

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN



**NIVELES PLASMÁTICOS DE VITAMINA D Y SÍNDROME METABÓLICO
EN MUJERES DE 40 A 60 AÑOS**

Por:

LN. ANA PAULA ROMO URIBE

Como requisito parcial para obtener el Grado de

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN

Julio, 2023

APROBACIÓN DE TESIS DE MAESTRÍA

NIVELES PLASMÁTICOS DE VITAMINA D Y SÍNDROME METABÓLICO EN MUJERES DE 40 A 60 AÑOS

Dra. Alexandra Tijerina Sáez

Presidente

MCN. Abad Arturo López Hernández

Secretario

Dra. Aurora de Jesús Garza Juárez

Vocal

Dra. Blanca Edelia González Martínez

Subdirectora de Investigación, Innovación y Posgrado

COMITÉ DE EVALUACIÓN DE TESIS

El Comité de Evaluación de Tesis **APROBÓ** la tesis titulada “**NIVELES PLASMÁTICOS DE VITAMINA D Y SÍNDROME METABÓLICO EN MUJERES DE 40 A 60 AÑOS**” presentada por la LN. Ana Paula Romo Uribe, con la finalidad de obtener el grado de Maestría en Ciencias en Nutrición.

MCN. Abad Arturo López Hernández

Presidente

Dra. Alexandra Tijerina Sáenz

Secretario

Dra. Aurora de Jesús Garza Juárez

Vocal



FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN

DRA. BLANCA EDELIA GONZALEZ MARTINEZ
SUBDIRECTORA DE INVESTIGACION, INNOVACION Y POSGRADO
FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN

Con atención a:

MSP. NOHEMI LILIANA NEGRETE LÓPEZ
SECRETARIA ACADÉMICA DE POSGRADO

PRESENTE.-

Me permito comunicar a ustedes que he concluido la dirección de la Tesis titulada **“NIVELES PLASMATICOS DE VITAMINA D Y SINDROME METABOLICO EN MUJERES DE 40 A 60 AÑOS”**, realizada por **L.N. Ana Paula Romo Uribe**, con registro: **21-FaSPyN-SA-19.TP**.

La tesis presentada, para obtener el grado de Maestría en Ciencias en Nutrición, está en condiciones para su revisión por el Comité de Evaluación de Tesis, que además incluiría a los siguientes investigadores:

MCN. Abad Arturo López Hernández, asesor interno
Dra. Aurora de Jesús Garza Juárez, asesora externa

Agradezco de antemano la atención a la presente, reciba saludos cordiales.

ATENTAMENTE

“Alere Flammam Veritatis”

Monterrey, N.L. a 28 de marzo de 2023

DRA. ALEXANDRA TIJERINA SAENZ
DIRECTORA DE TESIS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Av. Dr. Eduardo Aguirre Pequeño y Yuriria, Col. Mitras Centro, Monterrey, Nuevo León, México, C.P. 64460

81 1340 4890 • www.faspyn.uanl.mx

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi directora de tesis, la Dra. Alexandra Tijerina Sáenz, por haberme permitido trabajar con ella, por confiar en mí y apoyar desde un inicio esta investigación. Gracias por orientarme y motivarme siempre que lo necesité.

Al MCN. Abad Arturo López Hernández, por haberme permitido trabajar en el Laboratorio de Alimentos, por haberme apoyado en el trabajo experimental y corregido mis errores, por haberme tenido mucha paciencia, pero sobre todo por enseñarme la pasión sobre la ciencia.

A la Dra. Elizabeth Solís Pérez, por su contribución en parte del financiamiento de esta investigación.

A las Dras. Aurora de Jesús Garza Juárez y Norma Cavazos Rocha, por haberme orientado durante mi validación del método cromatográfico.

A la Dra. Ana Laura Isabel de la Garza Hernández, por haberme abierto las puertas de la Unidad de Nutrición del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud y permitirme concluir mi análisis experimental.

Al Dr. Adbel Zaid Martínez Báez y a la QCB. Irasema Guadalupe Medina Lozano, por su cooperación en la toma de muestras de sangre. Gracias a todos aquellos que fueron mis voluntarios.

Gracias especialmente a mis padres, quienes me permitieron estudiar un posgrado, me brindaron mucho apoyo moral, me motivaron a superarme y a crecer profesionalmente.

Agradezco a la Facultad de Salud Pública y Nutrición por haberme aceptado en este programa académico y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	1
ABSTRACT	3
I. MARCO TEÓRICO	5
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	5
1.2 ANTECEDENTES	6
1.2.1 VITAMINA D	6
1.2.2 VITAMINA D EN MUJERES Y MENOPAUSIA.....	12
1.2.3 VITAMINA D Y ADIPOSIDAD	14
1.2.4 SÍNDROME METABÓLICO	16
1.2.5 RELACIÓN DE LA VITAMINA D Y EL SÍNDROME METABÓLICO	20
1.3 JUSTIFICACIÓN	23
2. HIPÓTESIS.....	24
3. OBJETIVOS.....	24
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	24
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
4. METODOLOGÍA	25
4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO.....	25
4.2 POBLACIÓN DEL ESTUDIO.....	25
4.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN	25
4.4 CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA.....	26
4.5 PROCEDIMIENTO	27
4.6 INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN	29
4.7 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS	32
4.7.1 VALIDACIÓN DE MÉTODO CROMATOGRÁFICO	34
4.7.2 CUANTIFICACIÓN DE VITAMINA D PLASMÁTICA.....	36
4.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	40
5. CONSIDERACIONES ÉTICAS Y DE BIOSEGURIDAD	41
6. RESULTADOS	42
6.1 <i>Validar un método de cromatografía líquida de alta resolución para cuantificar los niveles plasmáticos de 25-hidroxivitamina D3</i>	42
6.2 <i>Comparar la ausencia y presencia del síndrome metabólico y las características descriptivas en mujeres de 40 a 60 años</i>	47

6.3 <i>Analizar asociaciones de los niveles de vitamina D en plasma en mujeres de 40 a 60 años con presencia y ausencia del síndrome metabólico</i>	51
7. DISCUSIÓN.....	54
7.1 VALIDACIÓN DEL MÉTODO CROMATOGRÁFICO	54
7.2 NIVELES PLASMÁTICOS DE VITAMINA D Y SÍNDROME METABÓLICO	56
8. CONCLUSIÓN.....	60
9. REFERENCIAS	61
10. ANEXOS.....	75

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
I.	Contenido de vitamina D en alimentos	7
II.	Ingesta de vitamina D en mujeres adultas con registro dietético	8
III.	Valores de referencia de los niveles séricos de la vitamina D	10
IV.	Componentes del síndrome metabólico	17
V.	Determinación de porcentajes de recuperación	37
VI.	Corridas con acetonitrilo puro	43
VII.	Resultados de prueba de precisión	44
VIII.	Resultados de prueba de robustez	44
IX.	Condiciones en prueba de robustez	45
X.	Resultados de prueba de exactitud	45
XI.	Parámetros descriptivos del SM en las mujeres de 40 a 60 años	48
XII.	Ingesta dietética de vitamina D y niveles plasmáticos de 25OHD3	48
XIII.	Análisis de ingesta dietética de vitamina D	49
XIV.	Etapa perimenopáusica	49
XV.	Asociación de niveles plasmáticos de vitamina D y la temporalidad de la extracción sanguínea	50
XVI.	Vitamina D plasmática y parámetros del síndrome metabólico	52
XVII.	Factores analizados en Regresión Logística Binaria	53

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Metabolismo de vitamina D	6
2.	Esquema general de procedimiento	28
3.	Preparación de la solución estándar, soluciones stock y diluciones de trabajo de 25OHD3	33
4.	Toma de muestra voluntaria #1	36
5.	Toma de muestra voluntaria #2	36
6.	Tubos Vacutainer Lila EDTA	36
7.	Muestra en gradilla para microtubos	39
8.	Muestra con solvente	39
9.	Muestra después de agitación	39
10.	Muestra en Centrivap	39
11.	Muestra con ACN + 25OHD3	39
12.	Muestra filtrada	39
13.	HPLC	39
14.	Proceso de cuantificación de vitamina D plasmática	39
15.	Curva de calibración de 25-hidroxicolecalciferol (25OHD3)	42

NOMENCLATURA

AACE	American Association of Clinical Endocrinologist
ACN	Acetonitrilo
ALAD	Asociación Latinoamericana de Diabetes
ATP III	National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III
C	Cucharada
CC	Circunferencia de cintura
CF	Concentración final
CI	Concentración inicial
cm	Centímetros
DMT1	Diabetes mellitus tipo 1
DMT2	Diabetes mellitus tipo 2
ELISA	Enzimoinmunoanálisis de adsorción
ENIDE	Encuesta Nacional de Ingesta Dietética
ETOH	Etanol
FASPYN	Facultad de Salud Pública y Nutrición
FFQ	Cuestionario de Frecuencia Alimentaria
g	Gramos
gr/min	Gramos/minuto
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
HTA	Hipertensión arterial
IDF	International Diabetes Federation
IDR	Ingesta diaria recomendada
IMC	Índice de masa corporal
Kg	Kilogramo
kg/m ² ,	Kilogramo/metro cuadrado
MEOH	Metanol
MetS	Metabolic Syndrome

mg/dL	Miligramo/decilitro
mmHg	Milímetros de mercurio
µg	Microgramos
µL	Microlitros
µm	Micrómetros
ng/mL	Nanogramos/mililitro
nm	Nanómetros
NOM	Norma Oficial Mexicana
OMS	Organización Mundial de la Salud
SSA	Secretaría de Salud
STRAW	Stages of Reproductive Aging Workshop
UI	Unidad internacional
VF	Volumen final
VI	Volumen inicial
°C	Grados centígrados
25OHD3	25-Hidroxivitamina D3

RESUMEN

Introducción: La etiología exacta del síndrome metabólico (SM) no es clara, pero se conoce que una combinación de factores están relacionados con la presencia de esta enfermedad. Se ha reportado que los niveles plasmáticos de vitamina D pudieran tener una relación directa con enfermedades metabólicas y SM; sin embargo, los estudios que demuestran los mecanismos por los cuales la obesidad y otras enfermedades metabólicas están relacionadas con la vitamina D aún no son concluyentes. **Objetivo:** Evaluar los niveles de vitamina D plasmática, con un método validado, y la presencia de síndrome metabólico en mujeres de 40 a 60 años. **Material y métodos:** La muestra consiste en mujeres mexicanas en un rango de edad de 40 a 60 años ($n = 202$) del estado de Nuevo León, México. Fueron consideradas aquellas mujeres que participaron en el macroproyecto “Hábitos alimenticios en mujeres perimenopáusicas”, con expediente completo y con una muestra de plasma disponible. El diagnóstico de SM se realizó con los criterios propuestos por la Federación Internacional de Diabetes (2005) y la cuantificación de vitamina D en plasma se realizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). **Resultados:** Las condiciones cromatográficas para realizar la cuantificación de vitamina D fueron: fase estacionaria con columna C18 Acclaim TM120, fase móvil MeOH:ACN (80:20) con flujo de 1.2 mL/min por 25 minutos, volumen de inyección de 100 μ L y una longitud de onda de 265 nm. Se realizó la curva de calibración de seis puntos, de un rango de 5 a 50 ng/mL de 25OHD3 con un $R^2 = 0.9989$. La precisión fue $<10\%$. El límite de detección fue de 0.769 ng/mL y el de cuantificación 0.789 ng/mL. En el análisis de robustez, se concluyó que las varianzas en temperatura (29°C y 31°C) afectaron significativamente la concentración final de 25OHD3. En el análisis de exactitud, se obtuvo una recuperación del 95%. Las participantes fueron divididas según su etapa de envejecimiento reproductivo (STRAW+10, Stages of Reproductive Aging Workshop) y según la presencia o ausencia de SM (IDF, 2005). De la muestra ($n = 202$), el 63.9% se encontraba en la etapa postmenopáusica, el 14.9% en etapa reproductiva, el 9.9% en transición menopaúsica temprana y el 11.4% en transición menopaúsica

tardía. La prevalencia de SM fue de 59.9% ($n = 121$) y sin SM de 40.1% ($n = 81$). Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre grupos en todos los criterios diagnósticos del SM. La mediana de la ingesta dietética de vitamina D en ambos grupos fue deficiente (194.0 UI/día sin SM vs. 120.3 UI/día con SM) ($p = 0.010$). De igual manera, la mediana de la concentración plasmática de vitamina D en ambos grupos se reportó en deficiencia (17.2 ng/mL sin SM vs. 9.0 ng/mL con SM) ($p = 0.003$). **Conclusiones:** El método propuesto cumplió con los criterios establecidos y por lo tanto es confiable, robusto, preciso y reproducible para la cuantificación de vitamina D plasmática. Se encontró una asociación en la presencia del SM y los niveles plasmáticos de vitamina D en las mujeres ($p = 0.023$).

ABSTRACT

Introduction: The exact etiology of metabolic syndrome (MetS) is not clear, but it is known that a combination of factors are related to the presence of this disease. It has been reported that the plasmatic levels of vitamin D could have a direct relationship with metabolic diseases and MetS; however, studies demonstrating the mechanisms by which obesity and other metabolic diseases are related to vitamin D are still inconclusive. **Objective:** Evaluate plasmatic vitamin D levels with a validated method and the presence of metabolic syndrome in women between 40 and 60 years of age. **Material and methods:** The sample consists of Mexican women in the age range of 40 to 60 years ($n = 202$) from the state of Nuevo León, Mexico. Those women who participated in the macro-project "Eating habits in perimenopausal women" with a complete file and a plasma sample available were considered. The diagnosis of MetS was made with the criteria proposed by the International Diabetes Federation (2005) and the quantification of vitamin D in plasma was performed by high performance liquid chromatography (HPLC). **Results:** The chromatographic conditions to perform the quantification of vitamin D were: stationary phase with C18 Acclaim TM120 column, mobile phase MeOH: ACN (80:20) with a flow of 1.2 mL/min for 25 minutes, injection volume of 100 μ L and a wavelength of 265 nm. The six-point calibration curve was performed, from a range of 5 to 50 ng/mL of 25OHD3 with an $R^2 = 0.9989$. The precision was $<10\%$. The detection limit was 0.769 ng/mL and the quantification limit 0.789 ng/mL. In the robustness analysis, it was concluded that the variances in temperature (29°C and 31°C) significantly affected the final concentration of 25OHD3. In the accuracy analysis, a recovery of 95% was obtained. The participants were divided according to their stage of reproductive aging (STRAW+10, Stages of Reproductive Aging Workshop) and according to the presence or absence of MetS (IDF, 2005). Of the sample ($n = 202$), 63.9% were in the postmenopausal stage, 14.9% in the reproductive stage, 9.9% in early menopausal transition, and 11.4% in late menopausal transition. The prevalence of MetS was 59.9% ($n = 121$) and without MetS 40.1% ($n = 81$). Significant differences ($p < 0.05$) were found between groups in all diagnostic criteria for MetS. The median

dietary intake of vitamin D in both groups was deficient (194.0 IU/day without MetS vs. 120.3 IU/day with MetS) ($p = 0.010$). Similarly, the median plasma vitamin D concentration in both groups was reported to be deficient (17.2 ng/mL without MetS vs. 9.0 ng/mL with MetS) ($p = 0.003$). **Conclusions:** The proposed method achieved the established criteria and is therefore reliable, robust, precise, and reproducible for the quantification of plasmatic vitamin D. An association was found between the presence of MetS and plasma levels of vitamin D in women ($p = 0.023$).

I. MARCO TEÓRICO

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El síndrome metabólico es una enfermedad que se considera para México, un problema de salud pública, debido a que se ha reportado que existe una prevalencia de un 60.5% en los adultos mexicanos y en específico en las mujeres con el 63.2%. Así como también, en comparación con el año 2006 a 2016 existió un incremento de 15.3% en la población adulta, según los Datos de las Encuestas Nacionales de Salud y Nutrición (Campos *et al.*, 2020).

Existen diferentes factores para desarrollar esta patología, como el sedentarismo, la diversidad de la dieta, la ingesta de alcohol, el hábito de fumar, la duración del sueño, entre otros. A la vez, una combinación entre un aumento en la ingesta energética junto con una disminución del gasto energético favorece la ganancia de peso y de tejido adiposo; esta ganancia de peso corporal se asocia con un aumento de grasa visceral que facilita el desarrollo de la resistencia a la insulina, diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial y dislipidemias y en conjunto, a la presencia de síndrome metabólico (Pavón *et al.*, 2006; Campos *et al.*, 2020).

