

Niveles bajos de 25-hidroxivitamina D y riesgo de diabetes tipo 2: estudio prospectivo, de cohortes y metaanálisis

Shoaib Afzal,¹ Stig E. Bojesen,^{1,2,3} y Børge G. Nordestgaard^{1,2,3*}

ANTECEDENTES: La deficiencia de vitamina D se ha relacionado con la disminución de la secreción de insulina y el aumento de la resistencia a la insulina, características distintivas de la diabetes mellitus tipo 2. Pusimos a prueba la hipótesis de que el plasma con bajos niveles de 25-hidroxivitamina D [25(OH)D] se relaciona con un mayor riesgo de diabetes tipo 2 en la población general.

MÉTODOS: Se midió la 25(OH)D en 9841 participantes de la población general, de los cuales 810 presentaron diabetes tipo 2 durante 29 años de seguimiento. Los análisis se ajustaron por edad, género, tabaquismo, índice de masa corporal, ingresos, actividad física, colesterol de las HDL y el mes calendario de extracción de sangre.

RESULTADOS: Las concentraciones menores de 25(OH)D se asociaron por categorías clínicas o cuartiles ajustados estacionalmente, con una mayor incidencia acumulada de diabetes tipo 2 (tendencia, $P = 2 \times 10^{-7}$ y $P = 4 \times 10^{-10}$). Los cocientes de riesgo multivariable ajustado de la diabetes tipo 2 fueron 1.22 (IC del 95% 0.85 a 1.74) para la 25(OH)D <5 frente a ≥ 20 $\mu\text{g/L}$ y 1.35 (1.09 a 1.66) para el cuartil inferior frente al superior. Asimismo, el cociente de riesgo multivariable ajustado de la diabetes tipo 2 para una concentración del 50% por debajo de 25(OH)D fue de 1.12 (0.1.03 a 0.1.21); el cociente de riesgo correspondiente para aquellos individuos ≤ 58 años de edad fue de 1.26 (1.15 a 1.41). Por último, en un metaanálisis de 16 estudios, la razón de probabilidad para la diabetes tipo 2 fue de 1.50 (1.33 a 1.70) para el cuartil inferior frente al superior de 25(OH)D.

CONCLUSIONES: Observamos una asociación del plasma de baja concentración de 25(OH)D con un mayor

riesgo de diabetes tipo 2. Esta conclusión basa su fundamento en un metaanálisis.

© 2013 American Association for Clinical Chemistry

La patogénesis de la diabetes mellitus tipo 2 implica el desarrollo de una relativa deficiencia en la secreción de insulina y resistencia a la insulina (1). El estado de deficiencia de la vitamina D se ha asociado con la disminución de secreción de insulina y el aumento de la resistencia a la insulina en animales y seres humanos (2–9). Además, la sustitución con la vitamina D en el estado de deficiencia se asocia a una mejora en la secreción de insulina y tolerancia a la glucosa (5, 7, 9). Por lo tanto, estos estudios sugieren una relación entre la deficiencia de vitamina D y la diabetes tipo 2.

Los estudios aleatorios y de observación, en concentraciones de vitamina D o de consumo y riesgo de diabetes tipo 2 han sido contradictorios (10). En general, los estudios de observación sugieren que las mayores concentraciones en plasma de 25-hidroxivitamina D [25(OH)D]⁴ y el mayor consumo de vitamina D se asocian a un menor riesgo de diabetes tipo 2. Sin embargo, los estudios aleatorios no muestran que el aporte complementario de vitamina D tenga algún efecto en un menor riesgo de diabetes tipo 2. Se han propuesto varios factores para explicar estos resultados aparentemente contradictorios, como factores de confusión residual en los estudios de observación y la insuficiencia de las dosis en estudios aleatorios. Por tanto, no queda claro actualmente si las bajas concentraciones de 25(OH)D en plasma se relacionan con un mayor riesgo de diabetes tipo 2.

Pusimos a prueba la hipótesis de que las bajas concentraciones de 25(OH)D en plasma se asocian con un mayor riesgo de diabetes tipo 2 en la población general. Para ello, estudiamos a 9841 individuos blancos del

¹ Departamento de Bioquímica Clínica, Hospital Herlev, Hospital de la Universidad de Copenhague, Copenhague, Dinamarca; ² Estudio Cardíaco de la Ciudad de Copenhague, Hospital Bispebjerg, Hospital de la Universidad de Copenhague, Copenhague, Dinamarca; ³ Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Copenhague, Copenhague, Dinamarca.

* Dirigir la correspondencia de los autores a: Department of Clinical Biochemistry, Herlev Hospital, Copenhagen University Hospital, Herlev Ringvej 75, DK-2730

Herlev, Dinamarca., Fax: +45-38683311; correo electrónico: boerge.nordestgaard@regionh.dk.

Recibido para su publicación el 12 de julio de 2012. Aceptado para su publicación el 31 de octubre de 2012.

⁴ Abreviaturas no estándar: 25(OH)D 25-hidroxivitamina D; IMC índice de masa corporal.

Copenhagen City Heart Study (Estudio Cardíaco de la Ciudad de Copenhague) mediante un seguimiento de hasta 29 años. Utilizamos categorías clínicas no ajustadas estacionalmente, de $\geq 20 \mu\text{g/L}$ [$\geq 50 \text{ nmol/L}$] (suficiente), 10 a $19.9 \mu\text{g/L}$ [25 a 49.9 nmol/L] (insuficiente), 5 a $9.9 \mu\text{g/L}$ [12.5 a 24.9 nmol/L] (deficiente) y $<5 \mu\text{g/L}$ [$<12.5 \text{ nmol/L}$] (altamente deficiente), así como concentraciones ajustadas por variaciones estacionales. Por otra parte, la asociación de bajas concentraciones de 25(OH)D en plasma con un mayor riesgo de diabetes tipo 2 se resumió en un metaanálisis, que incluye estudios previos y actuales.

Materiales y métodos

DISEÑO DEL ESTUDIO

El Estudio Cardíaco de la Ciudad de Copenhague es un estudio prospectivo de cohortes de la población danesa general que se inició entre 1976 y 1978 con exámenes de seguimiento en 1981 a 1983, 1991 a 1994 a 2001 a 2003 (11). Se seleccionaron individuos al azar de entre 20 y 100 años de edad del Registro Nacional de Personas de Dinamarca y se los invitó a participar; todos los habitantes de Dinamarca se identifican de forma única a través de un número de registro central de personas que además contiene información sobre la fecha de nacimiento y género.

El presente estudio incluyó 9841 participantes del examen de 1981 a 1983 (18089 individuos invitados; índice de respuesta del 70%) que no presentaban diabetes tipo 2 al inicio del estudio, tenían una glucemia postprandial $<198 \text{ mg/dL}$ [$<11 \text{ mmol/L}$] al inicio, (las concentraciones de glucosa en ayunas no estaban disponibles) y presentaron muestras de plasma disponibles para medición de 25(OH)D.

Un comité de ética danés aprobó el estudio (KF100.2039/91 y KF01-144/01), y los participantes proporcionaron su consentimiento informado por escrito.

MEDICIONES DE 25(OH)D

Las muestras de plasma obtenidas al inicio del estudio de 1981 a 1983 se almacenaron a -20°C hasta los años 2009 a 2010, cuando se midió la 25(OH)D con el ensayo DiaSorin Liaison de concentración total de 25(OH)D (12). La precisión del ensayo se probó en forma diaria y la exactitud del ensayo se probó en forma mensual con un programa de control de calidad externo. El coeficiente de variación entre ensayos fue del 10% para los controles de baja concentración, aproximadamente $16 \mu\text{g/L}$ (40 nmol/L) y el 8% para los controles de alta concentración, aproximadamente $54 \mu\text{g/L}$ (135 nmol/L).

POSIBLES FACTORES DE CONFUSIÓN

Las variables se confirmaron en 1981 a 1983, 1991 a 1994 y 2001 a 2003 (11) y se utilizaron como variables que varían con el tiempo en modelos ajustados de múltiples variables. La información sobre hábitos de tabaquismo se obtuvo a partir de la percepción subjetiva de los cuestionarios que respondieron los participantes junto a un examinador el día de la concurrencia. Los participantes también informaron sobre su nivel de ingresos (alto, medio o bajo) y la duración e intensidad de las actividades físicas en su tiempo libre (horas/semana) en cuestionarios que respondieron personalmente y se revisaron junto con el examinador en el día de concurrencia. El índice de masa corporal (IMC) se calculó al dividir el peso medido (kg) por la altura medida (metros) al cuadrado.

