. & Romieu, I. Sistema de evaluación de hábitos nutricionales y consumo de nutrimentos (SNUT).
63. Baecke, J., Burema, J. & Frijters, J. A short questionnaire for the measurement of habitual physical activity in epidemiological studies. *Am. J. Clin. Nutr.* **36**, 936–942 (1982).
64. Sugiuchi, H. *et al.* Direct measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol in Serum with Polyethylene Glycol-Modified Enzymes and Sulfated α -Cyclodextrin. *Clin. Chem.* **41**, 717–723 (1995).
65. DeLong, D. M., DeLong, E. R., Wood, P. D., Lippel, K. & Rifkind, B. A Comparison of Methods for the Estimation of Plasma Low- and Very Low-Density Lipoprotein Cholesterol The Lipid Research Clinics Prevalence Study. *J. Am. Med. Assoc.* **256**, 2372–2377 (1986).
66. Wallace, T. M., Levy, J. C. & Matthews, D. R. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care* **27**, 1487–95 (2004).
67. *Architect. 25-OH-Vitamin D. Una forma brillante de detectar la vitamina D.*
68. Marques, M. D. *et al.* Relation between visceral fat and coronary artery disease evaluated by multidetector computed tomography. *Atherosclerosis* **209**, 481–6 (2010).
69. ATP-III. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* **285**, 2486–2497 (2001).
70. Alberti, K. G. M. M. *et al.* Harmonizing the Metabolic Syndrome: A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International . *Circulation* **120**, 1640–1645 (2009).
71. Castelli, W. P. *et al.* Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. The Framingham Study. *JAMA* **256**, 2835–2838 (1986).
72. American Diabetes Association. Standards of medical care in Diabetes-2009. *Diabetes Care* **32**, s13–s63 (2009).
73. Cigolini, M. *et al.* Serum 25-Hydroxyvitamin 3 concentrations and Prevalence of Cardiovascular Disease Among Type 2 Diabetic Patients. *Diabetes Care* **29**, 722–724 (2006).

74. Rajasree, S. *et al.* Serum 25-hydroxyvitamin D3 levels are elevated in South Indian patients with ischemic heart disease. *Eur. J. Epidemiol.* **17**, 567–71 (2001).
75. Lai, H. *et al.* Vitamin D deficiency is associated with development of subclinical coronary artery disease in HIV-infected African American cocaine users with low Framingham-defined cardiovascular risk. *Vasc. Health Risk Manag.* **9**, 729–37 (2013).
76. Young, K. A. *et al.* Vitamin D deficiency and coronary artery calcification in subjects with type 1 diabetes. *Diabetes Care* **34**, 454–8 (2011).
77. Joergensen, C. *et al.* Vitamin D levels and asymptomatic coronary artery disease in type 2 diabetic patients with elevated urinary albumin excretion rate. *Diabetes Care* **35**, 168–72 (2012).
78. Weyland, P., Grant, W. & Howie-Esquivel, J. Does Sufficient Evidence Exist to Support a Causal Association between Vitamin D Status and Cardiovascular Disease Risk? An Assessment Using Hill’s Criteria for Causality. *Nutrients* **6**, 3403–3430 (2014).
79. Miettinen, M. E. *et al.* Association of Serum 25-Hydroxyvitamin D with Lifestyle Factors and Metabolic and Cardiovascular Disease Markers: Population-Based Cross-Sectional Study (FIN-D2D). *PLoS One* **9**, e100235 (2014).
80. Elizondo-Montemayor, L., Ugalde-Casas, P. A., Serrano-González, M., Cuello-García, C. A. & Borbolla-Escoboza, J. R. Serum 25-hydroxyvitamin D concentration, life factors and obesity in Mexican children. *Obes. (Silver Spring)* **18**, 1805–11 (2010).
81. Verdoia, M. *et al.* Impact of gender difference on vitamin D status and its relationship with the extent of coronary artery disease. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **25**, 464–70 (2015).
82. Legeai, C. *et al.* Associations between 25-Hydroxyvitamin D and Immunologic , Metabolic , Inflammatory Markers in Treatment-Naive HIV-Infected Persons: The ANRS CO9 «COPANA» Cohort Study. *PLoS One* **8**, e74868 (2013).
83. Wilczek, H. *et al.* Iatropathogenic effect of Mevacor on vitamin D metabolism. *Cas Lek Ces.* **128**, 1254–6 (1989).
84. Wilczek, H. *et al.* Monitoring plasma levels of vitamin D metabolites in simvastatin therapy in patients with familial hypercholesterolemia. *Cas Lek Ces.* **133**, 727–729 (1994).
85. Pérez-Castrillón, J. L. *et al.* Effects of Atorvastatin on Vitamin D levels in patients with Acute Ischemic Heart Disease. *Am. J. Cardiol.* **99**, 903–5 (2007).

86. Yavuz, B. *et al.* Increased levels of 25 hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D after rosuvastatin treatment: A novel pleiotropic effect of statins? *Cardiovasc. Drugs Ther.* **23**, 295–9 (2009).
87. Ernst, J. B. *et al.* Association between circulating 25-hydroxyvitamin D levels and medication use in patients scheduled for cardiac surgery. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **25**, 280–6 (2015).
88. Puri, R. *et al.* Impact of Statins on Serial Coronary Calcification During Atheroma Progression and Regression. *J. Am. Coll. Cardiol.* **65**, 1273–1282 (2015).