En las mujeres adultas, se ha demostrado que el aumento de peso y grasa corporal durante la menopausia favorece a la presencia de enfermedades cardiovasculares y síndrome metabólico, ya que la prevalencia de presentar síndrome metabólico en la postmenopausia se estima que es alrededor del 35% (Tabares *et al.*, 2012).

En la actualidad, no se conoce cuáles son las causas del síndrome metabólico, sin embargo, se ha propuesto que la hipovitaminosis D podría ser un factor que se asocia (González *et al.*, 2014). La deficiencia de vitamina D sérica se ha relacionado como factor de riesgo en la presencia del síndrome metabólico; sin embargo, no hay suficientes investigaciones observacionales y de intervención, que analicen los niveles deficientes de vitamina D sérica en mujeres adultas mexicanas y la relación directa con el síndrome metabólico (Barberán *et al.*, 2014; Pajuelo *et al.*, 2018).

1.2 ANTECEDENTES

1.2.1 VITAMINA D

La vitamina D es una vitamina liposoluble que actúa como una prohormona en una gran variedad de funciones fisiológicas en el organismo. Su participación más estudiada y evidenciada es la regulación que tiene sobre el metabolismo de calcio y fósforo, manteniendo una homeostasis esquelética (Serrano *et al.*, 2017).

Este nutriente proviene del colesterol, en forma de 7-dehidrocolesterol, conocido también como provitamina D3. A través de la exposición solar, este metabolito se convierte a pre-vitamina D3 (**Figura 1**).

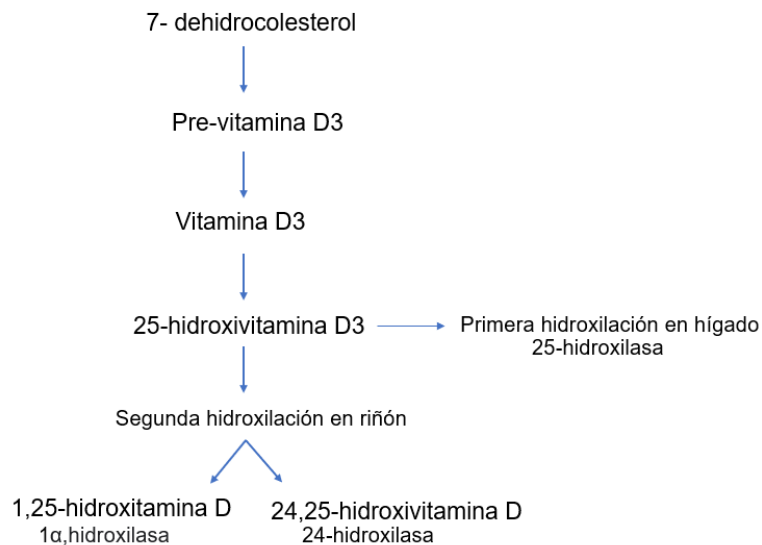


Figura 1. *Metabolismo de vitamina D*

(Adaptación de Querales *et al.*, 2010; Rezayi *et al.*, 2018).

Para obtener la vitamina D biológicamente activa, debe de someterse a dos hidroxilaciones en el organismo. Para que esto suceda, primeramente, la vitamina D es metabolizada en el hígado para formar 25-hidroxitamina D3; también conocido como calcidiol y una vez que esto sucede, es metabolizada en el riñón, para formar 1,25(OH)₂D; conocido como calcitriol activo (Raposo *et al.*, 2017).

La vitamina D se encuentra de dos maneras bioequivalentes. Una de estas es la vitamina D2, conocida como ergocalciferol, esta fuente se adquiere a partir de vegetales y suplementos alimenticios orales. Por el otro lado, la vitamina D3 es conocida como colecalciferol y se obtiene principalmente a través de la exposición solar a través de la radiación ultravioleta, así como también, por medio de la dieta (Kennel *et al.*, 2010). En la **Tabla 1** se muestra el contenido de vitamina D a través de diferentes fuentes alimentarias.

Tabla 1. Contenido de vitamina D en alimentos

Fuente	Contenido de vitamina D3
Fuentes naturales	
Salmón salvaje fresco (100 g)	600 – 1000 UI
Salmón en lata (100 g)	300 – 600 UI
Sardina en lata (100 g)	300 UI
Arenque en lata (100 g)	250 UI
Atún en lata (100 g)	230 UI
Aceite de hígado de bacalao (1 C)	400 – 1000 UI
Riñón de ternera (450 g)	200 – 500 UI
Hígado de cerdo (450 g)	70 – 220 UI
Alimentos enriquecidos	
Zumo de naranja	100 UI / 225
Yogures, mantequillas, margarinas y quesos	100 UI / 225
Cereales	100 UI / 225

(Adaptación de Charoenngam *et al.*, 2019).

Se ha evidenciado que el contenido de vitamina D por parte de la alimentación varía considerablemente, aunque se ha establecido que en la mayoría de los alimentos se puede encontrar en una cantidad de 50 a 200 unidades internacionales (UI) por porción (Kennel *et al.*, 2010).

Los alimentos que contienen mayor cantidad vitamina D de manera natural son los pescados grasos y el aceite de hígado de bacalao (Serrano *et al.*, 2017). Sin embargo, la evidencia actual indica que del 80% al 90% de la vitamina D se obtiene a través de la exposición solar, haciendo un menor énfasis en relación con su obtención a partir de la dieta (Holick *et al.*, 2011 ; Trehan *et al.*, 2017).

A través de la exposición solar, ha sido mencionado que existen diversos factores que condicionan la síntesis endógena de esta vitamina y debido a esta problemática, se ha establecido que el aporte de vitamina D por parte de los alimentos debe adquirir de la misma manera su significancia para cubrir los requerimientos dietéticos y establecer un estado óptimo en el organismo, con la finalidad de evitar su deficiencia (González *et al.*, 2014).

La ingesta de este nutriente a partir de la dieta es insuficiente cuando no se consumen alimentos que no sean enriquecidos, por lo tanto, podría concluirse que la mayor fuente de vitamina D puede obtenerse a partir de la exposición solar, alimentos fortificados y/o enriquecidos y la suplementación de vitamina D3 (Serrano *et al.*, 2017).

Es conocido que en las mujeres de 40 a 60 años o de mayor edad, consumen en menor frecuencia algunos grupos de alimentos, resaltando la deficiencia de la vitamina D dietética (Úbeda *et al.*, 2007). A continuación, en la **Tabla 2** se muestra la ingesta de vitamina D en mujeres de 25 a 64 años de España. Tomada del estudio ENIDE 2012 con registro dietético de 3 días, IDR (Moreiras *et al.*, 2011).

Tabla 2. *Ingesta de vitamina D en mujeres adultas con registro dietético*

Edad	Vitamina D (µg)	IDR	% de adecuación
25 - 44 años	3.52	5	70%
45 – 64 años	4.00	10	19%

(Adaptación de ENIDE, 2012).

Nota: IDR, Ingesta diaria recomendada por Moreiras *et al.*, 2011.

El requerimiento dietético de vitamina D para adolescentes, mujeres embarazadas y adultos es de 600 (UI) (Trehan *et al.*, 2017).

Se ha evidenciado de manera positiva, que la hipovitaminosis D constituye a una epidemia aparentemente mundial (Varsavsky *et al.*, 2017). Algunas de las principales causas de hipovitaminosis D son la falta de exposición solar, una dieta deficiente de vitamina D y la disminución de la capacidad de sintetizar de manera

endógena la vitamina D (Vásquez *et al.*, 2017). Por lo antes mencionado, se sugiere su suplementación para evitar su deficiencia (Varsavsky *et al.*, 2017).

La suplementación de vitamina D puede existir en sus dos formas biodisponibles, no obstante, se ha reportado en investigaciones que es preferible la suplementación con D3, ya que ha asociado a un tratamiento más efectivo para el aumento de las concentraciones de vitamina D sérica, aunque no todas las investigaciones han demostrado estos efectos (Aguilera *et al.*, 2015).

La evidencia disponible sugiere que la suplementación de la vitamina D para prevención de osteoporosis y de enfermedades cardiovasculares debería de ser en una dosis de 700 a 800 (UI) diarias, ya que una dosis menor de 600 (UI) se considera insuficiente para obtener los valores óptimos de la vitamina D sérica (Molina *et al.*, 2011). Asimismo, puede recomendarse la suplementación de 1,500 a 2,000 (UI) por día para alcanzar y mantener los niveles de vitamina D séricos óptimos sobre 30 ng/mL (Inostroza *et al.*, 2019).

El calcidiol (25OHD) refleja a nivel bioquímico, la producción total por parte del organismo, es decir, por una síntesis endógena a través de la exposición solar, y de manera exógena, por parte de la alimentación y suplementación (Serrano *et al.*, 2017). La mayor parte de la 25-hidroxivitamina D sérica corresponde en forma de vitamina D3, a comparación de la vitamina D2 (Iglesias *et al.*, 2013). La razón por la cual se considera a la vitamina D3 como la mayor fuente de esta vitamina, es debido a que el ergocalciferol rara vez se encuentra en la alimentación habitual (Silva *et al.*, 2018).

El metabolito 25-hidroxivitamina D3 (25-hidroxicolecalciferol, 25-hidroxivitamina D) es el mejor indicador para conocer los niveles séricos de vitamina D. Su cuantificación es la primera hidroxilación que se produce en el hígado por la 25-hidroxilasa de D3, e incluye la ingesta dietética, suplementación de D3 (Mata-Granados *et al.*, 2008).

Existen diferentes puntos de corte para la interpretación de la 25-hidroxitamina D, aunque la mayoría de los autores mencionan que valores menores a 20 ng/mL se interpretan como una deficiencia sérica y los valores óptimos se encuentran por arriba de 30 ng/mL (Zuluaga *et al.*, 2011). En la **Tabla 3** se muestran los valores de referencia de los valores séricos de la vitamina D.

Tabla 3. *Valores de referencia de los niveles séricos de la vitamina D*

Valores de referencia	Interpretación
< 20 ng/mL	Deficiencia
21 – 29 ng/mL	Insuficiencia
30 - 100 ng/mL	Suficiencia

(Adaptación de Holick *et al.*, 2011).

Se ha citado que la cuantificación de 25-hidroxitamina D3 representa algunos desafíos, ya que, al ser una molécula de origen lipídico, puede tener unión con proteínas de transporte, además de encontrarse en formas bioequivalentes con diferentes metabolitos, lo cual pone en riesgo la precisión y reproductibilidad del método utilizado para su análisis (Górriz *et al.*, 2014).

Existen diferentes consensos para la cuantificación de vitamina D sérica, para su análisis los métodos comúnmente empleados son, la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la técnica de inmunoensayo (ELISA) (Martínez, 2012).

A través de la técnica de inmunoensayo, se utilizan anticuerpos que reconocen específicamente las formas bioequivalentes de la 25-hidroxitamina D, mientras que, en la técnica de cromatografía líquida de alta resolución, efectúa la cuantificación separando moléculas y metabolitos teniendo en cuenta sus respectivas propiedades químicas, permitiendo su separación hacia dos sustancias referidas como fases, conocida como fija o estacionaria y móvil (Kirk *et al.*, 2017; Serrano *et al.*, 2017).

La 25-hidroxivitamina D en suero o en plasma, tiene una estabilidad de ocho horas a una temperatura de 18 a 25°C. Con relación a su almacenamiento, es necesario que la muestra se mantenga a una temperatura de -20°C, así como también, ha sido reportado que no existen pérdidas significativas de vitamina D en la muestra por más de un año almacenadas (Bordallo *et al.*, 2011).

En otra investigación, se reportó que los metabolitos de vitamina D en muestras sanguíneas pueden almacenarse a temperatura ambiente de 24°C o bien en refrigeración a una temperatura de 4°C y que de la misma manera, los ciclos de congelado/ descongelado no afectan la concentración de 25OHD, mientras no sea separada su proteína de unión (Alexandridou & Volmer, 2022). Similar a lo publicado en otro estudio, se reporta que la 25-hidroxivitamina D no se ve afectada por varios ciclos de congelación/ descongelación, así como también, las muestras pueden ser almacenadas por incluso décadas (Antonucci *et al.*, 2005).

Ocke *et al.* (1995) mencionó que la vitamina D sérica es estable cuando se almacena a -20°C por al menos 4 años. En una investigación más reciente, se reportó que las concentraciones séricas del calcidiol se mantuvieron estables almacenadas a una temperatura de -25°C en un período de 6 a 24 años (Agborsangaya *et al.*, 2010). En otras investigaciones, se ha concluido que 25OHD₃ de las muestras sanguíneas a -25°C pueden ser almacenadas hasta 24 años (Antonucci *et al.*, 2005 ; Agborsangaya *et al.*, 2010 ; Alexandridou & Volmer, 2022).

1.2.2 VITAMINA D EN MUJERES Y MENOPAUSIA

La menopausia se define como la falta de periodos menstruales de 6 a 12 meses sin etiología patológica que ocurre en una media de 51 años (Pavón *et al.*, 2006). Sin embargo, se ha identificado que la menopausia puede presentarse aún en edades más tempranas, ya que existen mujeres en transición a la menopausia desde los 45 años (Tijerina, 2020a). Este acontecimiento se caracteriza por alteraciones en la funcionalidad ovárica y cambios en los ciclos de ovulación. Se ha identificado que esta pérdida en el funcionamiento es gradual, aproximadamente de 4 a 6 años. Cuando comienzan las alteraciones en los ciclos de ovulación con la duración de un año se define como la etapa de la perimenopausia (Pavón *et al.*, 2006).

La clasificación de STRAW+10 identifica tres fases primordiales, la primera fase es conocida como la pre menopausia, esta fase se caracteriza por mostrar alteraciones en el ciclo menstrual, así como la segunda fase es nombrada como la perimenopausia, en la cual incluye de uno a dos años previos de la última menstruación junto con irregularidades menstruales y un año después del último sangrado y la última fase es la postmenopausia, que inicia un año después del último sangrado menstrual (Canto *et al.*, 2006).

La prevalencia de deficiencia de vitamina D sérica es mayor en la población adulta, en específico en mujeres a comparación de los hombres. (Pérez *et al.*, 2007). Se ha relacionado que la deficiencia o las bajas concentraciones de vitamina D sérica, en específico en las mujeres en la etapa de perimenopausia, interfieren con la absorción de calcio, ocasionando complicaciones fisiológicas en la homeostasis esquelética (Aguilera *et al.*, 2015).

El calcio y la vitamina D se han relacionado con varias enfermedades ginecológicas, incluido el síndrome de ovario poliquístico, endometriosis y síndrome premenstrual. (Purdue *et al.*, 2017). Su deficiencia también se relaciona con la presencia de otras enfermedades, como las menarquías tempranas, dismenorrea y fibromas uterinos. Debido a lo antes mencionado, esto puede verse relacionado por

los receptores específicos de vitamina D3 que están presentes en el ovario y útero (Subramanian *et al.*, 2019).

La prevalencia de hipovitaminosis D en las mujeres postmenopáusicas es significativa y es una problemática preocupante, ya que su deficiencia se asocia con las enfermedades antes mencionadas, así como también posiblemente a enfermedades autoinmunes, infecciosas, cardiovasculares y cáncer (Aquino *et al.*, 2013).

La menopausia se asocia con la presencia de obesidad, ya que, durante este período, las mujeres presentan cambios en cuanto a la distribución del tejido adiposo y en específico en la acumulación de grasa abdominal (Garaulet *et al.*, 2008). En un estudio publicado por Herranz *et al.* (2010), reportó que las mujeres adultas con obesidad mórbida presentaban niveles de calcidiol significativamente menores a comparación de aquéllas que no presentaban obesidad.

1.2.3 VITAMINA D Y ADIPOSIDAD

La tasa metabólica en reposo disminuye en la postmenopausia y junto con una mala calidad de la dieta e inactividad física, existe un incremento en el tejido adiposo, favoreciendo de esta manera una mayor prevalencia de sobrepeso, obesidad, dislipidemias, hipertensión arterial, diabetes mellitus y síndrome metabólico (Romero *et al.*, 2015).