CRITERIO DE VALORACIÓN

Los participantes informaron diabetes tipo 2 incidental y el uso de medicamentos antidiabéticos en el examen de seguimiento de 1991 a 1994 o 2001 a 2003, postprandiales de glucosa $>198 \text{ mg/dL}$ ($>11 \text{ mmol/L}$) en el examen de seguimiento o información sobre los diagnósticos de incidencia de diabetes tipo 2, (OMS, *Clasificación Internacional de Enfermedades*, Revisión 8, código 250 y Revisión 10, códigos E11, E13 y E14) obtenidos y verificados mediante la revisión de los ingresos hospitalarios y diagnósticos inscritos en el Registro de pacientes de nacionalidad danesa y mediante la revisión del Registro nacional danés de causas de muerte. El tiempo de seguimiento de cada individuo se inició en el día de la obtención de muestras de sangre entre 1981 y 1983 y terminó al momento del diagnóstico de diabetes tipo 2 ($n = 810$), la muerte ($n = 5,908$), la emigración ($n = 54$) o en agosto de 2010, lo que ocurriera primero. El tiempo de seguimiento promedio fue de 20 años (rango de 0.03 a 29). El seguimiento se completó al 100%; es decir, no se dejó a ningún individuo fuera de observación.

Análisis estadísticos

Dividimos la base de 25(OH)D en las siguientes categorías clínicas no ajustadas estacionalmente de $\geq 20 \mu\text{g/L}$ [$\geq 50 \text{ nmol/L}$] (suficiente), 10 a $19.9 \mu\text{g/L}$ [25 a 49.9 nmol/L] (insuficiente), 5 a $9.9 \mu\text{g/L}$ [12.5 a 24.9 nmol/L] (deficiente) y $<5 \mu\text{g/L}$ [$<12.5 \text{ nmol/L}$] (altamente deficiente). Además, debido a que se esperaba que las concentraciones de 25(OH)D variaran según la época del año por la posición geográfica de alta latitud de Dinamarca, utilizamos concentraciones de 25(OH)D ajustadas estacionalmente. Se aplicaron dos estrategias para el ajuste de la variación estacional de la vitamina D. En primer lugar, se utilizaron concentraciones sin ajustar de 25(OH)D en los análisis de re-

gresión, mientras que se realizaba el ajuste para el mes calendario de extracción de sangre. En segundo lugar, se obtuvieron puntos de corte específicos del mes calendario mediante la asignación de los sujetos a las categorías de cuartil dentro del mismo mes de la obtención de muestras (consultar Tabla complementaria S1, que acompaña la versión en línea de este artículo en <http://www.clinchem.org/content/vol59/issue2>). Para las pruebas de tendencia, a los individuos de cada grupo se les asignó el valor de la mediana de su grupo, ya sea como valores absolutos o percentiles. Como complemento de estos análisis, también se compararon los participantes con 25(OH)D >30 µg/L (>75 nmol/L) en plasma frente a los participantes con 25(OH)D de 20 a 30 µg/L (50–75 nmol/L) en plasma dado que se había sugerido que los beneficios no calcémicos de la vitamina D podían maximizarse cuando la 25(OH)D es >30 µg/L (> 75 nmol/L) (13). Para llevar a cabo estos análisis, elegimos dos categorías clínicas con valores absolutos y cuartiles en meses específicos. Si bien los cuartiles en meses específicos pueden ser más adecuados para la prueba de hipótesis biológica, las categorías clínicas brindan información que facilita la comparabilidad entre los estudios y los valores absolutos son también los que se usan clínicamente, lo que posibilita la transferencia de valores absolutos a las actividades cotidianas de los médicos.

Para evaluar si el tiempo de almacenamiento se asoció a concentraciones medias de 25(OH)D en plasma, también medimos la 25(OH)D en plasma de 400 participantes sin diabetes, cáncer, enfermedades del corazón u otras enfermedades crónicas que participaron en los exámenes de 1981 a 1983, 1991 a 1994, 2001 a 2003 del Estudio Cardíaco de la Ciudad de Copenhague.

Estimamos las incidencias acumuladas mediante los modelos de subriesgo proporcional al riesgo competitivo por el método de Fine y Gray (14), en el que se tuvo en cuenta el riesgo competitivo de muerte. Los análisis se ajustaron por edad y año de nacimiento para tener en cuenta los efectos del calendario. Se utilizó la edad como escala de tiempo. Las funciones de incidencia acumulada se diagramaron por categorías clínicas no ajustadas estacionalmente y categorías percentiles ajustadas estacionalmente.

Se utilizó la regresión de riesgos proporcionales de Cox para estimar los cocientes de riesgo con IC del 95% para la diabetes incidental tipo 2. Se utilizó la edad como escala de tiempo con la entrada tardía (truncamiento izquierdo). Por lo tanto, las diferencias de edad se ajustaban automáticamente y la referencia a los análisis se realizó mediante texto, tablas y figuras en donde se ajustó la edad. Los modelos de regresión multivariable de Cox ajustados incluyeron: (a) los factores de riesgo para la diabetes tipo 2 como edad, género, tabaquismo (nunca/algunas veces), IMC y duración e

intensidad de las actividades físicas durante el tiempo libre; (b) los ingresos como una medida de posición social y (c) el mes calendario de la extracción de sangre (este último solo para los modelos con categorías clínicas) como un factor de confusión para las concentraciones de 25(OH)D. Se probaron las interacciones mediante pruebas de cociente de probabilidad con modelos de regresión de Cox, a través de la inclusión y exclusión de términos de interacción multiplicativa de doble factor, el último anidado en el modelo anterior. En los análisis de interacción y análisis estratificados, se utilizaron valores transformados mediante \log_2 de 25(OH)D en plasma por lo que una disminución de 1 unidad corresponde a una concentración inferior al 50% de 25(OH)D en plasma. La hipótesis de riesgos proporcionales se evaluó en los modelos de regresión de Cox gráficamente, al representar $\ln[-\ln(\text{supervivencia})]$ frente a $\ln(\text{tiempo de análisis})$; no se detectó ninguna violación de la hipótesis de riesgos proporcionales. Los datos se mostraron en forma completa en un 99.8% con relación a las variables incluidas (consultar la Tabla complementaria en línea S2); los datos faltantes se imputaron mediante imputación en cadena de múltiples variables (comando `mi impute chained`) donde la edad y el género eran variables independientes, y el índice de masa corporal, la duración y la intensidad de las actividades físicas en el tiempo libre, así como los ingresos eran variables dependientes en el modelo.

Los datos se analizaron con el paquete estadístico Stata 12.1, incluido el metaanálisis que se describe a continuación.

METAANÁLISIS

Se identificaron estudios pertinentes evaluados por expertos sobre la asociación entre concentraciones de 25(OH)D en plasma y el riesgo de diabetes tipo 2 mediante una búsqueda electrónica de artículos publicados en PubMed hasta el 30 de junio de 2012 mediante la combinación de las siguientes palabras clave: (“Vitamina D” [MeSH] O “25-hidroxitamina D” [Concepto suplementario] o “25-hidroxitamina D en suero”, “25-hidroxitamina D3” o “vitamina D3”) Y (“Diabetes Mellitus” [MeSH] o “diabetes”). Los criterios de inclusión fueron de diseño prospectivo; se tomó como único criterio de valoración la diabetes tipo 2; una muestra o submuestra de población general, no seleccionados sobre la base de la presencia de la enfermedad, e información sobre las estimaciones del efecto de la asociación de las concentraciones de 25(OH)D con el riesgo de diabetes tipo 2. Se identificaron 1335 estudios en total; se extrajeron 32 artículos para la revisión de texto completo y otros 19 artículos fueron excluidos después de la revisión debido a criterios de valoración equivocada; sin medición de 25(OH)D en

plasma o diseño de estudio transversal (ver Suplemento en línea Fig. S1). Esta estrategia de búsqueda identificó 13 artículos que representan a 15 estudios sobre la asociación entre las concentraciones de 25(OH)D en plasma con riesgo de diabetes tipo 2 (15–27).