El mecanismo por el cual existe una mayor predisposición de desarrollar las enfermedades antes mencionadas, es debido a que un aumento de grasa abdominal es la principal causa de resistencia a la insulina y estado inflamatorio del organismo (Miguel-Soca, Niño, 2009). En presencia de obesidad, existe un incremento de desarrollar las patologías que se relacionan con esta, así como también, suele acompañarse de concentraciones bajas de vitamina D sérica (Mendoza-Zubieta, Reza-Albarrán, 2011).

El tejido adiposo es el principal sitio de almacenamiento de grasa, energía y nutrientes en el organismo, pero a su vez es considerado como el tejido endocrino que expresa y secreta una gran variedad de moléculas y hormonas, como la leptina, adiponectina, interleucina-6, entre otras (Contreras *et al.*, 2011).

Las hormonas sexuales influyen en la distribución del tejido adiposo, ya que las hormonas reproductivas se ven involucradas en el tamaño y número de adipocitos. Es conocido que, en la menopausia, las mujeres tienen un cambio en la distribución de grasa corporal, junto con un aumento gradual de peso, esto debido al incremento de los niveles circulantes de andrógenos sobre los estrógenos (Martin *et al.*, 1993).

Por lo antes mencionado, la menopausia está fuertemente relacionada con un incremento de grasa corporal y una disminución de masa magra corporal, cambios en los perfiles lipídicos y alteraciones sobre la glucosa e insulina. El resultado de presentar dichas alteraciones podría ser relacionado de manera directa

por la baja funcionalidad ovárica, o seguidamente, como una causa indirecta de las alteraciones metabólicas debido a la obesidad (Pinzón *et al.*, 2015).

La acumulación de grasa abdominal en las mujeres menopaúsicas ocurre de forma correspondiente en el transcurrir de los años, observándose un aumento significativo de tejido adiposo visceral en la postmenopausia. La relación de vitamina D sérica y de obesidad en postmenopausia son dependientes del grado de obesidad y de tejido adiposo, existiendo una correlación positiva cuando los valores de índice de masa corporal (IMC) son ≥ 40 kg/m², con el diagnóstico de obesidad mórbida (Chacko *et al.*, 2011; Querales *et al.*, 2013; Moliné *et al.*, 2017).

Ha sido evidenciado que existe una mayor prevalencia de hipovitaminosis D en la postmenopausia. Algunas teorías de esta posible deficiencia podría ser la pobre exposición solar por menor actividad física, junto con una ingesta deficiente de nutrientes y en específico en alimentos ricos en vitamina D. Además, en investigaciones se ha mencionado algunas hipótesis de que es posible que se produzca un secuestro de vitamina D en el tejido adiposo que ocasiona una pérdida en la biodisponibilidad en el organismo por lo cual queda captada y almacenada en el tejido adiposo y en consecuencia existe una menor biodisponibilidad y su conversión a metabolitos activos no es posible (Larroudé *et al.*, 2012; Oliveri *et al.* 2016).

Por el otro lado, la relación entre la vitamina D y el colesterol HDL en mujeres postmenopáusicas, tiene una relación positiva, ya que, en esta etapa de la mujer, hay un mayor aumento de riesgo de presentar obesidad y enfermedades cardiovasculares. Podría pensarse, que la vitamina D ofrece un efecto protector frente a las enfermedades cardiovasculares, ya que promueve la formación del colesterol HDL (Kazlauskaite *et al.*, 2010).

1.2.4 SÍNDROME METABÓLICO

El síndrome metabólico es una enfermedad definida como un conjunto de alteraciones en el metabolismo, que incluye la presencia de obesidad abdominal, hipertensión arterial, dislipidemia, hiperglucemia, resistencia a la insulina y estado protrombótico (Gradillas-García *et al*, 2015). Además de las alteraciones antes mencionadas, hay otra serie de complicaciones patológicas que ya se ven asociadas al momento de presentar dicha patología, como la esteatosis hepática, la disfunción renal o la inflamación subclínica (González *et al.*, 2014).

Actualmente, existe una gran variedad de definiciones para establecer el diagnóstico del síndrome metabólico, por lo que la Federación Internacional de la Diabetes (IDF, 2005) propuso la actualización de su definición. Dicha propuesta incluye la obesidad central con circunferencia de cintura ≥ 80 cm en mujeres y ≥ 90 cm en hombres y o un IMC mayor a 30 kg/m^2 , junto con la presencia de dos factores más, como el aumento de triglicéridos ($\geq 150 \text{ mg/dL}$ o tratamiento específico de esta alteración lipídica), disminución de colesterol HDL ($< 40 \text{ mg/dL}$ en hombres y $< 50 \text{ mg/dL}$ en mujeres o tratamiento específico para alteración lipídica), aumento de la presión arterial ($\geq 130 / \text{y/o} \geq 85 \text{ mmHg}$ o tratamiento para la hipertensión diagnosticada anteriormente) e incremento de la glucemia (glucemia en ayunas de $\geq 100 \text{ mg/dL}$ o bien diabetes mellitus tipo 2 diagnosticada previamente (Zimmet *et al.*, 2005).

Varias organizaciones han establecido los criterios diagnósticos para el síndrome metabólico (**Tabla 4**) como se muestra a continuación.

Tabla 4. Componentes del síndrome metabólico

COMPONENTES	IDF	ATP III	AACE	OMS	ALAD
Triglicéridos	≥ 150 mg/dL o tratamiento farmacológico	≥ 150 mg/dL	≥ 150 mg/dL	≥ 150 mg/dL	> 150 mg/dL o tratamiento farmacológico
Colesterol HDL en hombres	< 40 mg/dL o tratamiento farmacológico	< 40 mg/dL	< 40 mg/dL	< 35 mg/dL	< 40 mg/dL o tratamiento farmacológico
Colesterol HDL en mujeres	< 50 mg/dL o tratamiento farmacológico	< 50 mg/dL	< 50 mg/dL	< 39 mg/dL	< 50 mg/dL o tratamiento farmacológico
Presión arterial	≥ 130 / y/o ≥ 85 mmHg o tratamiento farmacológico	≥ 130 / ≥ 85 mmHg	≥ 130 / ≥ 85 mmHg	≥ 140 / 90 mmHg	≥ 130 / y/o ≥ 85 mmHg o tratamiento farmacológico
Glucosa	≥ 100 mg/dL en ayuno o DMT2 diagnosticada	≥ 110 mg/dL	110 – 125 mg/dL	DMT2 Glucosa en ayuno alterada	DMT2 Glucosa en ayuno alterada

Tabla 4. Componentes del SM. (Continuación).

COMPONENTES	IDF	ATP III	AACE	OMS	ALAD
Circunferencia abdominal en hombres	≥ 90 cm	> 102 cm	> 102 cm	-	≥ 94 cm
Circunferencia abdominal en mujeres	≥ 80 cm	> 88cm	> 88 cm	-	≥ 88 cm
IMC	> 30 kg/m ²	-	≥ 25 kg/m ²	≥ 30 kg/m ²	-
Albuminuria	-	-	-	Excreción de 20µg/min	-

(Adaptación de Grundy *et al.*, 2004; Zimmet *et al.*, 2005; Martínez *et al.*, 2009; Guzmán *et al.*, 2010; Lizarzaburu *et al.*, 2013).

IDF: Federación Internacional de Diabetes

ATP III: National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III

AACE: American Asssociation of Clinical Endocrinologists

OMS: Organización Mundial de la Salud

ALAD: Consenso Latinoamericano de la Asociación Latinoamericana de Diabetes

La presencia de obesidad y síndrome metabólico se relaciona durante la transición de pre y postmenopausia, ya que existe un aumento de tejido adiposo, un incremento de la circunferencia de cintura, resistencia a la insulina y alteraciones séricas de lípidos y colesterol. Debido a lo antes mencionado, se ha establecido que, en mujeres con postmenopausia, puede incrementarse aproximadamente hasta un 60% de presentar síndrome metabólico (Rojas *et al.*, 2014).

Salas *et al.* (2014), publicó un estudio en donde se asoció la prevalencia de síndrome metabólico en los individuos de 16 a 65 años del Estado de Nuevo León, México y reportó que la prevalencia general del síndrome es de 54.8%, de los cuales las mujeres presentan un mayor riesgo (60.4%) a comparación de los hombres (48.9%).

Es esencial mencionar que la etiología del síndrome metabólico no se conoce con exactitud, solamente se han establecido los factores que la desencadenan y la definen, como son los componentes de los criterios diagnósticos antes mencionados (Pereira *et al.*, 2016).

1.2.5 RELACIÓN DE LA VITAMINA D Y EL SÍNDROME METABÓLICO

Hace años se consideraba que la vitamina D tenía una única función esencial, su papel en la homeostasis esquelética en el organismo. Sin embargo, en las últimas investigaciones con relación a la vitamina D, se ha sido considerado como uno de los nutrientes más importantes en el metabolismo, ya que se ha demostrado su participación en las enfermedades autoinmunes, metabólicas, neurológicas, entre otras (Gilaberte *et al.*, 2011).

Existen estudios observacionales que sugieren que la vitamina D actúa como regulador de la insulina además de inhibir la hormona renina; en el sistema de renina angiotensina. De esta manera, se asocia a la vitamina D como factor protector frente algunas enfermedades metabólicas como hipertensión arterial, DM, obesidad y síndrome metabólico, sin embargo, se ha reportado que son necesarias más investigaciones observacionales y de intervención para dicho sustento (Barberán *et al.*, 2014).

La deficiencia de vitamina D está relacionada con la promoción de un aumento de riesgo de presentar algunas enfermedades, como DMT1 y DMT2, enfermedades cardiovasculares, deterioro cognitivo, algunos tipos de cáncer, alteraciones severas en el embarazo y depresión. Sin embargo, se ha puntualizado que hacen falta más investigaciones para poder explicar esta relación, ya que, en la actualidad, aún no se comprenden por completo los mecanismos por los cuales existe esta asociación (Molina *et al.*, 2011; Subramanian *et al.*, 2019).

Dadoniene *et al.* (2018), destacó la importancia de tener niveles séricos adecuados de vitamina D en cualquier rango de edad, ya que puede prevenir la aparición algunas enfermedades a largo plazo, como, por ejemplo, la obesidad, las enfermedades cardiovasculares, el síndrome metabólico, algunos tipos de cáncer y la mortalidad, no obstante, ciertas investigaciones que muestran dichas relaciones de prevención hacia patologías son controversiales.

En pacientes con DM o con resistencia a la insulina, se ha planteado que la hipovitaminosis D aumenta la misma resistencia a la insulina en el organismo y disminuye a su vez la producción de esta hormona, lo que incrementa el riesgo de padecer otras enfermedades como el síndrome metabólico (Loya *et al.*, 2011).

En una investigación realizada por Acosta *et al.* (2017) pudo demostrar que, en individuos de ambos sexos de 40 a 59 años, presentaron una asociación positiva con algunos de los criterios del síndrome metabólico. Por ejemplo, en las mujeres que presentaron una mayor circunferencia de presentaron niveles más bajos de vitamina D, de esta manera, pudo encontrarse que niveles más altos de vitamina D se asociaron con cifras más elevadas de tensión arterial diastólica, así como también la hipovitaminosis D se relacionó con niveles más altos de glucosa sérica.

Moliné *et al.* (2017) pudo evidenciar que si existe la relación de manera positiva de la deficiencia de vitamina D y la resistencia a la insulina en mujeres postmenopáusicas. Se sugiere que la vitamina D en su forma activa tiene una función significativa en la regulación de glucosa a través de distintos mecanismos, ya que no solo aumenta la sensibilidad de la insulina a nivel celular, sino que también aumenta la funcionalidad y viabilidad de las células β pancreáticas y su captación en los órganos y tejidos periféricos como tejido adiposo y músculo esquelético.

En otra investigación realizada por Arellano *et al.*, (2020) pudo concluirse que la deficiencia de vitamina D sérica se asocia con la presencia de DMT2, osteoporosis, hipertensión arterial, hipercolesterolemia en tratamiento y enfermedad renal crónica en individuos de ambos sexos, mayores de 20 años.

En una investigación realizada por Gradillas-García *et al.* (2015) se demostró una asociación positiva entre la deficiencia de vitamina D sérica y el síndrome metabólico en individuos mayores de 40 años de ambos sexos. Sin embargo, pudo concluirse que son necesarios de más estudios prospectivos y de intervención a

largo plazo, para poder evaluar la posible relación de causalidad, así como también si el tratamiento de déficit de vitamina D podría desempeñar un papel de prevención frente a la presencia del síndrome metabólico.

En este sentido, los estudios que comprenden investigaciones tanto observacionales como prospectivos se consideran hasta el momento no concluyentes, ya que mientras algunos autores mencionan una correlación positiva, otros mencionan que no existe la asociación, por lo tanto, se encuentra en controversia si el síndrome metabólico resultaría en consecuencia a una deficiencia sérica de vitamina D (Oliveri *et al.*, 2016).

En la actualidad, no se ha evidenciado cuáles son las causas del síndrome metabólico, sin embargo, se ha propuesto que la hipovitaminosis D podría ser uno de los factores independientes a derivar. Estudios transversales apoyan dicha relación, sin embargo, existen muy pocos estudios observacionales y estudios de intervención que demuestren la relación de síndrome metabólico y deficiencia de vitamina D sérica. Se ha sugerido, que los pacientes que padecen de síndrome metabólico pueden tener un mayor riesgo de deficiencia de vitamina D sérica con mayor frecuencia, que los sujetos que no padecen dicha patología, no obstante, los resultados de las investigaciones no son concluyentes, ya que no se ha aclarado si existe dicha relación (González *et al.*, 2014; Gradillas-García *et al.*, 2015).

1.3 JUSTIFICACIÓN

La etiología exacta del síndrome metabólico aún no es clara, sin embargo, se conoce que una combinación de factores están relacionados con la presencia de esta enfermedad, por ejemplo, los hábitos alimentarios, la ingesta excesiva de calorías y el sedentarismo, tienen un papel muy importante para la prevención y tratamiento de la enfermedad.

Se ha reportado que los niveles séricos de la vitamina D pudieran tener una relación directa con enfermedades metabólicas y síndrome metabólico. Sin embargo, los estudios que demuestran los mecanismos por los cuales la obesidad y otras enfermedades metabólicas están relacionadas con la vitamina D sérica aún son controversiales y no concluyentes.

Por lo tanto, se justifica analizar e investigar si los niveles deficientes de vitamina D plasmática pudieran tener relación con la presencia del síndrome metabólico en las mujeres de 40 a 60 años, para que, de esta manera, se pueda contribuir a generar mayor conocimiento respecto al tema y su posible relación de manera directa o indirecta.

Por consiguiente, se podría dar a conocer si existe una asociación positiva sobre la vitamina D plasmática y el síndrome metabólico, además de poder utilizarse como herramienta preventiva en la aparición de la enfermedad en las mujeres adultas mexicanas.

2. HIPÓTESIS

Los niveles de vitamina D plasmática se presentan significativamente menores en las mujeres de 40 a 60 años con síndrome metabólico.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar los niveles de vitamina D plasmática, con un método validado y la presencia de síndrome metabólico en mujeres de 40 a 60 años.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Validar un método de cromatografía líquida de alta resolución para cuantificar los niveles plasmáticos de 25-hidroxivitamina D.
2. Comparar la ausencia y presencia del síndrome metabólico y las características descriptivas en mujeres de 40 a 60 años bajo los criterios de la Federación Internacional de Diabetes.
3. Analizar asociaciones de los niveles de vitamina D en plasma en mujeres de 40 a 60 años con la presencia y ausencia del síndrome metabólico mediante pruebas estadísticas.

4. METODOLOGÍA

4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

La presente investigación consistió en un estudio descriptivo transversal retrospectivo con registro 21-FaSPyN-SA-19.TP

4.2 POBLACIÓN DEL ESTUDIO

Mujeres de 40 a 60 años residentes del estado de Nuevo León, México, que participaron en el macroproyecto “Hábitos alimenticios en mujeres perimenopáusicas” con el registro 15-FaSPyN-SA-11 (Tijerina, 2020a).

4.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN

4.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

La muestra elegida consistió en mujeres de 40 a 60 años con ausencia de síndrome metabólico y con presencia de síndrome metabólico.

- El diagnóstico del síndrome metabólico fue establecido por los Criterios descritos por la IDF: presencia de obesidad abdominal (≥ 80 cm), o un IMC > 30 kg/m², junto con dos componentes más: niveles de triglicéridos ≥ 150 mg/dL o tratamiento farmacológico, niveles de colesterol HDL < 50 mg/dL o tratamiento farmacológico, presión arterial de ≥ 130 / y/o ≥ 85 mmHg o tratamiento farmacológico y niveles de glucosa ≥ 100 mg/dL o tratamiento farmacológico para su control.
- Análisis de ingesta dietética de vitamina D por día, realizado por un cuestionario de frecuencia alimentaria (FFQ) (Tijerina & Tur, 2020b).
- Contar con muestra plasmática disponible y su fecha de la extracción (mes y año).

4.3.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Se eliminaron de las muestras de estudio, aquellas participantes que por diversas causas tuvieran datos incompletos y no contaran con volúmenes de muestra suficiente para su detección.

4.3.3 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

Aquellas participantes cuyas muestras de plasma no alcanzaron los límites de detección y cuantificación de vitamina D.

4.4 CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

Las mujeres del estudio participaron de manera voluntaria. En la presente investigación se realizó un muestreo no probabilístico. Se utilizó una muestra de $n = 202$ de mujeres de 40 a 60 años del estado de Nuevo León, siendo representativa para dicha población, según el cálculo muestral reportado por (Tijerina, 2020a).

4.5 PROCEDIMIENTO

La presente investigación se deriva del macroproyecto denominado “Hábitos alimenticios en mujeres perimenopáusicas” con el número de registro 15-FASPYN-SA-11. La selección de las participantes se llevó a cabo en el Centro de Investigación de Nutrición y Salud Pública entre 2015 y 2017, ubicado dentro de la Facultad de Salud Pública y Nutrición. Fueron necesarias dos citas para las evaluaciones de salud y nutrición.

En la primera cita, se completó la hoja de registro de la participante con los datos personales y cuestionarios, donde se incluía la historia clínica-obstetra, cuestionario de frecuencia semicuantitativo de alimentos analizados con el programa Food Processor®. En la segunda cita, las participantes fueron programadas para la obtención de muestras sanguíneas, además de una evaluación antropométrica y toma de la presión arterial. Se obtuvo plasma a partir de las muestras sanguíneas y se almacenaron a -80°C . A la vez, se elaboró una base de datos, la cual estuvo sujeta a auditorías y posteriores correcciones. Posteriormente, al contar con la base de datos completa y correcta, se prosiguió con el análisis de resultados a través de pruebas de análisis estadísticos.

A partir de esta base de datos y de la disponibilidad de muestras de plasma congeladas, se procedió a la realización del proyecto de investigación de “Niveles plasmáticos de vitamina D y síndrome metabólico en mujeres de 40 a 60 años” con número de registro 21-FaSPyN-SA-19.TP (**Figura 2**).

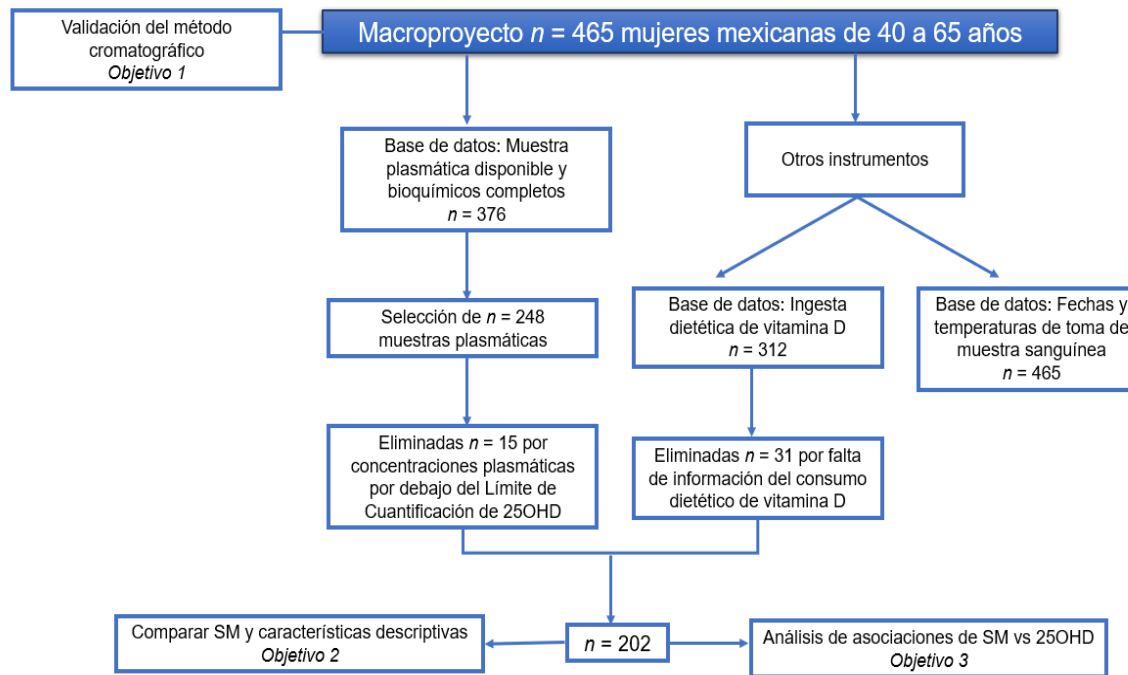


Figura 2. Esquema general del procedimiento

4.6 INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN

INDICADORES ANTROPOMÉTRICOS

Estatura

Se utilizó un estadiómetro digital (SECA, modelo 274). Fue determinada mediante el milímetro más cercano. Se solicitó a la participante colocarse de pie en el equipo, con los talones juntos, piernas rectas y hombros relajados, manteniéndose pegada a la superficie vertical del estadiómetro, con la cabeza en un plano de Frankfort. Antes de recopilar la medición, se le solicitó que inhalara profundamente y contuviera el aire, continuando con la postura recta mientras la base móvil se lleva al punto máximo de la cabeza y tomando el milímetro más cercano.

Peso

Se utilizó una bioimpedancia eléctrica (Inbody 120, Software Lookin' Body 120, Inbody Co). El peso corporal se determinó con precisión de 100 gramos. Se solicitó que la participante mantuviera las manos y las plantas de los pies sobre los electrodos correspondientes y una posición recta con vista hacia el frente. Con la medición de estatura y peso corporal, fue calculado el IMC mediante la fórmula de $IMC = \text{peso (kg)} / \text{talla (m}^2\text{)}$. El IMC se clasificó en normopeso, sobrepeso y obesidad según la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SSA3-2017 (NOM-008-2017).

- Un IMC $>30 \text{ kg/m}^2$ fue considerado como criterio de síndrome metabólico.

Circunferencia de cintura

Se empleó una cinta antropométrica (SECA 201). Para su medición, se consideró el punto medio del punto inferior de la última costilla y la cresta iliaca, con la participante de pie y con una espiración normal (Moreno, 2010). La participante se situó con los pies juntos y se leyó la medición con una precisión de 0.1 cm de la cinta.

- Un perímetro de cintura ≥ 80 cm fue considerado como criterio de síndrome metabólico.

INDICADORES BIOQUÍMICOS

Las muestras de sangre se obtuvieron de la vena antecubital en vacutainers, después de 12 horas de ayuno, según lo establece la Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012 (NOM-253-2012). Las muestras sanguíneas fueron centrifugadas a 3500 rpm durante 12 min y posteriormente fueron almacenadas a -80°C hasta su análisis. Los datos bioquímicos se determinaron a partir del equipo A25 (BioSystems® S.A., Barcelona, España, Software v4 1.1.1). Para el análisis de glucosa (CV = 1.2%), triglicéridos (CV = 1.6%) y colesterol HDL sérico (CV = 0.8), fueron utilizados los kits comerciales de BioSystems®.

Glucosa

Para su determinación se utilizó el método enzimático de Glucosa Oxidasa/Peroxidasa, mediante el autoanizador A25 a una longitud de onda de 505 nm.

- Glucosa sérica ≥ 100 mg/dL fue considerado como criterio de síndrome metabólico.

Triglicéridos

Su cuantificación se realizó mediante el método Glicerol Fosfato Oxidasa/Peroxidasa, en donde los triglicéridos crean un complejo coloreado cuantificado por espectrofotometría a 505 nm.

- Triglicéridos séricos ≥ 150 mg/dL fue considerado como criterio de síndrome metabólico.

Colesterol HDL

El método que se empleó fue el directo, en donde se utiliza un detergente que permite la solubilización del colesterol de las lipoproteínas de alta densidad

presentes en la muestra sanguínea, lo cual posteriormente es cuantificado en espectrofotómetro a 600 - 700 nm.

- Colesterol HDL <50 mg/dL fue considerado como criterio de síndrome metabólico.

INDICADOR CLÍNICO

Presión arterial

Se utilizó un baumanómetro digital de la (Beurer Medical, modelo 19). Las mediciones de la presión arterial se realizaron con una precisión de 1mmHg. Se realizó el procedimiento de medición de acuerdo con lo establecido en la NOM-030-SSA2-2009, Para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y control de la hipertensión arterial sistémica. La presión arterial fue registrada con la participante reposando con un soporte para la espalda y el brazo izquierdo descubierto, para posteriormente, registrar la presión arterial diastólica y sistólica, con un promedio de al menos dos mediciones en un intervalo de dos minutos (NOM-030-SSA2-2009).

- Presión arterial ≥ 130 / y/o ≥ 85 mmHg fue considerado como criterio de síndrome metabólico.

INDICADOR DIETÉTICO

Ingesta dietética de vitamina D

Se solicitó la base de datos correspondiente que incluía la ingesta y suplementación de vitamina D de las participantes (Lara, 2022). Dicha información fue calculada mediante el Software Food Processor, a partir del FFQ (Tijerina & Tur, 2020b).

- Una ingesta dietética de vitamina D total (alimentos y/o suplementación) menor a 600 UI/día se considera insuficiente, según Institutos Nacionales de Salud (NIH), Instituto de Medicina (IOF), Sociedad de Endocrinología (ES).

4.7 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

Se utilizó un cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución (Waters Alliance e2695) con Detector UV-Vis con arreglo de diodos, con una Columna Acclaim TM120 - C18 (4.6 x 250 mm; 5 μ m) a una longitud de onda de 265 nm. La fase móvil que se utilizó fue de MeOH:ACN (80:20) y la velocidad del flujo de 1.2 mL/min. Se estableció la temperatura de la columna a 30°C y de las muestras a 4°C, el volumen de inyección total fue de 100 μ L y el tiempo de corrida fue de 25 minutos por muestra, en donde se tuvo un lavado con 100% de agua del minuto 13 al 17. Se consideró la metodología publicada por Tariq *et al.* (2012) con modificaciones en la velocidad de flujo, temperatura de columna y longitud de onda.

Se inició con la preparación la solución estándar de 25-Hidroxicolecalciferol (25OHD3) añadiendo 1 mL de acetonitrilo puro grado HPLC. A partir de la solución estándar de 25OHD3, fue preparada la primera solución stock con una concentración final de 5,000 ng/mL y partiendo de la primera solución stock fue preparada la segunda solución stock con una concentración final de 500 ng/mL de 25OHD3. A partir de la segunda solución stock, se realizaron seis diluciones de trabajo de 25OHD3 (5, 10, 20, 30, 40 y 50 ng/mL). Todas las diluciones fueron preparadas con el mismo blanco (Acetonitrilo puro grado HPLC). Se siguió la metodología propuesta de Tariq *et al.*, 2012 (**Figura 3**).

Concentración solución estándar: 1,000,000 ng/mL
 Concentración de solución stock: 5,000 ng/mL
 Concentración de segunda solución stock: 500 ng/mL

1) *Preparación de la solución estándar*



$5,000 \text{ ng/mL (CI)} \times \text{VI} = 50 \text{ ng/mL (CF)} \times 1 \text{ mL ACN (VF)}$
 $\text{VI} = 50 / 5,000$
 $\text{VI} = 0.01 \text{ mL}$
 $\text{VI} = 0.01 \text{ mL} \times 1,000 = 10 \text{ } \mu\text{L}$
 $\text{VI} = 10 \text{ } \mu\text{L} \longrightarrow 1 \text{ mL}$



2) *Preparación de solución stock*



$1,000,000 \text{ ng/mL (CI)} \times \text{VI} = 5,000 \text{ ng/L (CF)} \times 10 \text{ mL (VF)}$
 $\text{VI} = 5,000 \text{ ng/L} \times 10 \text{ mL} / 1,000,000 \text{ ng/mL}$
 $\text{VI} = 0.05 \text{ mL}$
 $\text{VI} = 0.05 \text{ mL} \times 1,000$
 $\text{VI} = 50 \text{ } \mu\text{L}$
 $50 \text{ } \mu\text{L} \longrightarrow 10 \text{ mL} = 5,000 \text{ ng/L}$
 $\text{VI} = 50 \text{ } \mu\text{L de STD de 25OHD3} + 9,950 \text{ } \mu\text{L ACN}$



3) *Preparación de segunda solución stock*



$5,000 \text{ ng/mL (CI)} \times \text{VI} = 500 \text{ ng/mL (CF)} \times 5,000 \text{ } \mu\text{L}$
 $\text{VI} = 500 \times 5,000 / 5,000$
 $\text{VI} = 500 \text{ } \mu\text{L solución stock} + 4,500 \text{ } \mu\text{L ACN}$



4) *Preparación de diluciones de trabajo*



$5 \text{ ng/mL} = 10 \text{ } \mu\text{L ST2} + 990 \text{ } \mu\text{L ACN}$
 $10 \text{ ng/mL} = 20 \text{ } \mu\text{L ST2} + 980 \text{ } \mu\text{L ACN}$
 $20 \text{ ng/mL} = 40 \text{ } \mu\text{L ST2} + 960 \text{ } \mu\text{L ACN}$
 $30 \text{ ng/mL} = 60 \text{ } \mu\text{L ST2} + 940 \text{ } \mu\text{L ACN}$
 $40 \text{ ng/mL} = 80 \text{ } \mu\text{L ST2} + 920 \text{ } \mu\text{L ACN}$
 $50 \text{ ng/mL} = 100 \text{ } \mu\text{L ST2} + 900 \text{ } \mu\text{L ACN}$

Figura 3. *Preparación de solución estándar, soluciones stock y diluciones de 25OHD3*

(Adaptación de Tariq *et al.*, 2012).

4.7.1 VALIDACIÓN DE MÉTODO CROMATOGRÁFICO

Se utilizó la guía de International Conference on Harmonisation (2005) y los criterios establecidos por Quattrocchi (1992) para la validación del método cromatográfico. Los parámetros incluidos fueron linealidad, precisión, robustez, exactitud, límites de detección y cuantificación.

Linealidad

La linealidad fue evaluada mediante la observación de los cromatogramas de las concentraciones de 25OHD3 (5 a 50 ng/mL) frente a las áreas obtenidas en el TR (Tiempo de retención) a los 4.0 min. Se utilizó el programa Excel para obtener la ecuación de la regresión lineal y el coeficiente de determinación (R^2).

Precisión

La precisión permitió evaluar la repetibilidad del método calculando el porcentaje de varianza (%CV). Para este análisis, se seleccionaron tres niveles (Bajo: 5 ng/mL, Medio: 30 ng/mL y Alto: 50 ng/mL de 25OHD3) y se realizaron por triplicado en tres días diferentes.