Los datos de cada estudio se extrajeron por SA y se confirmaron por BGN. Los datos extraídos incluyeron primer autor; año de publicación; tamaño de cohorte y fuente; tiempo de seguimiento informado; diseño; método de medición de la vitamina D; método de categorización de 25(OH)D; estimaciones de la asociación entre las concentraciones de 25(OH)D y los resultados; comprobación del diagnóstico; y ajuste para edad, género, sobrepeso u obesidad, tabaquismo y actividad física, ya que estas variables son factores de riesgo conocidos para la diabetes tipo 2 y la deficiencia de vitamina D, y época de la extracción de sangre, que se asocia con las concentraciones de vitamina D en plasma. Convertimos las estimaciones de riesgo de los estudios individuales en estimaciones de riesgo para los cuartiles superiores frente a los inferiores a fin de obtener estimaciones de riesgo sintetizadas de mayor solidez (28). Esta conversión no fue posible para 3 estudios (15, 18, 21) y se contactó a los autores correspondientes para obtener las estimaciones de riesgo. Algunos estudios no informaron las concentraciones promedio o la mediana de 25(OH)D y en estos estudios las concentraciones promedio se calcularon a partir de la distribución informada de 25(OH)D (17, 25, 26).

El metaanálisis se llevó a cabo mediante modelos de efectos fijos y aleatorios (29) y las ponderaciones de los efectos aleatorios se calcularon mediante el modelo DerSimonian y Laird. La heterogeneidad se evaluó mediante el modelo estadístico Q y su extensión se cuantificó mediante I^2 (la fracción de la variabilidad entre estudio debido a la heterogeneidad) (30). El sesgo de publicación se evaluó mediante gráficos en embudo, prueba de correlación de rango de Begg y pruebas de regresión de Egger.

Resultados

ESTUDIO CARDÍACO DE LA CIUDAD DE COPENHAGUE

La Tabla 1 y la Tabla 2 complementaria en línea S3 resumen las características iniciales de las concentraciones de la 25(OH)D en plasma. Las bajas concentraciones de 25(OH)D se asocian a mayor edad, tabaquismo, índice de masa corporal elevado, bajos ingresos, baja duración de la actividad física en tiempo libre y obtención de muestras de sangre en invierno. La asociación de las concentraciones de 25(OH)D con IMC demostró una disminución de 25(OH)D en los participantes con mayor índice de masa corporal (tendencia, $P = 2 \times 10^{-41}$), pero los participantes con bajo peso presentaron menores concentraciones de

25(OH)D en comparación con los participantes de peso normal (consultar el Suplemento en línea Fig. S2). La concentración promedio de 25(OH)D fue de 16 $\mu\text{g/L}$ [41 nmol/L] entre todos los participantes y 14 $\mu\text{g/L}$ [36 nmol/L] entre los que más tarde presentaron diabetes tipo 2. Se presentó un total de 810 casos incidentales de diabetes tipo 2 entre 9841 participantes durante un seguimiento de hasta 29 años. En 400 participantes sanos, obtuvimos mediciones de 25(OH)D en plasma de 1981 a 1983, 1991 a 1994 y 2001 a 2003, que demostraron que las concentraciones promedio fueron relativamente estables; es decir, el tiempo de almacenamiento no se asoció sistemáticamente con concentraciones menores de 25(OH)D (ver Suplemento en línea Fig. S3).

La incidencia acumulada de diabetes tipo 2 aumentó con la disminución de las concentraciones 25(OH)D en plasma de referencia expresadas en categorías clínicas (tendencia, $P = 3 \times 10^{-5}$) y se expresó en cuartiles ajustados estacionalmente ($P = 2 \times 10^{-6}$) (Fig. 1). Los cocientes de riesgo multivariable ajustado para la diabetes tipo 2 aumentaron con la disminución de concentraciones de 25(OH)D por categorías clínicas y cuartiles ajustados estacionalmente, y fueron de 1.22 (95% CI 0.85 a 1.74) para la 25(OH)D $< 5 \mu\text{g/L}$ [$< 12.5 \text{ nmol/L}$] en comparación con $\geq 20 \mu\text{g/L}$ [50 nmol/L], y 1.35 (1.09 a 1.66) para el cuartil más bajo frente al más alto (Fig. 2). Los análisis adicionales que incluyeron la categoría clínica de 25(OH)D $> 30 \mu\text{g/L}$ [$> 75 \text{ nmol/L}$], que incluyeron 985 participantes, mostraron cocientes de riesgo multivariable ajustado para la diabetes tipo 2 de 0.91 (0.67 a 1.25) para la 25(OH)D $> 30 \mu\text{g/L}$ [$> 75 \text{ nmol/L}$] en comparación con $30 \geq 25(\text{OH})\text{D} \geq 20 \mu\text{g/L}$ [$75 \geq 25(\text{OH})\text{D} \geq 50 \text{ nmol/L}$]. El uso de 25(OH)D $> 30 \mu\text{g/L}$ [$> 75 \text{ nmol/L}$] como valor de referencia demostró resultados similares a los de los análisis anteriores (ver Suplemento en línea Fig. S4).

El cociente de riesgo multivariable ajustado para la diabetes tipo 2 en una concentración del 50% por debajo de la 25(OH)D fue de 1.12 (1.03 a 1.21) (Fig. 3). Una concentración superior a 25(OH)D en un 50% se asoció a un cociente de riesgo > 1.0 en la mayoría de los estratos; sin embargo, no todas las estimaciones de riesgo individuales fueron significativas. No obstante, como las pruebas de interacción no fueron significativas para todas las estratificaciones, salvo la edad, después de la corrección de 7 pruebas en paralelo, a través de la corrección de Bonferroni, esto implica que las concentraciones bajas de 25(OH)D se asocian a un mayor riesgo de diabetes tipo 2, independientemente de los niveles de categoría de otras variables. En cuanto a la edad, el cociente de riesgo multivariable ajustado para la diabetes tipo 2 en una concentración del 50% por debajo de la 25(OH)D fue de 1.50 (1.33 a 1.70) y

Tabla 1. Características iniciales de acuerdo con los puntos de corte clínicos de concentraciones de 25(OH)D en plasma.^a

	25(OH)D en plasma, ng/mL				Tendencia, P ^b
	<5	5–9.9	10–19.9	<20	
n	458	1805	3932	3646	
Hombre	209 (46)	797 (44)	1680 (43)	1561 (43)	0.29
Edad, años					<0.001
Promedio	59	58	58	57	
Intervalo entre cuartiles	50–65	49–65	48–65	47–64	
Tabaquismo					<0.001
Nunca	62 (14)	308 (17)	857 (22)	850 (23)	
Alguna vez	396 (86)	1497 (83)	3075 (78)	2796 (77)	
Índice de masa corporal, kg/m ²					<0.001
Promedio	24.9	25.5	25.1	24.2	
Intervalo entre cuartiles	22–29	23–29	23–28	22–27	
Ingresos					<0.001
Bajo	206 (45)	663 (37)	1218 (31)	977 (27)	
Medio	190 (42)	806 (46)	1828 (47)	1700 (47)	
Alto	57 (13)	306 (17)	834 (22)	936 (26)	
Duración de la actividad física en el tiempo libre, horas/semana					<0.001
<2	147 (32)	417 (23)	646 (16)	406 (11)	
2–4 (actividad ligera)	198 (43)	887 (49)	1953 (50)	1788 (49)	
≥ 4 o 2–4 (actividad intensa)	113 (25)	501 (28)	1328 (34)	1450 (40)	
Estación					<0.001
Mayo-octubre (verano)	114 (25)	667 (37)	2016 (51)	2329 (64)	
Noviembre-abril (invierno)	344 (75)	1138 (63)	1916 (49)	1317 (36)	

^a Los datos son n (%) a menos de que se indique lo contrario.

^b Prueba de tendencia no paramétrica Cuzick.

1.00 (0.88 a 1.15) para los ≤58 años y >58 años, respectivamente (interacción, $P = 10^{-8}$).