Límites de detección y cuantificación

Para calcular el límite de detección y de cuantificación se utilizó la desviación estándar del blanco (solvente en el que se disuelve la matriz), considerando tres veces la desviación estándar para el límite de detección y diez veces para el límite de cuantificación, de acuerdo con las siguientes fórmulas:

- Límite de detección = $(b + 3DE / m)$
- Límite de cuantificación = $(b + 10DE / m)$

En donde:

b: señal del blanco

DE: desviación estándar

m: pendiente de la curva de calibración

Robustez

Para la robustez se emplearon variaciones en la temperatura de la columna (29°C y 31°C) y en la velocidad de flujo (1mL/min y 1.4 mL/min) utilizando una concentración de 50 ng/mL de solución estándar de 25OHD3 con la finalidad de concluir si existían cambios significativos en la concentración de éste, y se empleó la fórmula establecida por Quattrocchi (1992):

$$- [VB] > s * \sqrt{2}$$

En donde:

VB: ¼ de diferencia entre la concentración obtenida vs. el resultado anterior

s: Desviación estándar de la precisión calculada

√2: raíz cuadrada de 2

Exactitud

Para el análisis de exactitud, se le adicionó a una muestra plasmática una concentración de las diluciones de trabajo de la curva de calibración ya establecida (10 ng/mL de 25OHD3) y se reportó el porcentaje de recuperación.

$$\% \text{ de Recuperación} = \frac{CF - CU}{CA} \times 100$$

En donde:

CF: Concentración del analito medida en muestra fortificada

CU: Concentración del analito medida en muestra sin fortificar

CA: Concentración del analito adicionado

4.7.2 CUANTIFICACIÓN DE VITAMINA D PLASMÁTICA

Antes de analizar las muestras plasmáticas almacenadas a -80°C del Macroproyecto “Hábitos alimenticios en mujeres perimenopáusicas” fue necesario solicitar el apoyo en tres ocasiones con voluntarios para obtener suficiente volumen sanguíneo y poder llevar a cabo las siguientes pruebas descritas. Esto con el propósito de concluir la validación del método cromatográfico.



Figura 4. Toma de muestra voluntaria #1



Figura 5. Toma de muestra voluntaria #2



Figura 6. Tubos Vacutainer Lila EDTA

De acuerdo con la literatura revisada, existen diferentes solventes que pueden ser utilizados para la extracción del metabolito de vitamina D. Los primeros solventes con los que se realizaron análisis fueron etanol y acetonitrilo puros (2:1), metodología propuesta por Brunetto *et al.* 2004. Debido a que a partir de esta metodología no se obtenía un porcentaje de recuperación mayor al 80%, se propuso cambiar la relación de solventes (10:1), pero la recuperación fue aún más baja a la metodología anterior. Por lo antes mencionado, se optó por utilizar solamente acetonitrilo puro, metodología propuesta por Olkowski *et al.* 2002. Sin embargo, los resultados eran muy variables y poco precisos, aunque se recuperaba más que al momento de usar etanol puro.

Por lo tanto, se planteó utilizar otra metodología en la que era usado etanol puro con ácido fórmico y acetonitrilo puro, metodología propuesta por Mathew *et al.*

2019. Pudo observarse que a partir de dicha metodología podía recuperarse aproximadamente un 5% más que los métodos antes mencionados, no obstante, se obtenía un porcentaje de recuperación menor al esperado ($\geq 80\%$). Finalmente, se realizó la metodología anterior, pero únicamente con acetonitrilo puro y ácido fórmico al 0.1%, obteniéndose un porcentaje de recuperación del 95% (**Tabla 5**). Es importante mencionar que todas las pruebas antes expuestas fueron realizadas por triplicado.

Tabla 5. Determinación de porcentajes de recuperación

Solvente de extracción	Porcentaje de recuperación
Acetonitrilo puro	45 - 65%
Etanol puro + Acetonitrilo puro 2:1	40%
Etanol puro + Acetonitrilo puro 10:1	25%
Etanol con Ácido Fórmico 0.1% + Acetonitrilo puro 2:1	50 - 65%
Acetonitrilo con Ácido Fórmico 0.1%	95%

Adaptación de Olkowski *et al.*, 2002; Brunetto *et al.*, 2004, Mathew *et al.*, 2019

Al concluir con la validación del método cromatográfico, se procedió con el análisis de las muestras plasmáticas de las participantes (**Figura 2**).

Primeramente, las muestras plasmáticas fueron descongeladas a temperatura ambiente. A continuación, el solvente se reposó (acetonitrilo con ácido fórmico al 0.1%) con la muestra plasmática por tres minutos antes de agitar la muestra en vórtex para conllevar la precipitación de las proteínas presentes en el plasma. Después de llevarse a vórtex, la muestra plasmática se centrifugó. En este caso, se centrifugó durante 15 minutos, metodología adaptada por Brunetto *et al.*, 2004. Posteriormente, se tomó el sobrenadante y se llevó al proceso de secado en el Centrivap (Labconco) con una duración aproximada de 4 horas a una temperatura de 30°C al vacío. Después del proceso de secado, las muestras fueron almacenadas durante 20 horas, a -20°C previo a la reconstitución, en su respectivo microtubo y éstos cubiertos en aluminio para evitar la oxidación de vitamina D.

Finalmente, la reconstitución se realizó con un volumen final de 250 μ L con acetonitrilo fortificado y vórtex por 30 segundos, metodología adaptada por Brunetto *et al.*, 2004; Tariq *et al.*, 2012. Las muestras reconstituidas fueron filtradas previo al análisis en el HPLC (filtros para jeringa de 13 mm de diámetro y 0.45 μ m de tamaño de poro). Proceso de cuantificación de vitamina D plasmática en **Figura 14**.

Cabe destacar que, la preparación de las diluciones stock y de las diluciones de trabajo de 25OHD₃, junto con la preparación de las muestras plasmáticas, fueron realizadas sin la presencia de luz.

Descongelación de muestras plasmáticas



Figura 7. Muestra en gradilla para microtubos

500 μ L de plasma se agrega con 1000 μ L de ACN con ácido fórmico al 0.1%



Figura 8. Muestra con solvente

Se deja reposar por 3 min y se agita en vórtex por 30 s

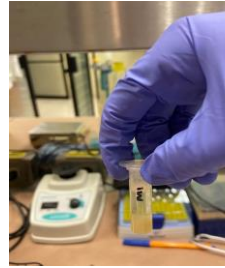


Figura 9. Muestra después de agitación

Centrifugación de 3000g por 15 min y se recolecta el sobrenadante

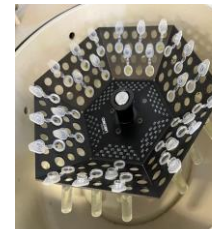


Figura 10. Muestra en Centrivap

Secado de la muestra por 4hrs 30°C



Figura 11. Muestra con ACN + 250HD3

Filtrado de muestra plasmática



Figura 12. Muestra filtrada

Son analizadas por el equipo HPLC



Figura 13. HPLC

Fig 14. Proceso de cuantificación de vitamina D plasmática

(Adaptación de Brunetto *et al.*, 2004; Tariq *et al.*, 2012; Mathew *et al.*, 2019).

4.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó el análisis de normalidad con la prueba Kolmogórov-Smirnov, encontrándose distribuciones no normales, por lo tanto, fueron realizadas pruebas no paramétricas. Las participantes se agruparon: con presencia de síndrome metabólico y con ausencia de síndrome metabólico. Los resultados se reportan en medianas, cuartiles 1 y 3, y frecuencias con porcentajes (%).

Los niveles plasmáticos de vitamina D se reportaron como deficiencia (<20 ng/mL), insuficiencia (21-29 ng/mL) y suficiencia (30-100 ng/mL).

Se agrupó por ingesta dietética total de vitamina D (alimentación y/o suplementación) en dos grupos, el primer grupo fue clasificado con una ingesta de 0 a 599 UI/día y el segundo grupo de 600 UI/día a 1200 UI/día. Se realizó también, un análisis de ingesta dietética de vitamina D ajustado a la ingesta diaria recomendada para población mexicana (400 UI/día).

Para las variables categóricas, se efectuó la prueba de Chi-cuadrada con la finalidad de comparar los niveles de vitamina D plasmática entre ambos grupos y para los datos numéricos la prueba de U-Mann Whitney. Se realizó una Regresión Logística Binaria para evaluar la asociación de las variables con la presencia de SM.

Fue utilizado el software estadístico IBM SPSS® versión 25 considerando significancia estadística a nivel de $p < 0.05$.

5. CONSIDERACIONES ÉTICAS Y DE BIOSEGURIDAD

El presente proyecto de investigación se deriva del macroproyecto “Hábitos alimenticios en mujeres perimenopáusicas” (registro 15-FaSPyN-SA-1), y fue realizado de acuerdo con los lineamientos de la Declaración de Helsinki y fue aprobado por la Comisión de Investigación y Ética de la FaSPyN, UANL recibiendo el registro 21-FaSPyN-SA-19.TP. Todas las participantes colaboraron de manera voluntaria y firmaron la hoja de consentimiento informado (**Anexo 2**).

Para asegurar la bioseguridad de los protocolos del proyecto, se utilizó como referencia el “Manual de bioseguridad en el laboratorio”. Se portó la bata de laboratorio y guantes de látex para evitar el contacto accidental o directo de solventes y plasma. Igualmente, se empleó el lavado de manos al finalizar la preparación de las diluciones de trabajo, pretratamiento de muestras plasmáticas y almacenamiento de muestras.

Para disminuir los riesgos de exposición a los residuos peligrosos biológicos-infecciosos, se utilizó la “Guía para el manejo de los residuos peligrosos biológico infecciosos en unidades de salud”. Las jeringas que tuvieron contacto con plasma fueron desechadas en un envase rígido de plástico con su respectiva etiqueta de color rojo. Los demás residuos que tuvieron contacto con plasma, tales como puntillas, microtubos, tubos de centrifuga y guantes de látex, fueron desechados en una bolsa de plástico con su respectiva etiqueta de color rojo.

6. RESULTADOS

6.1 Validar un método de cromatografía líquida de alta resolución para cuantificar los niveles plasmáticos de 25-hidroxivitamina D3.

Linealidad

Se realizó una curva de calibración de seis puntos del metabolito 25OHD3 y se obtuvo un coeficiente de determinación ($R^2=0.9989$). La ecuación que se obtuvo fue $y = 379.41x - 275.26$ (Figura 15).

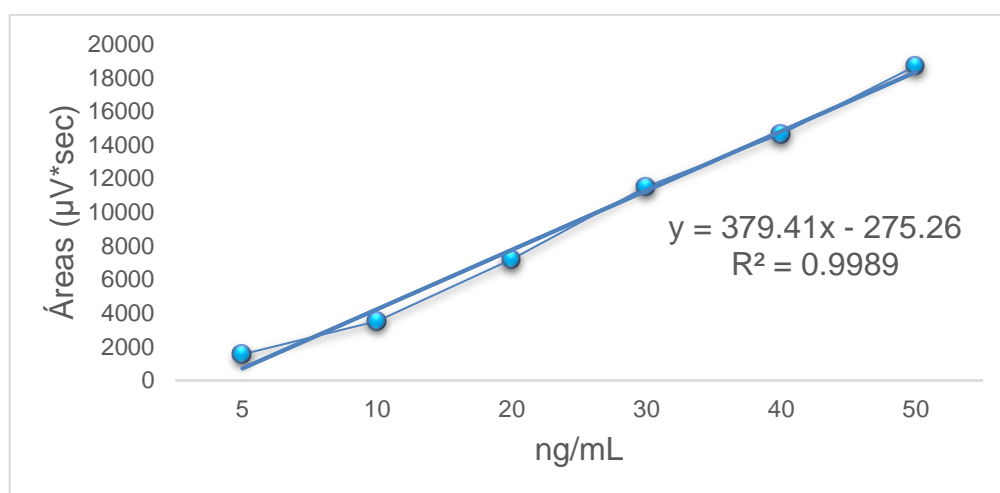


Figura 15. Curva de calibración de 25-hidroxicolecalciferol (25OHD3)

Límites de detección y cuantificación

Se programaron diez corridas con Acetonitrilo puro grado HPLC, filtrado, para tomar las áreas obtenidas en el tiempo de retención. El límite de detección fue de 0.76962 ng/mL y de cuantificación 0.78954 ng/mL. Los resultados se muestran en la **Tabla 6**.

Tabla 6. Corridas con ACN puro

Número de corrida	TR	Área (AU)
1	4.039	13
2	4.032	12
3	3.998	14
4	4.003	14
5	4.007	15
6	3.997	13
7	3.998	14
8	3.999	13
9	4.009	12
10	4.033	15

TR: tiempo de retención

- Promedio de área: 13.5
- Desviación estándar de área: 1.08012

Límite de detección: $13.5 + (3) * DE = 16.7404$

$16.7404 + 275.26 / 379.41 = 0.76962 \text{ ng/mL}$

Límite de cuantificación: $13.5 + (10) * DE = 24.3012$

$24.3012 + 275.26 / 379.41 = 0.78954 \text{ ng/mL}$

Precisión

Se programaron un total de 21 corridas de las concentraciones de 5 a 50 ng/mL de 25OHD3, en donde fue evaluada la repetibilidad del método y la precisión intermedia de las tres concentraciones seleccionadas (Bajo: 5 ng/mL, Medio: 30 ng/mL y Alto: 50 ng/mL de 25OHD3) a partir de tres soluciones stock preparadas en días diferentes. Se obtuvieron porcentajes de varianza menores al 7%, resultados reportados en la **Tabla 7**.

Tabla 7. Resultados de prueba de precisión

Concentración (ng/mL)	PROMEDIO (AU)	DE	% CV
5	1552.933	46.328	2.983
10	3536.666	163.372	4.619
20	7208.166	365.664	5.072
30	11514.400	781.367	6.786
40	14638.833	836.265	5.712
50	18705.666	555.332	2.968

CV: Coeficiente de varianza, DE: desviación estándar. Criterio de aceptación ICH: CV < 10%. Se presenta el promedio por cada concentración de 25OHD3 de todas las corridas que fueron analizadas por nivel.

Robustez

Se realizaron variaciones en la temperatura de la columna (29°C y 31°C) y velocidad de flujo (1 mL/min y 1.4 mL/min) realizadas por triplicado de 50 ng/mL de 25OHD3. Esto con la finalidad de analizar si las modificaciones de estas variables afectan la concentración final de vitamina D. Se tomaron los datos de las cuatro variaciones para realizar un promedio de los datos (**Tabla 8 y 9**).

Tabla 8. Resultados de prueba de robustez

Condición	TR (min)	Área (AU)
1. 29°C – 1.2 mL/min	4.121	16541
2. 31°C – 1.2mL/min	4.052	16617
3. 30°C – 1 mL/min	4.913	19218
4. 30°C – 1.4 mL/min	3.500	18947

TR: tiempo de retención. El área se presenta como promedio.

Tabla 9. Condiciones en prueba de robustez

Condición 1	VB		S* √2		ABS (VB) > S*√2	
	Área	TR	Área	TR	Área	TR
	594.125	-0.018	180.408	0.00707	SI	SI
	600.625	-0.018				
	618.375	-0.017				
Condición 2	Área	TR	Área	TR	Área	TR
	579.875	-0.001	180.408	0.007	SI	NO
	581.625	-0.000				
594.875	-0.001					
Condición 3	Área	TR	Área	TR	Área	TR
	-65.375	-0.216	180.408	0.007	NO	SI
	-62.875	-0.216				
-66.125	-0.216					
Condición 4	Área	TR	Área	TR	Área	TR
	10.375	0.136	180.408	0.007	NO	SI
	-5.625	0.137				
3.625	0.137					

TR: tiempo de retención, VB: diferencia obtenida, ABS: absoluto, S: Desviación estándar de la precisión calculada. SI: si afectan de manera significativa, NO: no afectan de manera significativa.

Exactitud

En la **Tabla 10** se muestran resultados del análisis de exactitud, obteniendo un 95% de recuperación después del pretratamiento de la muestra plasmática.

Tabla 10 . Resultados de prueba de exactitud

Muestra	TR (min)	X (ng/mL)
Control 1	4.0	92
Control 2	4.0	85
Control 3	4.0	81
Fortificada 1	4.0	107
Fortificada 2	4.0	146
Fortificada 3	4.0	121

TR: tiempo de retención. X se presenta como concentración de 25OHD3

Fueron tomados 500 μL de plasma para cada prueba (Control y Fortificada) junto con 1,000 μL de acetonitrilo al 0.1% de ácido fórmico, obteniendo un volumen final de 1.5 mL. El ácido fórmico fue preparado añadiendo 5mL de acetonitrilo de 10 ng/mL de 25OHD3 y 10 μL de ácido fórmico, obteniendo una relación (999:1). Esta metodología fue adaptada a la propuesta por Mathew *et al.*, 2019.