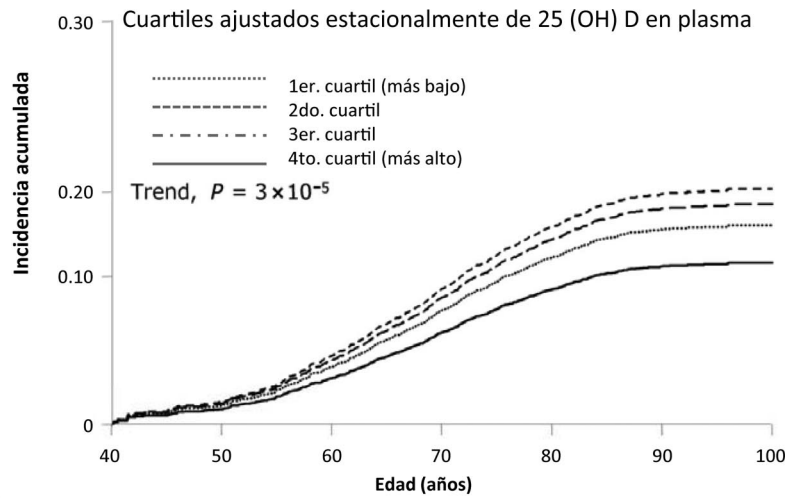
METAANÁLISIS

Se incluyeron en el metaanálisis un total de 14 estudios que representan 16 cohortes, con un total de 72 204 participantes y 4877 casos de diabetes tipo 2. Las características de los estudios se resumen en la Tabla 2 y en la Fig. 4. Las razones de probabilidad de la diabetes tipo 2, que comparan concentraciones bajas de 25(OH)D frente a concentraciones altas, fueron de 1.50 (IC del 95% 1.33 a 1.66, de efecto fijo) y 1.50 (1.33 a 1.67, de efectos aleatorios) (Fig. 4). Otros análisis restringidos a los estudios de la población general o estudios con ajuste completo, no cambiaron considerablemente las estimaciones. Los análisis estratificados de acuerdo al diseño del estudio tampoco alteraron sustancialmente las asociaciones. No hubo pruebas de he-

terogeneidad entre los estudios ($I^2 = 1.4\%$, $P = 0.44$) ni sesgo de publicación (prueba de correlación de rango de Begg, $P = 1.00$ y prueba de regresión de Egger, $P = 0.58$) (consultar Suplemento en línea Fig. S5). El estudio de Anderson *et al* (15), se diferenciaba de los otros estudios con respecto a la población, el seguimiento (promedio de 1.3 años), el ajuste y la comprobación de la diabetes; por lo tanto, el metaanálisis se repitió sin este estudio, lo que dio como resultado un cociente de probabilidad para la diabetes tipo 2 de 1.39 (1.21 a 1.58).

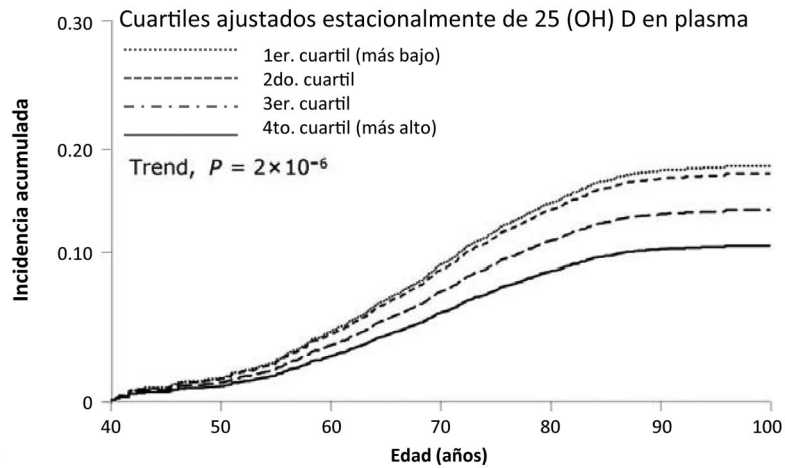
ANÁLISIS

En el estudio más amplio realizado en la población general hasta la fecha se observó un aumento en el riesgo de diabetes tipo 2 ante la disminución en las concentraciones de 25(OH)D en plasma. Estos hallazgos fueron



No. en riesgo

<5 ng/mL	21	100	201	235	137	35	1
5-9.9 ng/mL	102	441	867	1030	596	120	1
10-19.9 ng/mL	260	1038	1894	2476	1471	315	6
≥20 ng/mL	353	1059	1810	2303	1453	306	10

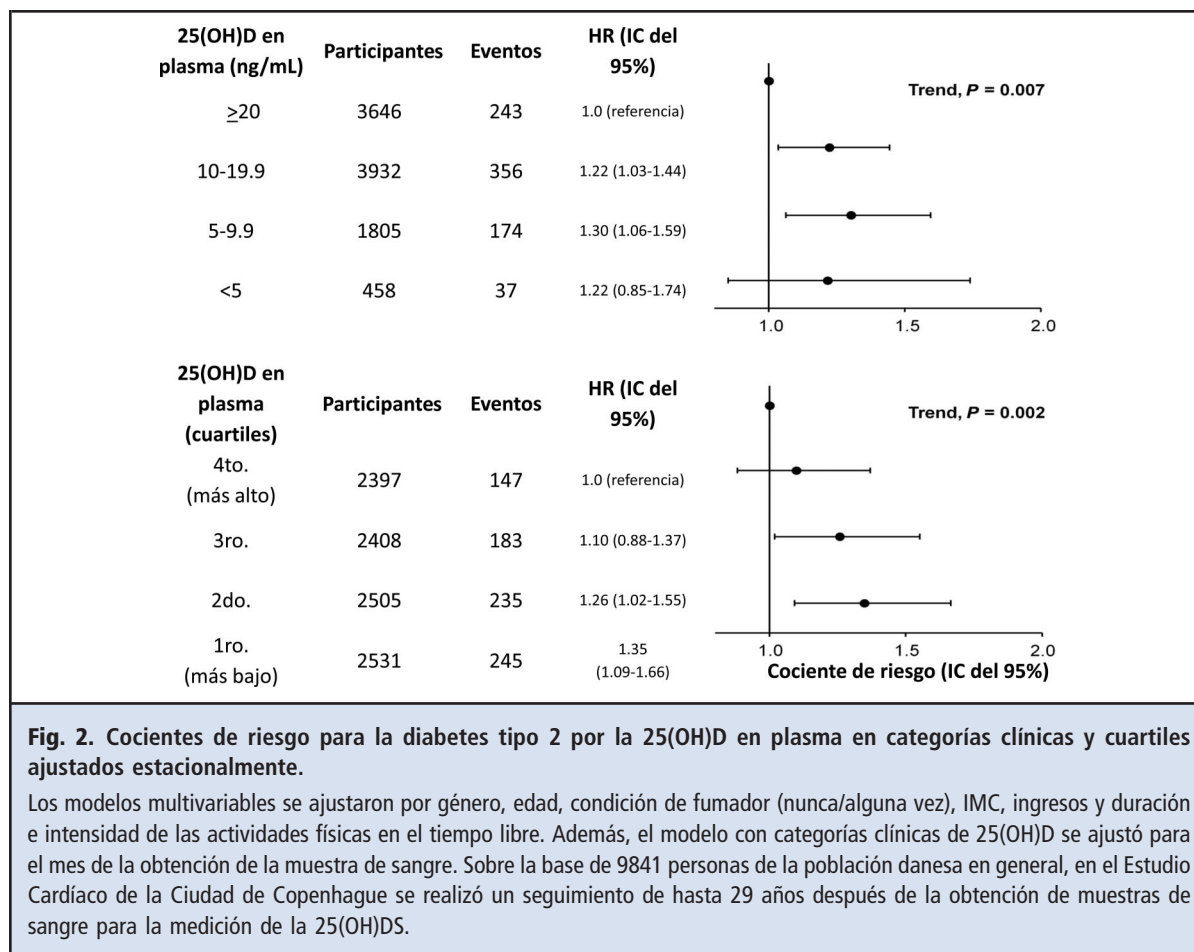


No. en riesgo

1er. cuartil (más bajo)	138	598	1162	1400	803	167	3
2do. cuartil	156	672	1240	1544	903	182	3
3er. cuartil	215	708	1187	1508	916	203	5
4to. cuartil (más alto)	227	658	1155	1537	982	214	7

Fig. 1. Incidencia acumulada de diabetes tipo 2 por la 25(OH)D en plasma en categorías clínicas y cuartiles ajustados estacionalmente.

Se representaron las incidencias acumuladas mediante la regresión de riesgo competitivo de Fine y Gray para el riesgo competitivo de muerte. Sobre la base de 9841 personas de la población danesa en general, en el Estudio Cardíaco de la Ciudad de Copenhague se realizó un seguimiento de hasta 29 años después de la obtención de muestras de sangre para la medición de la 25(OH)D.



confirmados en un metaanálisis de estudios de casos y controles anidados y cohortes prospectivos publicados hasta julio de 2012.

Biológicamente, nuestros resultados parecen lógicos ya que el estado de la vitamina D se ha involucrado en dos procesos esenciales relacionados con la diabetes tipo 2; es decir, la secreción de insulina y la resistencia a la insulina. 1. La evidencia que respalda la función de la vitamina D en la secreción de insulina: el receptor de la vitamina D y la enzima 1- α -hidroxilasa, la enzima que convierte la 25(OH)D en la hormona activa 1,25-dihidroxivitamina D, está presente en las células β (31, 32); algunos estudios in vitro e in vivo demuestran que la supresión del receptor de la vitamina D o la deficiencia de vitamina D dañan la secreción de insulina inducida por la glucosa (5, 6, 8, 9, 33); y la respuesta secretora de insulina mejora después de la suplementación con vitamina D tanto en animales como en seres humanos (5, 6, 8, 9, 34) (2). Evidencia que respalda la función de la vitamina D en la sensibilidad a la insulina: el receptor de la vitamina D está presente en las células del músculo esquelético (35), la vitamina D estimula la

expresión del receptor de insulina y el transporte de glucosa inducido por la insulina in vitro (36, 37); la vitamina D regula de forma directa las vías implicadas en la regulación del metabolismo de los ácidos grasos en el músculo esquelético y el tejido adiposo (38); y las bajas concentraciones de vitamina D están asociadas con la deficiencia en la sensibilidad a la insulina, mientras que la sustitución con la vitamina D en el estado de deficiencia mejora la sensibilidad a la insulina (2) a (4, 9, 39). Sin embargo, varios estudios aleatorios también han demostrado resultados contrapuestos sin mejoras en la secreción de insulina o sensibilidad a la insulina después de la suplementación con vitamina D (10).

Nuestro metaanálisis demuestra que las bajas concentraciones de 25(OH)D están estrechamente asociadas con un mayor riesgo de diabetes tipo 2 independientemente de la población y el nivel de ajuste o diseño del estudio. La estimación del presente metaanálisis es comparable con otros metaanálisis previos con menos estudios y sin incluir el presente (10, 16). Curiosamente, no hubo señales de heterogeneidad estadística o de sesgo de publicaciones en nuestro

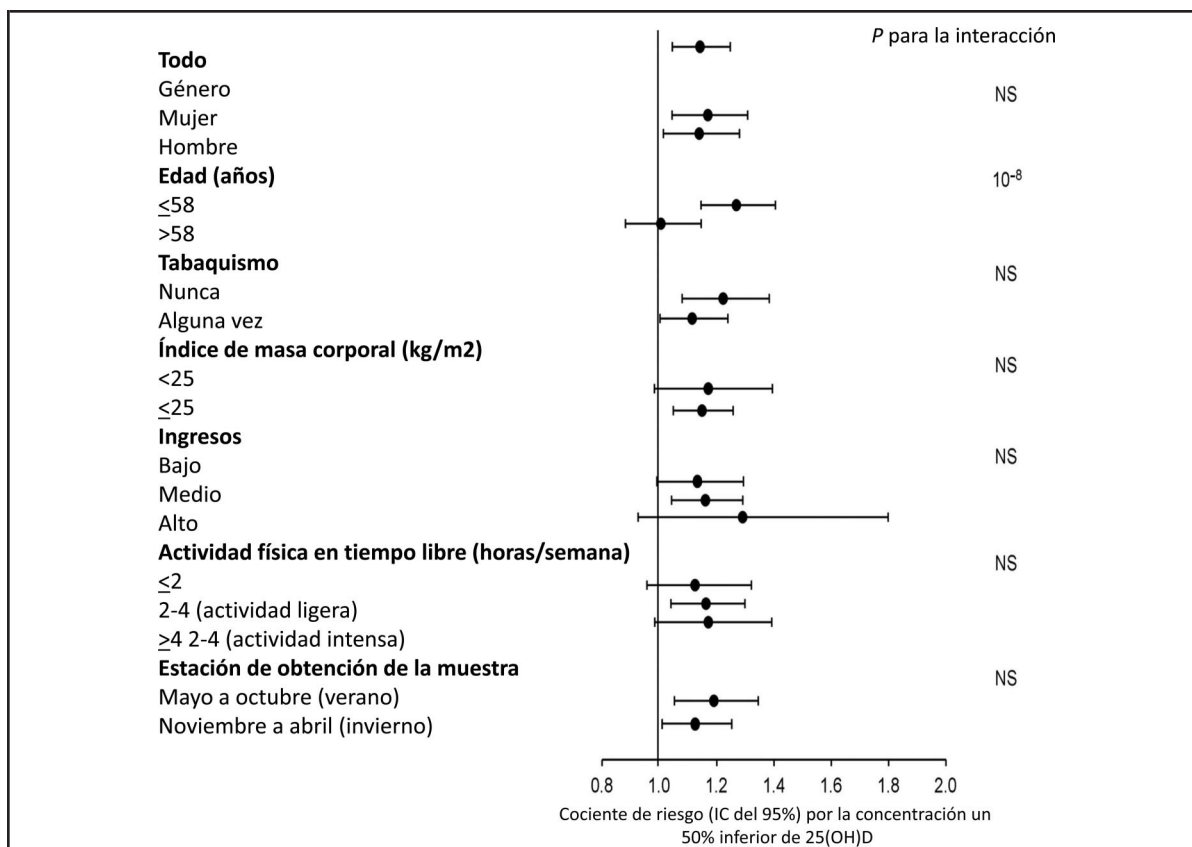


Fig. 3. Cocientes de riesgo para la diabetes tipo 2 en una concentración del 50% inferior de 25(OH)D en plasma en general y en estratos.

Los análisis se ajustaron por género, edad, condición de fumador (nunca/alguna vez), el IMC, ingresos y duración e intensidad de las actividades físicas en el tiempo libre (excepto el estratificado). La edad y el IMC se clasificaron mediante el uso del promedio aproximado. Sobre la base de 9841 personas de la población danesa en general, en el Estudio Cardíaco de la Ciudad de Copenhague se realizó un seguimiento de hasta 29 años después de la obtención de muestras de sangre para la medición de la 25(OH)D. NS=no significativo ($P > 1.0$) después de la multiplicación del valor de P por 7, de acuerdo con la corrección de Bonferroni.

Metaanálisis. Los nuevos estudios deben ser de intervención aleatoria o de epidemiología genética diseñados para establecer la causalidad en lugar de la asociación como en el caso del presente estudio.

Una posible limitación es que nuestra cohorte incluye individuos blancos de ascendencia danesa en Dinamarca (55–58° latitud norte) con menor exposición al sol que las zonas más cercanas al Ecuador. En consecuencia, nuestros resultados serían más aplicables a las personas con un color de piel similar y un nivel similar de exposición al sol. El retraso en la medición desde 1981 a 1983 hasta 2009 a 2010 podría suscitar un problema de posible decaimiento de 25(OH)D en plasma, aunque pareciera poco probable que esto haya distorsionado nuestros análisis por varias razones: percibimos la variación estacional prevista de las con-

centraciones de 25(OH)D; las concentraciones promedio de 25(OH)D en plasma en las muestras de plasma de tres exámenes diferentes sobre los mismos participantes sanos con tiempos de almacenamiento de 10, 20 y 30 años fueron similares; estudios previos han demostrado una gran estabilidad durante el almacenamiento (40); la concentración promedio observada en nuestro estudio, de $\mu\text{g/L}$ [41 nmol/L] fue similar a la que se obtuvo en poblaciones comparables (22, 26); y una baja calidad de la muestra para la medición de la 25(OH)D tendería a debilitar una asociación más que alimentarla. Del mismo modo, los diagnósticos se obtuvieron a partir de informes de participantes, alta hospitalaria y los registros de defunción, lo que relegó los diagnósticos realizados por el médico general aisladamente y condujo a la falta de aporte de información por