Para el cálculo del porcentaje de recuperación, fue tomado el promedio de las muestras control y el promedio de las muestras fortificadas (86 ng/mL y 124 ng/mL de 25OHD3, respectivamente), divididas entre la concentración final esperada, en este caso de 40 ng/mL de 25OHD3 y multiplicado por 100 para obtener el porcentaje de recuperación, dando como resultado un 95% de recuperación.

$$\% \text{ de Recuperación} = \frac{\text{CF} - \text{CU}}{\text{CA}} \times 100 \longrightarrow \frac{124 - 86}{40} \times 100$$

En donde:

CF: Concentración del analito medida en muestra fortificada

CU: Concentración del analito medida en muestra sin fortificar

CA: Concentración del analito adicionado

Es importante mencionar que, debido al resultado anterior, el 5% faltante fue sumado a las concentraciones de las muestras plasmáticas de la presente investigación para obtener la concentración final de vitamina D.

6.2 Comparar la ausencia y presencia del síndrome metabólico y las características descriptivas en mujeres de 40 a 60 años

La **Tabla 11** describe a la población de estudio de acuerdo con los parámetros del SM, según los Criterios propuestos por la IDF (2005), clasificando en ausencia o presencia. Según el IMC, el grupo sin SM tiene un diagnóstico de sobrepeso con mediana de 25.8 kg/m² mientras que el grupo con SM un diagnóstico de obesidad grado I con mediana de 30.8 kg/m². Puede observarse también, que la mediana de la circunferencia de cintura en ambos grupos es >80 cm, (85.5 cm en el grupo sin SM vs 97.0 cm en el grupo con SM) lo cual es un criterio de SM según la IDF (2005).

En relación con los parámetros bioquímicos, la mediana de glucosa, triglicéridos y c-HDL sérico en el grupo sin SM fue de 86.0 mg/dL, 105.0 mg/dL y 35.0 mg/dL, respectivamente. Mientras dichos niveles fueron 98.0 mg/dL, 164.0 mg/dL y 32.0 mg/dL, a correspondencia, en el grupo con SM. Se encontró que, en ambos grupos, los niveles séricos de c-HDL fueron menores a 50 mg/dL, lo cual es un criterio de SM según la IDF (2005).

La mediana de la presión arterial sistólica en el grupo sin SM fue 109.0 mmHg y la diastólica de 68.0 mmHg. En el grupo con SM, la mediana fue mayor que el grupo sin SM, 123.0 mmHg, para sistólica y 79.0 mmHg en diastólica.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre grupos en todos los parámetros del SM.

La **Tabla 12** describe la ingesta dietética de vitamina D y la concentración plasmática de vitamina D. La mediana de la ingesta dietética de vitamina D en ambos grupos fue deficiente (194.0 UI/día en mujeres sin SM vs. 120.3 UI/día en aquellas con SM). Además, ambos grupos presentan niveles plasmáticos de vitamina D en deficiencia, según la Sociedad de Endocrinología (17.2 ng/mL en el

grupo sin SM vs 9.0 ng/mL en el grupo con SM) con diferencias estadísticamente significativas.

La ingesta diaria sugerida para la población adulta mexicana es de 10 µg/día (400 UI/día), Bourges *et al.*, 2018. De las participantes ($n = 202$) solamente 11 mujeres sin SM cubrían el requerimiento dietético, así como 11 mujeres con SM cubrían el requerimiento diario de vitamina D (**Tabla 13**).

Tabla 11. Parámetros descriptivos del SM en las mujeres de 40 a 60 años

Parámetro	Sin SM (n=81)	Con SM (n=121)	p
Edad	50.0 (45.5 - 53.0)	51.0 (47.0 - 55.0)	0.129
IMC (kg/m ²)	25.8 (23.2 - 29.4)	30.8 (27.7 - 34.8)	< 0.001**
CC (cm)	85.5 (76.0 - 92.0)	97.0 (91.2 - 105.8)	< 0.001**
Glucosa (mg/dL)	86.0 (82.0 - 95.0)	98.0 (89.0 - 109.0)	< 0.001**
Triglicéridos (mg/dL)	105.0 (91.5 - 128.0)	164.0 (132.0 - 217.0)	< 0.001**
Colesterol HDL (mg/dL)	35.0 (29.1 - 47.9)	32.0 (27.5 - 37.7)	0.006*
PAS (mmHg)	109.0 (101.5 - 115.0)	123.0 (115.0 - 135.5)	< 0.001**
PAD (mmHg)	68.0 (63.0 - 73.0)	79.0 (69.0 - 86.0)	< 0.001**

CC: circunferencia de cintura. PAS: Presión arterial sistólica. PAD: Presión arterial diastólica. Los valores se muestran en mediana y Q1, Q3. Análisis estadístico realizado por U-Mann Whitney $p < 0.05^*$, $p < 0.001^{**}$

Tabla 12. Ingesta dietética de vitamina D y niveles plasmáticos de 25OHD3

Parámetro	Sin SM (n=81)	Con SM (n=121)	p
Ingesta dietética vitamina D (UI/día)	194.0 (97.3 - 336.5)	120.3 (81.4 - 231.4)	0.010*
Niveles plasmáticos 25OHD3 (ng/mL)	17.2 (5.9 - 29.3)	9.0 (3.3 - 20.4)	0.003*

Los valores se muestran en mediana y Q1, Q3. Análisis estadístico realizado por U-Mann Whitney $p < 0.05^*$

Tabla 13. Análisis de ingesta dietética de vitamina D

Parámetro	Sin SM (n=81)	Con SM (n=121)	p
IDR >10 µg/día	70 (86.4%)	110 (90.9%)	0.315
IDR 10 µg/día	11 (13.5%)	11 (9.09%)	

La ingesta diaria recomendada de vitamina D 10 µg/día (400 UI/día) Bourges (2018). Análisis estadístico realizado por Chi², Tablas cruzadas $p < 0.05^*$.

La **Tabla 14** muestra la clasificación de las mujeres según su etapa de envejecimiento reproductivo (STRAW+10 Stages of Reproductive Aging Workshop). Un 63.9% de las participantes del estudio se encontraba en postmenopausia, el 14.9% en etapa reproductiva, 9.9% en transición menopáusica temprana y el 11.4% en transición menopáusica tardía.

Tabla 14. Etapa perimenopáusica

Etapa	Frecuencia y porcentaje
Reproductiva	30 (14.9%)
Transición temprana	20 (9.9%)
Transición tardía	23 (11.4%)
Postmenopausia	129 (63.9%)

Análisis estadístico realizado por Frecuencias.

La temporalidad en la toma de las muestras sanguíneas se asoció significativamente a las concentraciones plasmáticas de vitamina D ($p = 0.021$). La **Tabla 15** muestra la asociación de la temporalidad en que fueron obtenidas las muestras de sangre y los niveles de vitamina D (deficiencia, insuficiencia, suficiencia). La mayoría de las muestras fueron tomadas en verano (59.4%), seguido de primavera (17.8%). Similarmente, se encontró una mayor ocurrencia de niveles de suficiencia de vitamina D plasmática en las estaciones antes mencionadas, 62.2% y 18.9% respectivamente.

Tabla 15. Asociación de niveles plasmáticos de vitamina D y la temporalidad de la extracción sanguínea

Temporalidad	Niveles plasmáticos vitamina D			Total	p
	1	2	3		
Primavera	28 (20.4%)	1 (3.6%)	7 (18.9%)	n=36 (17.8%)	0.021*
Verano	79 (57.7%)	18 (64.3%)	23 (62.2%)	n=120 (59.4%)	
Otoño	16 (11.7%)	9 (32.1%)	6 (16.2%)	n=31 (15.3%)	
Invierno	14 (10.2%)	0 (0%)	1 (2.7%)	n=15 (7.4%)	

Se agrupó por niveles de vitamina D (Sociedad de Endocrinología). Grupo 1: deficiencia: < 20 ng/mL; Grupo 2: insuficiencia: 21-29 ng/mL y Grupo 3: suficiencia: > 30 ng/mL. Los valores se muestran en frecuencias. Análisis estadístico realizado por Chi², Tablas cruzadas $p < 0.05^*$.

6.3 Analizar asociaciones de los niveles de vitamina D en plasma en mujeres de 40 a 60 años con presencia y ausencia del síndrome metabólico

Las participantes fueron agrupadas con relación al SM (presencia o ausencia) y la concentración plasmática de vitamina D (1: deficiencia: <20 ng/mL, 2: insuficiencia: 21- 29 ng/mL y 3: suficiencia: >30 ng/mL) **(Tabla 16)**.

A través del análisis de asociación, se evidencia que todos los parámetros del SM (glucosa, triglicéridos, c-HDL, circunferencia de cintura, IMC, y presión arterial) son factores independientes de la concentración plasmática de vitamina D. Cuando es considerado el diagnóstico de presencia del SM, se observa una asociación entre los niveles plasmáticos deficientes de vitamina D y la presencia del SM ($p = 0.023$) **(Tabla 16)**.

Se sugiere que no existe un factor de riesgo de presentar síndrome metabólico dependiente de los niveles plasmáticos de vitamina D **(Tabla 17)**.

Tabla 16. Vitamina D plasmática y parámetros del SM

Parámetro (n,%)	Niveles plasmáticos vitamina D			Total	p
	1	2	3		
Glucosa Normal	93 (67.9%)	23 (82.1%)	25 (67.6%)	141 (69.8%)	0.309
≥ 100 mg/dL o tx fx	44 (32.1%)	5 (17.9%)	12 (32.4%)	61 (30.2%)	
c-HDL Normal	12 (8.8%)	2 (7.1%)	3 (8.1%)	17 (8.4%)	0.959
<50 mg/dL	125 (91.2%)	26 (92.9%)	34 (91.9%)	185 (91.6%)	
Triglicéridos Normal	79 (57.7%)	16 (57.1%)	24 (64.9%)	119 (58.9%)	0.717
≥ 150 mg/dL o tx fx	58 (42.3%)	12 (42.9%)	13 (35.1%)	83 (41.1%)	
CC Normal	20 (14.6%)	9 (32.1%)	8 (21.6%)	37 (18.3%)	0.078
≥ 80 cm	117 (85.4%)	19 (67.9%)	29 (78.4%)	165 (81.7%)	
Presión Arterial Normal	86 (62.8%)	19 (67.9%)	31 (83.8%)	136 (67.3%)	0.054
≥ 130/85 mmHg o tx fx	51 (37.2%)	9 (32.1%)	6 (16.2%)	66 (32.7%)	
IMC (kg/m²) Normopeso	24 (17.5%)	7 (25.0%)	10 (27.0%)	41 (20.3%)	0.573
Sobrepeso	52 (38.0%)	8 (26.6%)	14 (37.8%)	74 (36.6%)	
Obesidad	61 (44.5%)	13 (46.4%)	13 (35.1%)	87 (43.1%)	
Síndrome Metabólico No	46 (33.6%)	15 (53.6%)	20 (54.1%)	81 (40.1%)	0.023*
Sí	91 (66.4%)	13 (46.4%)	17 (45.9%)	121 (59.9%)	

Tx fx: tratamiento farmacológico, CC: circunferencia de cintura, c-HDL: colesterol HDL. Se agrupó por niveles de vitamina D (Sociedad de Endocrinología) Grupo 1: deficiencia: <20 ng/mL; Grupo 2: insuficiencia: 21-29 ng/mL y Grupo 3: suficiencia: > 30 ng/mL. Los datos se reportan en frecuencias. Análisis estadístico realizado por Chi², Tablas cruzadas $p < 0.05^*$.

Tabla 17. Factores analizados en Regresión Logística Binaria

Variable	B	p	Exp (B)	95% IC Exp (B)	
				Inferior	Superior
Glucosa (mg/dL)	67.909	0.981	3,109E+29	0.000	
Circunferencia de cintura (cm)	79.596	0.981	3,700E+34	0.000	
Presión arterial (mmHg)	94.076	0.980	7.187E+40	0.000	
Colesterol HDL (mg/dL)	91.601	0.981	6.053E+39	0.000	
Triglicéridos (mg/dL)	81.602	0.980	2,749E+35	0.000	
IMC (kg/m ²)	0.393	0.795	1.481	0.077	28.496
Ingesta dietética vitamina D (UI/día)	-18.349	1.000	.000	0.000	
Niveles plasmáticos vitamina D (ng/mL)	-24.183	0.984	.000	0.000	

Análisis estadístico realizado por Regresión Logística Binaria $p < 0.05^*$.

7. DISCUSIÓN

7.1 VALIDACIÓN DEL MÉTODO CROMATOGRÁFICO

Se validó un método cromatográfico HPLC para cuantificar 25OHD3 en plasma, a partir de pruebas de la linealidad, límites de detección y cuantificación, exactitud y robustez. El coeficiente de determinación ($R^2 = 0.9989$) calculado fue apropiado en comparación con un estudio realizado por Le *et al.* (2018) que sugieren un R^2 debería ser mayor a 0.99 al considerar este metabolito.

Los límites de detección y cuantificación fueron reportados <1 ng/mL (0.76 ng/mL y 0.78 ng/mL, respectivamente). Un estudio realizado en Japón que analizó diferentes metabolitos de vitamina D, calcularon un límite de detección aún más bajo en 0.31 ng/mL y un límite de cuantificación de 0.86 ng/mL (Mochizuki *et al.*, 2013).

Con el objetivo de demostrar que el método propuesto es confiable y preciso, se obtuvieron porcentajes de varianza (%CV) menores al 10%, lo cual es un criterio establecido por ICH Harmonised (2005). Sin embargo, existen investigaciones que cuentan con una mayor varianza; Wang *et al.* (2011) reportaron de 1.0% hasta 13.8%. En otro estudio más reciente realizado en el 2015 reportaron de 3.6% hasta un 15.1% de varianza (Lee *et al.*, 2015).

Pequeñas variaciones en las condiciones cromatográficas ya establecidas (30°C en la columna C18 y flujo 1.2 mL/min) demostraron que causaban un efecto negativo en las lecturas cromatográficas y por tanto del cálculo de la concentración final de vitamina D cuando la temperatura disminuía en 1°C (a 29°C) o aumentaba en 1°C (a 31°C). De la misma manera, se afectó de manera significativa el tiempo de retención cuando el flujo disminuyó a 1 mL/min y cuando aumentó a 1.4 mL/min, según la fórmula propuesta por Quattrocchi (1992). Ha sido mencionado que incrementar la velocidad de flujo de 1 a 1.5 mL/min puede ser ventajoso ya que el tiempo total de análisis puede reducirse (Tariq *et al.*, 2012), sin embargo, en la presente investigación, se decidió establecer una velocidad de flujo de 1.2 mL/min

y con una lectura a 30°C, puesto que el pico de vitamina D no se veía interferido por otro metabolito presente en la muestra plasmática.

Finalmente, la exactitud puede verse afectada por diversos factores, ya sea por el solvente utilizado para la extracción de vitamina D, el método de extracción (extracción líquida-líquida, extracción en fase sólida y extracción líquida soportada), la fuerza en la centrifuga, entre otros. Es reportada que varía desde un 40% hasta >100% (Mathew *et al.*, 2019 ; Alexandridou & Volmer, 2022). En la presente investigación, se optó por utilizar acetonitrilo con ácido fórmico al 0.1%. El ácido fórmico permitió obtener un mayor porcentaje de recuperación al momento de extraer el metabolito de interés de la muestra plasmática, se observaba en el cromatógrafo una mejor resolución del pico de 25OHD3 y los picos que se hacían antes del tiempo de retención de vitamina D no interfirieron por corrida. Pudo observarse también que, al usar ácido fórmico como solvente en la preparación plasmática, permitía que no se fragmentara el pico de vitamina D en diferentes minutos en el cromatógrafo, lo que se deduce que se aseguraba una des-proteinización de la muestra correctamente.

7.2 NIVELES PLASMÁTICOS DE VITAMINA D Y SÍNDROME METABÓLICO

Se estudió una muestra de 202 participantes femeninas agrupando por etapa de envejecimiento reproductivo y considerando la presencia del SM.

La prevalencia de hipovitaminosis D en la presente investigación fue alta para ambos grupos. De las participantes, un 67.8% (n=137) presentó deficiencia, 13.9% (n=28) insuficiencia y solamente el 18.3% (n=37) presentó niveles de suficiencia de vitamina D. En el grupo sin SM el 24.7% (n=20) de las mujeres presentaron niveles de suficiencia y con SM un 14.0% (n=17). La prevalencia del SM fue de 59.9% (n=121) y sin SM 40.1% (N=81). En un estudio observacional con una población de 463 de mujeres postmenopáusicas de 45 a 75 años con SM, reportaron un 35.4% (n=164) en deficiencia, 32.6% (n=151) en insuficiencia y 32% (n=148) en suficiencia (Schmitt *et al.*, 2018). Se ha reportado una asociación positiva con la presencia del SM y la deficiencia de vitamina D plasmática en mujeres.

Se reportó una ingesta dietética de vitamina D deficiente en ambos grupos de mujeres (194.0 UI/día sin SM y 120.3 UI/día con SM). Similar a lo reportado en un estudio de adultos en Brasil con SM, la ingesta dietética de vitamina D tampoco fue asociada con la presencia de SM y semejante a los resultados de esta investigación, no lograron el requerimiento de ingesta dietética de vitamina D (70.4 IU/día) (Silveira *et al.*, 2021). Una posible explicación para esto puede ser que obtener suficiente aporte de vitamina D por parte de los alimentos es dificultoso, ya que su contenido es variable por alimento (Kennel *et al.*, 2010). Asimismo, son limitados los alimentos que son ricos en este nutriente (Cashman & Kiely, 2014 ; González & Rodríguez, 2014). Ha sido mencionado, que la exposición solar tiene una mayor influencia sobre los valores séricos de vitamina D. Se estima que del 80% al 90% de la vitamina D se obtiene a través de la exposición solar, haciendo un menor énfasis en su obtención a partir de la alimentación (Holick *et al.*, 2011 ; Trehan *et al.*, 2017). En esta investigación, una variable que se asoció a lo antes mencionado es la temporalidad en la toma de la muestra sanguínea. Se observó una mayor frecuencia de niveles plasmáticos de suficiencia en aquellas muestras sanguíneas que fueron tomadas en verano (62.2%), seguido de primavera (18.9%).

En relación con los parámetros del SM, existe evidencia sobre la participación del calcitriol y la regulación de glucosa e insulina (Loya *et al.*, 2011; Moliné *et al.*, 2017 ; Acosta *et al.*, 2017). En un estudio con mujeres de 50 a 59 años de Cuba, se reportó una asociación entre los niveles elevados de glucosa sérica (>100 mg/dL) y los niveles deficientes de vitamina D sérica ($p = 0.013$) (Acosta *et al.*, 2017). En la presente investigación, se reportó que aquellas mujeres que presentan glucosa sérica normal (<100 mg/dL) presentan en mayor proporción niveles de suficiencia de vitamina D (67.6%) a comparación de aquellas con hiperglucemia (32.4%), sin embargo, no fue asociada de manera significativa ($p = 0.309$).

La hipertrigliceridemia (≥ 150 mg/dL) no se asoció significativamente con los niveles plasmáticos de vitamina D. Sin embargo, en una investigación de mujeres mayores de 20 años de Perú, reportaron que la hipovitaminosis D incrementa hasta cuatro veces más el riesgo de presentar triglicéridos elevados (OR 4.07, IC 95%:1.8 - 9.3) (Pajuelo *et al.*, 2018). Esto podría deberse a que la deficiencia sérica de vitamina D puede afectar el metabolismo de las grasas y provocar un aumento de triglicéridos, acompañado de niveles disminuidos de colesterol HDL (Karnchanasorn *et al.*, 2012).

El colesterol HDL no se asoció con los niveles plasmáticos de vitamina D, probablemente porque en ambos grupos se presentó una hipocolesterolemia HDL (<50 mg/dL). A diferencia de otro estudio en Brasil, donde el colesterol HDL se asoció como factor protector de la hipovitaminosis D y fue reportada la asociación de los niveles séricos de vitamina D y el SM (OR 0.713, IC 95%: 0.526 - 0.966, $p = 0.029$) (Silveira *et al.*, 2021). Es importante mencionar, que las mujeres postmenopáusicas tienen un mayor riesgo de presentar niveles bajos de colesterol HDL lo cual incrementa el factor de riesgo de presentar SM (Balas *et al.*, 2007).

La circunferencia de cintura elevada se ha relacionado con niveles séricos deficientes de vitamina D (Rodríguez-Rodríguez *et al.*, 2009; Mendoza-Zubieta *et al.*, 2011 ; Acosta *et al.*, 2017). Un estudio en mujeres pre y postmenopáusicas, reportó que una circunferencia de cintura >88 cm incrementaba hasta quince veces

el riesgo de presentar una deficiencia de vitamina D ($p < 0.001$) (Ramírez *et al.*, 2019). Otro estudio reportó diferencias significativas en sujetos sin déficit de vitamina D plasmática con un menor perímetro de cintura ($p = 0.012$) (Gradillas-García *et al.*, 2015). En la presente investigación, la mediana de la circunferencia de cintura fue reportada >80 cm en ambos grupos, pero no se asoció con los niveles plasmáticos de vitamina D ($p = 0.309$). Sin embargo, pudo observarse una mayor frecuencia de deficiencia de vitamina D plasmática en mujeres con una circunferencia ≥ 80 cm (85.4%) a comparación de aquellas con una circunferencia de cintura <80 cm (14.6%).

El IMC de las participantes no se asoció con los niveles plasmáticos de vitamina D, resultado similar a otras investigaciones. En un estudio de mujeres de 20 a 80 años de Estados Unidos, los niveles séricos de vitamina D e IMC no se asociaron significativamente ($p > 0.05$) (Arunabh *et al.*, 2003). En otra investigación de mujeres mayores de 30 años en la Ciudad de Buenos Aires, tampoco fueron encontradas diferencias significativas entre grupos ($p > 0.05$) (Arévalo *et al.*, 2009). En Brasil, adultos de 18 a 65 años con presencia de obesidad (≥ 35 kg/m²,) tampoco fueron reportadas asociaciones con significancia ($p = 0.212$) (Silveira *et al.*, 2021). Arunabh *et al.* (2003) reportaron que los niveles séricos de vitamina D se asociaron al porcentaje de grasa corporal ($p = 0.011$) a comparación del IMC (NS), esto podría deberse a que es considerada la adiposidad y no solamente la masa corporal.

Las medianas de la presión arterial en ambos grupos fueron reportadas normales, aunque en el grupo con SM existían mujeres que tenían tratamiento farmacológico para la hipertensión arterial y por lo tanto se presentaban valores normales. Existe evidencia sobre la relación de los niveles séricos deficientes de vitamina D y el desarrollo de la hipertensión arterial (Oliveri *et al.*, 2016; Castro *et al.*, 2016). La asociación puede deberse al calcitriol que inhibe la síntesis de la hormona renina (Barberán *et al.*, 2014) lo que provoca un aumento de la presión arterial (Moyano *et al.*, 2012). En la presente investigación, los niveles de vitamina D no se asociaron con la presencia de hipertensión arterial ($p = 0.054$), resultado

similar a un estudio reciente en mujeres adultas de Paraguay con obesidad que reportó que no existió una asociación entre el déficit de vitamina D y la presencia de la hipertensión arterial (Careaga *et al.*, 2021). Sin embargo, en otra investigación de mujeres postmenopáusicas de Colombia, reportó que la deficiencia sérica de vitamina D era un factor de riesgo para la presencia de hipertensión arterial y podía incrementarse hasta tres veces el riesgo de padecerla (OR 1.47, IC: 1.36 - 1.58) (Molina *et al.*, 2011). En la presente investigación, la deficiencia de vitamina D no es un factor de riesgo de presentar SM ($p = 0.984$).

Los resultados de esta investigación reportan que existe una asociación entre la presencia del SM y los niveles plasmáticos de vitamina D. Pudo observarse que existe una mayor prevalencia de presentar una mayor glucemia en ayuno, mayor circunferencia de cintura, valores elevados de presión arterial y niveles bajos de colesterol HDL en presencia de deficiencia de vitamina D, a pesar de no reportarse significancia estadística. El diagnóstico del SM se caracteriza por la presencia de obesidad abdominal, hipertensión arterial, resistencia a la insulina y dislipidemia aterogénica (McCracken *et al.*, 2018). Los resultados de esta investigación reportaron que en ambos grupos existió una circunferencia de cintura ≥ 80 cm, parámetro directo de obesidad central y en presencia de obesidad existe una mayor prevalencia de hipovitaminosis D (Vranić *et al.*, 2019) y su etiología es multifactorial. Lo anterior puede deberse a una exposición solar limitada en personas con obesidad a comparación de personas con normopeso, diferencia que se encuentra mayormente en verano (Bolland *et al.*, 2007). Asimismo, ha sido reportado que la vitamina D es almacenada en el tejido adiposo y en presencia de obesidad disminuye su biodisponibilidad en el tejido (Wortsman *et al.*, 2000), así como el consumo de algunos fármacos, como las estatinas, impacta sobre los niveles séricos del calcidiol (Palacios-Flores *et al.*, 2016).

8. CONCLUSIÓN

1. El método propuesto cumplió con los criterios establecidos y por lo tanto es confiable, robusto, preciso y reproducible para la cuantificación de vitamina D plasmática.
2. La prevalencia de SM de las participantes del estudio fue de 59.9%.
3. La prevalencia de hipovitaminosis D en la población fue alta. Se encontraron niveles plasmáticos de deficiencia para ambos grupos, reportándose la mediana en el grupo sin SM de 17.2 ng/mL y con SM de 9.0 ng/mL.
4. El 22.5% de las participantes cubrían el requerimiento de la ingesta diaria recomendada de vitamina D para la población mexicana. El 13.5% en las mujeres sin SM y el 9.09% en el grupo con SM.
5. Fueron encontradas diferencias significativas entre grupos para los niveles plasmáticos de vitamina D y la ingesta dietética de vitamina D.
6. No se encontró una asociación entre los parámetros del SM y los niveles plasmáticos de vitamina D.
7. Se encontró una asociación significativa entre los niveles plasmáticos de vitamina D y la presencia del SM en las mujeres.

9. REFERENCIAS

Acosta, A., Barreto, L.C., Socorro, C., Domínguez, E., Navarro, D., Cabrera, M., García, Y. (2017). La vitamina D y su relación con algunos elementos del síndrome metabólico en población de edad mediana. *Revista Cubana de Endocrinología*, 28(2).

Agborsangaya, C., Toriola, A.T., Grankvist, K., Surcel, H.M., Holl, K., Parkkila, S., ... & Lehtinen, M. (2010). The effects of storage time and sampling season on the stability of serum 25-hydroxyvitamin D and androstenedione. *Nutrition and cancer*, 62(1), 51-57.

Aguilera, J.R., Ríos, P.G., Zepeda, A.S. (2015). Calcio y vitamina D en la paciente climatérica. *Perinatología y Reproducción Humana*, 29(2), 83–87. doi: 10.1016/j.rprh.2015.01.002

Alexandridou, A., & Volmer, D. A. (2022). Sample preparation techniques for extraction of vitamin D metabolites from non-conventional biological sample matrices prior to LC–MS/MS analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 1-20.

Antonucci D.M., Black D.M., Sellmeyer, D.E. (2005). Serum 25-Hydroxyvitamin is unaffected by multiple freeze–thaw cycles. *Clin Chem*, 51, 258–261.

Aquino, A., Ojeda, A., Colman, N., Yinde, Y., Acosta, M. E., Colmán, I. A., Duarte, M. (2013). Déficit de vitamina D en pacientes post-menopáusicas y su relación con el metabolismo fosfocálcico y la osteoporosis. *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*, 11(1).

Arellano, G., Marín, E., Jonguitud, D.V., Domínguez, L.G. (2020). Prevalencia de la hipovitaminosis D en una población socioeconómica alta y su asociación con diferentes entidades nosológicas. *Acta Médica Grupo Ángeles*, 18(1), 11-16.

Arévalo, C. E., Núñez, M., Barcia, R. E., Sarandria, P., & Miyazato, M. (2009). Déficit de vitamina D en mujeres adultas de la Ciudad de Buenos Aires. *Medicina*, 69(6), 635-639.

Arunabh, S., Pollack, S., Yeh, J., & Aloia, J. F. (2003). Body fat content and 25-hydroxyvitamin D levels in healthy women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88(1), 157-161.

Balas, M., Perichart, O., Pandoja, L., Rodríguez, A., & Ortiz, G. (2007). Evaluación nutricional en mujeres mexicanas posmenopáusicas con síndrome metabólico. *Ginecología y Obstetricia de México*, 75(9).

Barberán, M., Aguilera, G., Brunet, L., Maldonado, F. (2014). Déficit de vitamina D. Revisión epidemiológica actual. *Rev Hosp Clín Univ Chile*, 25, 127-34.

Bolland, M. J.; Grey, A. B.; Ames, R. W.; Mason, B. H.; Horne, A. M.; Gamble, G.D. & Reid, I. R. (2007). The effects of seasonal variation of 25-hydroxyvitamin D and fat mass on a diagnosis of vitamin D sufficiency. *Am. J. Clin. Nutr.* 86, 959–964

Bordallo, C.F., Saavedra, M.S. (2011). Controversias en la medición de 25 (OH) Vitamina D: comparación de dos metodologías. *Revista argentina de endocrinología y metabolismo*, 48(2), 69-77.

Bourges, H., Flores, M., Solomons, N., Eggersdorfer, M., & Gallagher, C. (2018). La vitamina D, nutrimento clave para la salud humana, y su estado general en la población mexicana. *Salud pública de México*, 60, 375-376.

Brunetto, M. R., Obando, M. A., Gallignani, M., Alarcón, O. M., Nieto, E., Salinas, R., ... & Burguera, M. (2004). HPLC determination of Vitamin D3 and its metabolite in human plasma with on-line sample cleanup. *Talanta*, 64(5), 1364-1370.

Campos I., Aguilar, C.A., Mendoza, K., Pedroza, A., Rojas, R., Barquera, S. (2020). Prevalence and Trends of Metabolic Syndrome in Mexican Adults: Data of the National Health and Nutrition Surveys 2006 and 2016. doi: 10.21203/rs.3.rs-72797/v1

Canto, T. (2006). Los síntomas en la menopausia. *Revista de Endocrinología y Nutrición*, 14(3), 141-148.

Careaga, M. L., Invernizzi-Prats, J. M., Ruiz, A. G., & Fretes, A. M. E. (2021). Frecuencia de deficiencia de vitamina D en obesos. *Revista Virtual de la Sociedad Paraguaya de Medicina Interna*, 8(1), 46-51.

Cashman, K. D., & Kiely, M. (2014). Recommended dietary intakes for vitamin D: where do they come from, what do they achieve and how can we meet them?. *Journal of human nutrition and dietetics*, 27(5), 434-442.

Castro, Y., Fleites, A., Carmona, R., Vega, M., & Santiestebán, I. (2016). Déficit de la vitamina D e hipertensión arterial. Evidencias a favor. *Revista Colombiana de Cardiología*, 23(1), 42-48.

Chacko, S.A., Song, Y., Manson, J.E., Van, L., Eaton, C., Martin, L.W. (2011). Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in relation to cardiometabolic risk factors and metabolic syndrome in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*, 94 (1), 209–17.

Charoenngam, N., Shirvani, A., Holick, M. F. (2019). Vitamin D for skeletal and non-skeletal health: What we should know. *Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma*, 10(6), 1082–1093. doi:10.1016/j.jcot.2019.07.004

Contreras, É. A., García, J.S. (2011). Obesidad, síndrome metabólico y su impacto en las enfermedades cardiovasculares. *Revista biomédica*, 22(3), 103-115.

Dadoniene, J., Cypiene, A., Rinkūnienė, E., Badariene, J., Laucevicius, A. (2018). Vitamin D, cardiovascular and bone health in postmenopausal women with metabolic syndrome. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 27(11), 1555-1560.

Encuesta Nacional de Ingesta Dietética (ENIDE). (2012). EVALUACIÓN NUTRICIONAL DE LA DIETA ESPAÑOLA. I ENERGÍA Y MACRONUTRIENTES Sobre datos de la Encuesta Nacional de Ingesta Dietética.

Garaulet, M., Portillo, M.P., Pérez, F., Cuadrado, C., Leis, M.R., Moreno, M.J. (2008). Obesidad y ciclos de vida del adulto. *Revista española de nutrición comunitaria*, 14(3), 150-155.