Tabla 2. Estudios prospectivos y de observación de la asociación entre la 25(OH)D en plasma y el riesgo de diabetes tipo 2.^a

Referencia	Año	% Mujeres	Edad promedio, años	Promedio de IMC, kg/m ²	% de blancos	Ajuste, (0-6) ^b	Diseño	Ajuste de población	Diagnóstico
Fourouhi <i>et al.</i> (16)	2008	58	64	SD ^c	99	6	Cohorte	Procedimiento general de población	PTOG
Pilz <i>et al.</i> (23)	2012	61	68	27	SD	5	Cohorte	(De mediana edad) general	PTOG, glucosa en ayunas, hemoglobina glicosilada
Knekt <i>et al.</i> (22)	2008	54	SD	SD	100	6	Casos y controles anidados	General	Tratamiento con medicación, basada en el registro
González Molero <i>et al.</i> (18)	2012	57	50	SD	SD	6	Cohorte	General	PTOG, hemoglobina glicosilada
Grimnes <i>et al.</i> (fumadores únicamente) (19)	2010	60	57	24.7	100	6	Cohorte	General	Cuestionario, PTOG, hemoglobina glicosilada, glucosa, basada en el registro
Hurskainen <i>et al.</i> (20)	2012	54	63	27.8	SD	6	Cohorte	(De mediana edad) general	PTOG, glucosa en ayunas, tratamiento con medicación
Thorand <i>et al.</i> (26)	2011	47	52	27.1	SD	6	Casos y cohorte	General	Cuestionario validado
Pittas <i>et al.</i> (24)	2010	100	56	27.8	98	6	Casos y controles anidados	Enfermeras mujeres de EE. UU.	Cuestionario validado
Fourouhi <i>et al.</i> (16)	2012	58	58	26.0	99	6	Casos y cohorte	Práctica de la población general	Informe de participantes en relación con registros de fallecimientos, generales y del hospital
Deleskog <i>et al.</i> (27)	2012	40	48	26.3	SD	5	Casos y controles anidados	Aumento de población con diabetes familiar	PTOG, glucosa en ayunas
Husemoen <i>et al.</i> (21)	2012	52	46	26	100	6	Cohorte	General	PTOG, glucosa en ayunas, hemoglobina glicosilada, diagnóstico
Gagnon <i>et al.</i> (17)	2011	55	51	26.6	92	5	Cohorte	General	PTOG, glucosa en ayunas, tratamiento con medicación
Grimnes <i>et al.</i> (No fumadores) (19)	2010	62	60	26.3	100	6	Cohorte	General	Cuestionario, PTOG, hemoglobina glicosilada, glucosa, basada en el registro
Robinson <i>et al.</i> (25)	2011	100	66	28.1	90	5	Casos y controles anidados	Mujeres posmenopáusicas	Tratamiento con medicación, informe de participantes
Anderson <i>et al.</i> (15)	2010	75	55	SD	SD	2	Cohorte	Población de atención de salud	Diagnóstico médico
Este estudio ^d	2012	56	56	25.3	100	6	Cohorte	General	Informe de participantes, tratamiento con medicación, glucosa postprandial, basada en el registro

^a Los estudios se clasifican según la Fig. 4, con base en la ponderación de efectos fijos del metaanálisis.

^b Edad, género, época de extracción de sangre, índice de masa corporal, tabaquismo y actividad física.

^c SD, Sin datos; PTOG, Prueba de tolerancia oral a la glucosa.

^d Estudio Cardíaco de la Ciudad de Copenhague.

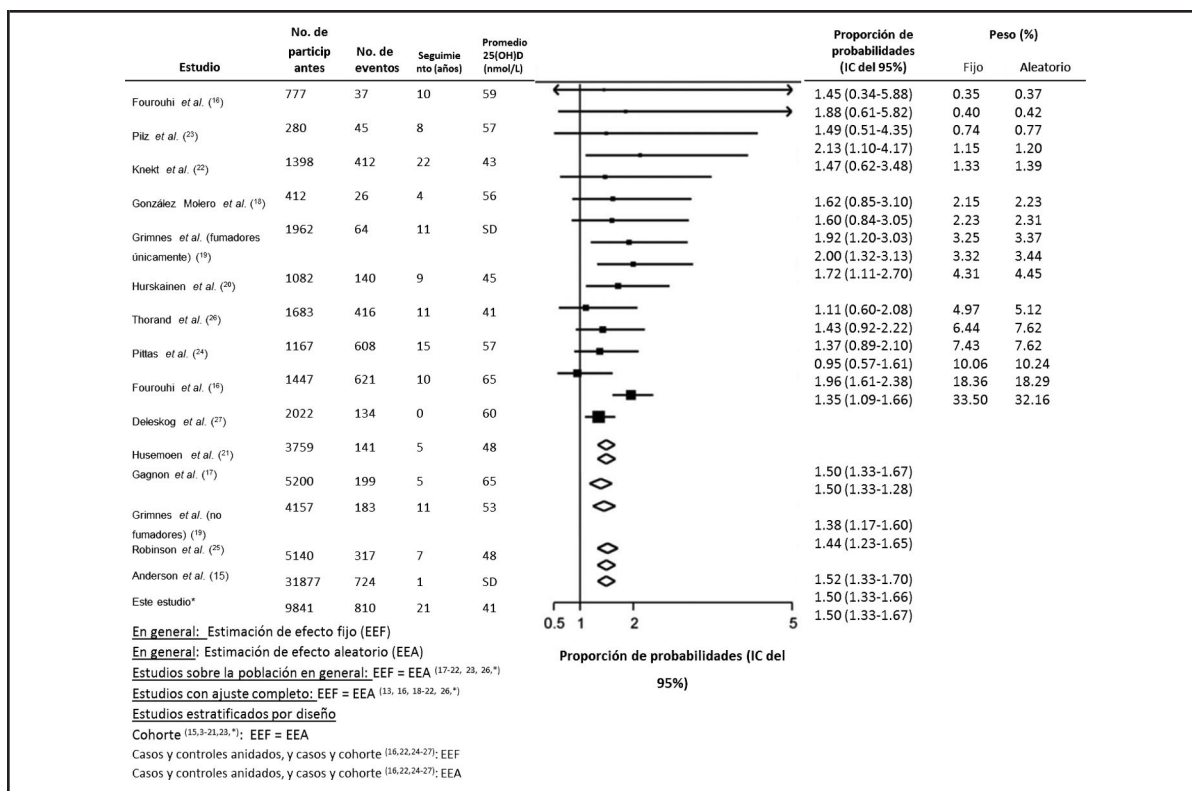


Fig. 4. Metaanálisis de estudios prospectivos de 25(OH)D en plasma y riesgo de diabetes tipo 2.

La categoría de referencia es la categoría más alta de 25(OH)D en cada estudio y las estimaciones de riesgo se comparan con la categoría más baja de 25(OH)D en cada estudio. En el diagrama de bosque, las áreas con cuadrado negro son proporcionales al peso de efectos fijos de los estudios individuales. Los diamantes blancos representan la estimación de resumen y los IC corresponden al ancho de los diamantes. El ajuste completo, incluyó ajuste por edad, género, estación de extracción de sangre, IMC u otras medidas de obesidad, tabaquismo y actividad física. El estudio Knekt incluye tanto la *Finnish Mobile Health Clinic Examination Survey* (Encuesta Finlandesa de Exámenes en Clínica Móvil de Salud) como la *Mini-Finland Health Survey* (Mini Encuesta de Salud de Finlandia). *El Estudio Cardíaco de la Ciudad de Copenhague, el presente estudio. ND=No hay datos.

parte de los participantes. Sin embargo, esta potencial falta de aporte de información solo tendería a debilitar una asociación más que a alimentarla.

Nuestro estudio tiene varias fortalezas: nuestra población era homogénea, tuvimos hasta 29 años de seguimiento sin ninguna interrupción en el mismo, pudimos tener en cuenta otros factores de riesgo principales asociados al riesgo de diabetes tipo 2 y tuvimos el mayor poder estadístico hasta la fecha para examinar las asociaciones de bajas concentraciones de 25(OH)D en plasma y el riesgo de diabetes tipo 2. Por otra parte, en el norte de Europa, la radiación UV-B del sol es adecuada para una producción endógena suficiente de vitamina D en la piel solo durante los meses de verano y la comida nunca ha sido fortificada con vitamina D en Dinamarca. Por lo tanto, esta cohorte de la población general danesa permite la determinación de la historia

natural de la asociación de la deficiencia de la vitamina D con el riesgo de la diabetes tipo 2.

Las aplicaciones clínicas de este estudio deben considerarse con cautela ya que se trata de un estudio de observación. Se necesitan ensayos de intervención aleatoria antes de poder realizar la recomendación de la suplementación con vitamina D para la prevención de la diabetes.

En conclusión, se observó una asociación entre la baja concentración de 25(OH)D en plasma y un mayor riesgo de diabetes tipo 2 en la población general y esta conclusión se fundamenta en un metaanálisis.

Contribuciones de los autores: Todos los autores confirmaron su contribución al contenido intelectual de este documento y el cumplimiento de los siguientes 3 requisitos: (a) contribuciones significativas a la con-

cepción y el diseño, adquisición de datos o análisis e interpretación de estos; (b) redacción o revisión del contenido intelectual del artículo; y (c) aprobación final del artículo publicado.

Divulgaciones de los autores o posibles conflictos de interés: Tras la presentación del manuscrito, todos los autores completaron el formulario de divulgación del autor. Divulgaciones o posibles conflictos de interés:

Empleo o liderazgo: No se declara.

Papel del asesor o consultor: No se declara.

Poseción de acciones: No se declara.

Honorarios: No se declaran.

Financiamiento de la investigación: La Fundación Danesa de Corazón, el Hospital Herlev y el Hospital Universitario de Copenhague. DiaSorin Laison proporcionó kits de medición de 25(OH)D.

Testimonio de expertos: No se declara.

Papel del patrocinador: Las organizaciones patrocinadoras no desempeñaron ningún papel en el diseño del estudio, la elección de pacientes inscriptos, la revisión e interpretación de los datos ni en la preparación o aprobación del manuscrito.

Referencias

- Stumvoll M, Goldstein BJ, van Heften TW. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy (La diabetes tipo 2: Principios de la patogénesis y el tratamiento). *Lancet* 2005;365:1333–46.
- Chiu KC, Chu A, Go VLW, Saad MF. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction (La hipovitaminosis D se asocia con la resistencia a la insulina y la disfunción de las células beta). *Am J Clin Nutr* 2004;79:820–5.
- Forouhi NG, Luan J, Cooper A, Boucher BJ, Wareham NJ. Baseline serum 25-hydroxy vitamin D is predictive of future glycaemic status and insulin resistance: the Medical Research Council Ely Prospective Study 1990–2000 (El valor de referencia de la 25-hidroxi vitamina D en suero es un factor predictivo del estado glucémico futuro y la resistencia a la insulina: estudio prospectivo del Consejo Médico de Investigación Ely 1990–2000). *Diabetes* 2008;57:2619–25.
- Kayaniyl S, Retnakaran R, Harris SB, Vieth R, Knight JA, Gerstein HC, et al. Prospective associations of vitamin D with beta-cell function and glycemia: the PROspective Metabolism and ISlet cell Evaluation (PROMISE) cohort study [Posibles asociaciones de la vitamina D con la función de células beta y la glucemia: estudio de cohortes de metabolismo prospectivo y evaluación de las células de los islotes (PROMISE)]. *Diabetes* 2011;60:2947–53.
- Gedik O, Akalin S. Effects of vitamin D deficiency and repletion on insulin and glucagon secretion in man (Efectos de la deficiencia de vitamina D y la reposición de insulina y secreción de glucagón en el hombre). *Diabetología* 1986;29:142–5.
- Cade C, Norman AW. Vitamin D3 improves impaired glucose tolerance and insulin secretion in the vitamin D-deficient rat in vivo (La vitamina D3 mejora la intolerancia a la glucosa y la secreción de insulina en ratas con deficiencia de vitamina D in vivo). *Endocrinology* 1986;119:84–90.
- Chertow BS, Sivitz WI, Baranetsky NG, Clark SA, Waite A, Deluca HF. Cellular mechanisms of insulin release: the effects of vitamin D deficiency and repletion on rat insulin secretion (Mecanismos celulares de liberación de insulina: los efectos de la deficiencia de vitamina D y la reposición de la secreción de insulina de rata). *Endocrinology* 1983;113:1511–8.
- Norman AW, Frankel JB, Heldt AM, Grodsky GM. Vitamin D deficiency inhibits pancreatic secretion of insulin (La deficiencia de vitamina D inhibe la secreción pancreática de insulina). *Science* 1980;209:823–5.
- Boucher BJ, Mannan N, Noonan K, Hales CN, Evans SJ. Glucose intolerance and impairment of insulin secretion in relation to vitamin D deficiency in east London Asians (Intolerancia a la glucosa y alteración de la secreción de insulina en relación con la deficiencia de vitamina D en los asiáticos del este de Londres). *Diabetologia* 1995;38:1239–45.
- Mitri J, Muraru MD, Pittas AG. Vitamin D and type 2 diabetes: a systematic review (La vitamina D y la diabetes tipo 2: una revisión sistemática). *Eur J Clin Nutr* 2011;65:1005–15.
- Schnohr P, Jensen JS, Scharling H, Nordestgaard BG. Coronary heart disease risk factors ranked by importance for the individual and community: a 21 year follow-up of 12 000 men and women from the Copenhagen City Heart Study (Factores de riesgo de cardiopatías clasificados en orden de importancia para el individuo y la comunidad: seguimiento de 21 años de 12 000 hombres y mujeres del Centro de Estudios del Corazón de la Ciudad de Copenhague). *Eur Heart J* 2002;23:620–6.
- Ersfeld DL, Rao DS, Body JJ, Sackrisson JL Jr, Miller AB, Parikh N, et al. Analytical and clinical validation of the 25 OH vitamin D assay for the LIAISON automated analyzer (Validación analítica y clínica del ensayo de 25 OH vitamina D para el analizador automatizado LIAISON). *Clin Biochem* 2004;37:867–74.
- 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 (Evaluación, tratamiento y prevención de la deficiencia de vitamina D: una guía de práctica clínica de la Sociedad de Endocrinología). *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:1911–30.
- Fine JP, Gray RJ. A proportional hazards model for the sub distribution of a competing risk (Un modelo de riesgos proporcionales para la sub distribución de un riesgo competitivo). *J Am Stat Assoc* 1999;94:496–509.
- Anderson JL, May HT, Horne BD, Bair TL, Hall NL, Carlquist JF, et al. Relation of vitamin D deficiency to cardiovascular risk factors, disease status, and incident events in a general healthcare population (Relación de la deficiencia de vitamina D con los factores de riesgo cardiovascular, estado de la enfermedad y eventos incidentales en una población médica general). *Am J Cardiol* 2010;106:963–8.
- Forouhi NG, Ye Z, Rickard AP, Khaw KT, Luben R, Langenberg C, Wareham NJ. Circulating 25-hydroxyvitamin D concentration and the risk of type 2 diabetes: results from the European Prospective Investigation into Cancer (EPIC)-Norfolk cohort and updated meta-analysis of prospective studies [Concentración circulante de 25-hidroxivitamina D y riesgo de diabetes tipo 2: resultados del metaanálisis de cohortes y actualización de estudios prospectivos de la Investigación Prospectiva Europea sobre Cáncer (EPIC)-Norfolk]. *Diabetologia* 2012;55:2173–82.
- Gagnon C, Lu ZX, Magliano DJ, Dunstan DW, Shaw JE, Zimmet PZ, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D, calcium intake, and risk of type 2 diabetes after 5 years: results from a national, population-based prospective study (the Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle study) [25-hidroxivitamina D en suero, consumo de calcio y riesgo de diabetes tipo 2 después de 5 años: resultados de un estudio prospectivo nacional basado en la población (el estudio de Diabetes, Obesidad y Estilo de Vida Australiano)]. *Diabetes Care* 2011;34:1133–8.
- González-Molero I, Rojo-Martínez G, Morcillo S, Gutiérrez-Repiso C, Rubio-Martín E, Almaraz MC, et al. Vitamin D and incidence of diabetes: a prospective cohort study (La vitamina D y la incidencia de la diabetes: un estudio de cohortes prospectivo). *Clin Nutr* 2012;31:571–3.
- Grimmes G, Emaus N, Joakimsen RM, Figenschau Y, Jenssen T, Njolstad I, et al. Baseline serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in the Tromsø Study 1994–95 and risk of developing type 2 diabetes mellitus during 11 years of follow-up (El valor de referencia de la 25-hidroxi vitamina D en suero en el estudio de Tromsø 1994–95 y el riesgo de presentar diabetes mellitus tipo 2 durante 11 años de seguimiento). *Diabet Med* 2010;27:1107–15.
- Hurskainen AR, Virtanen JK, Tuomainen TP, Nurmi T, Voutilainen S. Association of serum 25-hydroxyvitamin D with type 2 diabetes and markers of insulin resistance in a general older population in Finland (Asociación de 25-hidroxivitamina D en suero con la diabetes tipo 2 y los marcadores de resistencia a la insulina en una población general de edad avanzada en Finlandia). *Diabetes Metab Res Rev* 2012;28:418–23.
- Husemoen LL, Thuesen BH, Fenger M, Jørgensen T, Glümer C, Svendsen J, et al. Serum 25(OH)D and type 2 diabetes association in a general population (Asociación entre la 25(OH)D en suero y la diabetes tipo 2, en una población general). *Diabetes Care* 2012;35:1695–700.
- Knekt P, Laaksonen M, Mattila C, Harkanen T, Marniemi J, Heliovaara M, et al. Serum vitamin D and subsequent occurrence of type 2 diabetes

- (Vitamina D en suero y posterior aparición de la diabetes tipo 2). *Epidemiology* 2008;19:666–71.
23. Pilz S, van den Hurk K, Nijpels G, Stehouwer CD, Van't Riet E, Kienreich K, et al. Vitamin D status, incident diabetes and prospective changes in glucose metabolism in older subjects: the Hoorn study (Estado de la vitamina D, diabetes incidental y futuros cambios en el metabolismo de la glucosa en individuos mayores: el estudio Hoorn). *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2012;22:883–9.
 24. Pittas AG, Sun Q, Manson JE, Dawson-Hughes B, Hu FB. Plasma 25-hydroxyvitamin D concentration and risk of incident type 2 diabetes in women (Concentración de 25-hidroxivitamina D en plasma y riesgo de diabetes tipo 2 incidental en las mujeres). *Diabetes Care* 2010;33:2021–3.
 25. Robinson JG, Manson JE, Larson J, Liu S, Song Y, Howard BV, et al. Lack of association between 25(OH)D levels and incident type 2 diabetes in older women. (Falta de asociación entre los niveles de 25(OH)D y la diabetes tipo 2 incidental en las mujeres mayores). *Diabetes Care* 2011;34:628–34.
 26. Thorand B, Zierer A, Huth C, Linseisen J, Meisinger C, Roden M, et al. Effect of serum 25-hydroxyvitamin D on risk for type 2 diabetes may be partially mediated by subclinical inflammation: results from the MONICA/KORA Augsburg study (El efecto de la 25-hidroxivitamina D en suero en el riesgo de diabetes tipo 2 puede ser parcialmente mediado por la inflamación subclínica: resultados del estudio MONICA/KORA Augsburg). *Diabetes Care* 2011;34:2320–2.
 27. Deleskog A, Hilding A, Brismar K, Hamsten A, Efendic S, Ostenson CG. Low serum 25-hydroxyvitamin D level predicts progression to type 2 diabetes in individuals with prediabetes but not with normal glucose tolerance (Los niveles bajos de 25-hidroxivitamina D en suero predicen la progresión a la diabetes tipo 2 en individuos con prediabetes, pero no con tolerancia normal a la glucosa). *Diabetologia* 2012;55:1668–78.
 28. Danesh J. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies (Asociación de fibrinógeno, proteína C reactiva, albúmina o recuento de leucocitos con cardiopatía: metaanálisis de estudios prospectivos). *JAMA* 1998;279:1477–82.
 29. DerSimonian R, Laird N. Meta-analysis in clinical trials (Metaanálisis de ensayos clínicos). *Control Clin Trials* 1986;7:177–88.
 30. Higgins JP, Thompson SG. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis (Cuantificación de la heterogeneidad en un meta-análisis). *Stat Med* 2002;21:1539–58.
 31. Johnson JA, Grande JP, Roche PC, Kumar R. Immunohistochemical localization of the 1,25(OH)2D3 receptor and calbindin D28k in human and rat pancreas (Localización inmunohistoquímica del receptor de 1.25 (OH) 2D3 y la calbindina-D28k en páncreas humano y de rata). *Am J Physiol* 1994;267:E356–60.
 32. Bland R, Markovic D, Hills CE, Hughes SV, Chan SL, Squires PE, Hewison M. Expression of 25-hydroxyvitamin D3-1 α -hydroxylase in pancreatic islets (La expresión de la 25-hidroxivitamina D3-1 alfa-hidroxilasa en los islotes pancreáticos). *J Steroid Biochem Mol Biol* 2004;89–90:121–5.
 33. Zeitz U, Weber K, Soegiarto DW, Wolf E, Balling R, Erben RG. Impaired insulin secretory capacity in mice lacking a functional vitamin D receptor (Deterioro de la capacidad secretora de insulina en ratones que carecen de un receptor de la vitamina D funcional). *FASEB J* 2003;17:509–11.
 34. Mitri J, Dawson-Hughes B, Hu FB, Pittas AG. Effects of vitamin D and calcium supplementation on pancreatic beta cell function, insulin sensitivity, and glycemia in adults at high risk of diabetes: the Calcium and Vitamin D for Diabetes Mellitus (CaDDM) randomized controlled trial [Efectos de la suplementación de vitamina D y calcio en la función de las células beta pancreáticas, sensibilidad a la insulina y glucemia en adultos con alto riesgo de diabetes: ensayo controlado aleatorio del calcio y la vitamina D en la Diabetes Mellitus (CaDDM)]. *Am J Clin Nutr* 2011;94:486–94.
 35. Simpson RU, Thomas GA, Arnold AJ. Identification of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors and activities in muscle (Identificación de los receptores de la 1,25-dihidroxivitamina D3 y actividades en el músculo). *J Biol Chem* 1985;260:8882–91.
 36. Maestro B, Campion J, Davila N, Calle C. Stimulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3 of insulin receptor expression and insulin responsiveness for glucose transport in U-937 human promonocytic cells (Estimulación mediante la 1,25-dihidroxivitamina D3 de la expresión del receptor de insulina y respuesta de la insulina para el transporte de glucosa en células U-937 humanas promonocíticas). *Endocr J* 2000;47:383–91.
 37. Maestro B, Davila N, Carranza MC, Calle C. Identification of a Vitamin D response element in the human insulin receptor gene promoter (Identificación de un elemento de respuesta a la vitamina D en el promotor del gen receptor de la insulina humana). *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003;84:223–30.
 38. Dunlop TW, Vaisanen S, Frank C, Molnar F, Sinkkonen L, Carlberg C. The human peroxisome proliferator-activated receptor delta gene is a primary target of 1 α 25-dihydroxyvitamin D3 and its nuclear receptor (El gen delta receptor activado por proliferador de peroxisoma humano es un objetivo primario de 1 alfa 25-dihidroxivitamina D3 y su receptor nuclear). *J Mol Biol* 2005;349:248–60.
 39. Nagpal J, Pande JN, Bhartia A. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of the short-term effect of vitamin D(3) supplementation on insulin sensitivity in apparently healthy, middle-aged, centrally obese men (Un estudio doble ciego, aleatorio, controlado con placebo del efecto a corto plazo de la suplementación con vitamina D (3) sobre la sensibilidad a la insulina en hombres aparentemente sanos, de mediana edad y obesos). *Diabet Med* 2009;26:19–27.
 40. Ocke MC, Schrijver J, Obermann-de Boer GL, Bloemberg BP, Haenen GR, Kromhout D. Stability of blood (pro) vitamins during four years of storage at –20 degrees C: consequences for epidemiologic research (Estabilidad de las provitaminas de la sangre durante cuatro años de almacenamiento a –20 grados C: consecuencias para la investigación epidemiológica). *J Clin Epidemiol* 1995;48:1077–85.