Gilaberte, Y., Aguilera, J., Carrascosa, J. M., Figueroa, F. L., Romaní, J., Nagore, E. (2011). La vitamina D: evidencias y controversias. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 102(8), 572–588. doi:10.1016/j.ad.2011.03.015

González, I., Rojo, G., Morcillo, S., Pérez, V., Rubio, E., Gutierrez, C., Soriguer, F. (2014). Relación entre déficit de vitamina D y síndrome metabólico. *Medicina Clínica*, 142(11), 473–477. doi: 10.1016/j.medcli.2013.05.049

González, L.G., Rodríguez, E. (2014). Situación en vitamina D y estrategias para alcanzar las ingestas recomendadas. *Nutrición Hospitalaria*, 30(2), 39-46.

Górriz S., Estela P.L. (2014). Influencia del inmunoensayo empleado en la determinación de vitamina D sérica. *Endocrinología y Nutrición*, 61(3), 123–129. doi: 10.1016/j.endonu.2013.04.015

Gradillas-García, A., Álvarez, J., Rubio, J.A., Abajo, F. (2015). Relación entre el déficit de vitamina D y el síndrome metabólico en población adulta de la Comunidad de Madrid. *Endocrinología y Nutrición*, 62(4), 180-187. doi.org/10.1016/j.endonu.2014.12.008

Grundy S. M., Brewer H.B., Cleeman J. I., Smith S. C., Lenfant, C. (2004). Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation*, 109(3), 433-438. doi: 10.1161/01.cir.0000111245.75752.c6

Guzmán, R., González, A., Aschner, P., Bastarrachea, R. (2010). Epidemiología, diagnóstico, control, prevención y tratamiento del síndrome metabólico en adultos. *Consensos ALAD*, 18 (1).

Herranz, S., García, M. C., Álvarez, V. (2010). Concentraciones deficientes de vitamina D en pacientes con obesidad mórbida. Estudio de caso-control. *Endocrinología y Nutrición*, 57(6), 256–261. doi: 10.1016/j.endonu.2010.04.003

Holick, M. F., Binkley, N. C., Bischoff-Ferrari, H. A., Gordon, C. M., Hanley, D. A., Heaney, R. P., ... Weaver, C. M. (2011). Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 96(7), 1911-1930.

ICH Harmonised Tripartite Guideline. (2005). Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology.

Iglesias, E. M., Granada, M. L., Doladé, M., Martínez J. B., Hidalgo, I., Pastor, M. C. (2013). Comparación de las concentraciones de vitamina D por 3 métodos comerciales. *Revista Del Laboratorio Clínico*, 6(1), 2–9. doi: 10.1016/j.labcli.2012.05.003

Inostroza, G., Francino, G., Jiménez, S. (2019). ¿Cómo influye la vitamina D en la composición corporal, sarcopenia y sobrevida en las personas mayores? Un estudio retrospectivo de nueve años. *Nutrición Hospitalaria*, 36(5), 1067-1073. doi: 10.20960/nh.02571

Karnchanasorn, R., Ou, H. Y., & Chiu, K. C. (2012). Plasma 25-hydroxyvitamin D levels are favorably associated with β -cell function. *Pancreas*, 41(6), 863-868.

Kazlauskaite, R., Powell L., Mandapakala, C., Cursio, J., Avery, F.E, Calvin, J. (2010). Vitamin D is associated with atheroprotective high-density lipoprotein profile in postmenopausal women. *Journal of Clinical Lipidology*, 4(2), 113–119. doi:10.1016/j.jacl.2010.01.006

Kennel, K. A., Drake, M. T., Hurley, D. L. (2010). Vitamin D deficiency in adults: when to test and how to treat. *Mayo Clinic proceedings*, 85(8), 752–758. doi.org/10.4065/mcp.2010.0138

Kirk, R. S., Sawyer, R. S., Egan, H. (2017). *Composición y análisis de alimentos de Pearson* (2.^a ed.). Grupo Editorial Patria S.A. de C.V.

Lara, A. C. (2022). Asociación de la ingesta y suplementación de componentes funcionales con la densidad mineral ósea y síndrome metabólico en mujeres de 40 a 60 años de Monterrey, NL. *Eprints, Universidad Autónoma de Nuevo León*.

Larroudé, M.S., Moggia, M. S., Lichtcajer, G., Pérez, M., Man, Z. (2012). Déficit de vitamina D en mujeres osteoporóticas postmenopáusicas con sobrepeso/obesidad. *Actual Osteol*, 8, 150-7.

Le, J., Yuan, T. F., Zhang, Y., Wang, S. T., & Li. Y. (2018). New LC-MS/MS method with single-step pretreatment analyzes fat-soluble vitamins in plasma and amniotic fluid. *Journal of lipid research*, 59 (9), 1783-1790.

Lee, D., Garrett, T. J., Goldberger, B. A., & Bazydlo, L. A. (2015). Quantitation of 25-hydroxyvitamin D₂ and D₃ in serum and plasma by LCMS/MS. *Bioanalysis*, 7(2), 167-178.

Lizarzaburu, J. C. (2013). Síndrome metabólico: concepto y aplicación práctica. *In Anales de la Facultad de Medicina*, 74(4), 315-320.

Loya, G. M., Godínez, S. A., Chiquete, E., Valerdi, L., Sánchez, T. V. (2011). Niveles de vitamina D en pacientes con sobrepeso y obesidad y su asociación con resistencia a la insulina. *Revista de endocrinología y nutrición*, 19(4), 140-5.

Martin, A. D., Fainman, C., Daniel, M. (1993). Hormonas sexuales y distribución del tejido adiposo en mujeres fumadoras premenopáusicas. *Actualización en Ciencias del Deporte*, 21(4).

Martínez, G., Alonso, R., Novik, V. (2009). Síndrome metabólico: Bases clínicas y fisiopatológicas para un enfoque terapéutico racional. *Revista médica de Chile*, 137(5), 685-694.

Martínez, G.T. (2012). Laboratorio clínico y nutrición (1.a ed.). DF, México: Editorial El Manual Moderno.

Mata-Granados, J. M., de Castro, M. L., & Gomez, J. Q. (2008). Inappropriate serum levels of retinol, α -tocopherol, 25 hydroxyvitamin D₃ and 24, 25 dihydroxyvitamin D₃ levels in healthy Spanish adults: Simultaneous assessment by HPLC. *Clinical biochemistry*, 41(9), 676-680.

Mathew, E. M., Moorkoth, S., Rane, P. D., Lewis, L., & Rao, P. (2019). Cost-effective HPLC-UV method for quantification of Vitamin D2 and D3 in dried blood spot: A potential adjunct to newborn screening for prophylaxis of intractable paediatric seizures. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 67(2), 88-95.

McCracken, E., Monaghan, M., & Sreenivasan, S. (2018). Pathophysiology of the metabolic syndrome. *Clinics in dermatology*, 36(1), 14-20.

Mendoza-Zubieta, V., Reza-Albarrán, A. (2011). Vitamina D, obesidad y resistencia a la insulina: Un triángulo no tan amoroso. *Revista de Endocrinología y Nutrición*, 19(4), 136-139.

México. Secretaria de Salud. Dirección General de Planeación y Desarrollo en Salud. Guía para el manejo de los residuos peligrosos biológico infecciosos en unidades de salud. (2003). México. Secretaria de Salud.

Miguel-Soca, P.E., Niño, A. (2009). Consecuencias de la obesidad. *Acimed*, 20(4), 84-92.

Mochizuki, A., Kodera, Y., Saito, T., Satoh, M., Sogawa, K., Nishimura, M., ... & Nomura, F. (2013). Preanalytical evaluation of serum 25-hydroxyvitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D2 measurements using LC–MS/MS. *Clinica Chimica Acta*, 420, 114-120.

Molina, J. F., Molina, J., Escobar, J.A., Betancur, J.F., Giraldo, A. (2011). Niveles de 25 hidroxivitamina D y su correlación clínica con diferentes variables metabólicas y cardiovasculares en una población de mujeres posmenopáusicas. *Acta Médica Colombiana*, 36(1), 18-23.

Moliné, M. E., Carías, D., Barrios, O., Yubire, Y. B. (2017). Vitamina D sérica y su relación con adiposidad y resistencia a la insulina en mujeres posmenopáusicas. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamérica*, 51(4), 581-592.

Moreiras, O., Carbajal, Á., Cabrera, L., Cuadrado, C. (2011). Tablas de composición de alimentos. Ediciones Pirámide SA. Madrid. Ed. 15ª.

Moreno, M. I. (2010). Circunferencia de cintura: una medición importante y útil del riesgo cardiometabólico. *Revista chilena de cardiología*, 29(1), 85-87.

Moyano, C., López, F., & Castilla, M. D. M. (2012). Vitamina D e hipertensión arterial. *Med. clín (Ed. impr.)*, 397-401.

NORMA Oficial Mexicana NOM-008-SSA3-2017, Para el Tratamiento Integral del Sobrepeso y la Obesidad.

NORMA Oficial Mexicana NOM-030-SSA2-2009, Para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y control de la hipertensión arterial sistémica.

NORMA Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.

Ocke, M. C., Shrijver J., Obermann-De Boer, G. L., Bloemberg, B.P., Haenen, G.R. (1995). Stability of blood (pro) vitamins during 4 years of storage at -20°C : consequences for epidemiologic research. *J Clin Epidemiol*, 48, 1077–1085.

Oliveri, B., Zeni, S. (2016). Hipovitaminosis D y desarrollo de Síndrome Metabólico. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 50(3), 387-393.

Olkowski, A. A., Aranda-Osorio, G., & McKinnon, J. (2003). Rapid HPLC method for measurement of vitamin D3 and 25 (OH) D3 in blood plasma. *International journal for vitamin and nutrition research*, 73(1), 15-18.

Pajuelo, J., Bernui L, I., Arbañil, H., Gamarra, D., Miranda, M., Chucos R. (2018). Vitamina D y su relación con factores de riesgo metabólicos para enfermedad cardiovascular en mujeres adultas. *In Anales de la Facultad de Medicina*, 79(2), 119-124.

Palacios-Flores, J., Vega-Arias, X., & Ángeles-Abanto, P. (2016). Posible efecto de las estatinas sobre los niveles séricos de vitamina D en pacientes con enfermedad renal crónica. *Revista Colombiana de Cardiología*, 23(2), 157-158.

Pavón, I., Alameda, C., Olivar, J. (2006). Obesidad y menopausia. *Nutrición Hospitalaria*, 21(6), 633-637.

Pereira, J. E., Melo, J., Caballero, M., Rincón, G., Martin, T.J., Serrato, R.N. (2016). Síndrome metabólico. Apuntes de interés. *Revista cubana de cardiología y cirugía cardiovascular*, 22(2), 109-116.

Pérez F. (2007). Vitamin D: The secosteroid hormone and human reproduction. *Gynecological Endocrinology*, 23(1), 13–24. doi: 10.1080/09513590601045629

Pinzón, A., Calemin, C. (2015). Menopausia y síndrome metabólico. R.F.S *Revista Facultad de Salud*, 7(1), 46-53.

Purdue, A.C., Whitcomb, B.W., Szegda, K.L., Boutot, M.E., Manson, J. E., Hankinson, S.E., Rosner, B.A., Troy, L.M., Michels, K.B., Bertone, E.R. (2017). Vitamin D and calcium intake and risk of early menopause. *The American journal of clinical nutrition*, 105(6), 1493–1501. doi:10.3945/ajcn.116.145607

Quattrocchi, O. 1992. Introducción a La HPLC. Argentina

Querales, M.I., Cruces, M.E., Rojas, S., Sánchez, L. (2010). Deficiencia de vitamina D: ¿Factor de riesgo de síndrome metabólico? *Revista médica de Chile*, 138(10), 1312-1318.

Querales, M. I., Mendoza, C., Cruces, M. E., Díaz, L., Navarro, G., Navas, M. (2013). Vitamina D en pacientes con síndrome metabólico de la ciudad de Valencia, Venezuela. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 26(2), 78-85.

Ramírez, Y., Ares, R., Pedrozo, W., & Bonneau, G. (2019). Evaluación del déficit de vitamina d en mujeres adultas. *Revista argentina de endocrinología y metabolismo*, 56(4), 21-30.

Raposo, L., Martins, S., Ferreira, D., Guimarães, J. T., Santos, A.C. (2017). Vitamin D, parathyroid hormone and metabolic syndrome - the PORMETS study. *BMC Endocrine Disorders*, 17(1), 71. doi.org/10.1186/s12902-017-0221-3

Rezayi, M., Ghayour-Mobarhan, M., Sany, S.B., Fani, M., Avan, A., Pasdar, Z., ... & Amiri, I.S. (2018). A comparison of analytical methods for measuring concentrations of 25-hydroxyvitamin D in biological samples. *Analytical Methods*, 10(47), 5599-5612.

Rodríguez-Rodríguez, E., Navia, B., López-Sobaler, A. M., & Ortega, R. M. (2009). Vitamin D in overweight/obese women and its relationship with dietetic and anthropometric variables. *Obesity*, 17(4), 778-782.

Rojas, S., Lopera, J.S., Cardona, J., Vargas, N., Hormaza, M.P. (2014). Síndrome metabólico en la menopausia, conceptos clave. *Revista chilena de obstetricia y ginecología*, 79(2), 121-128. doi: 10.4067/S0717-75262014000200010

Romero, M.J., Rabito, A.A. (2015). Relación entre el estado nutricional y el síndrome metabólico en adultos. *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*, 13(2), 67-7.

Salas, R., Bibiloni, M., Ramos, E., Villarreal, J., Pons, A., Tur, J., Sureda, A. (2014). Metabolic syndrome prevalence among northern mexican adult population. *Plos One*, 9(8).

Schmitt, E. B., Nahas-Neto, J., Bueloni-Dias, F., Poloni, P. F., Orsatti, C. L., & Nahas, E. A. (2018). Vitamin D deficiency is associated with metabolic syndrome in postmenopausal women. *Maturitas*, 107, 97-102.

Serrano, N., Guío, E., González, A., Plata, L., Quintero, D.C., Becerra S. (2017). Cuantificación de vitamina D: de la investigación a la práctica clínica. *Revista Biosalud*, 16 (1): 67-79. doi:10.17151/biosa.2017.16.1.8

Silva, M. C., Furlanetto, T. W. (2018). Intestinal absorption of vitamin D: a systematic review. *Nutrition reviews*, 76(1), 60-76.

Silveira, E. A., Cardoso, C. K., Moura, L. D., Rodrigues, A. P., & de Oliveira, C. (2021). Serum and Dietary Vitamin D in Individuals with Class II and III Obesity: Prevalence and Association with Metabolic Syndrome. *Nutrients*, 13(7), 2138.

Subramanian, A., Gernand, A. D. (2019). Vitamin D metabolites across the menstrual cycle: a systematic review. *BMC Women's Health*, 19(1). doi: 10.1186/s12905-019-0721-6

Tabares, M. K., Aguilera, J.F., Velázquez, B., Garza, P., Angulo, L. C., García, R. (2012). Síndrome metabólico en menopausia: implicaciones de la terapia hormonal. *Perinatología y Reproducción Humana*, 26(1), 25-29.

Tariq, S., Roohi, S., Zahoor, R., Iqbal, Z., & Haider, I. (2012). Development of Vitamin D3 HPLC method and its application in blood serum analysis of workers of radiation area. *Journal of liquid chromatography & related technologies*, 35(19), 2765-2776.

Tijerina, A. (2020a). Hábitos alimenticios en mujeres perimenopáusicas (40 a 65 años). [Tesis doctoral: Programa de Doctorado en Nutrición y Ciencias de los Alimentos] Grupo de Investigación en Nutrición Comunitaria y Estrés Oxidativo - Universidad de las Islas Baleares y CIBEROBN.

Tijerina, A., & Tur, J. (2020b). Development and validation of a semiquantitative food frequency questionnaire to assess dietary intake in 40-65-year-old Mexican women. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 76(1), 73–82. <https://doi.org/10.1159/000506920>

Trehan, N., Afonso, L., Levine, D.L., Levy, P.D. (2017). Vitamin D Deficiency, Supplementation, and Cardiovascular Health. *Critical pathways in cardiology*, 16(3), 109–118.

Úbeda, N., Basagoiti, M., Aperte, E.A., Moreiras, G.V. (2007). Hábitos alimentarios, estado nutricional y estilos de vida en una población de mujeres menopáusicas españolas. *Nutrición Hospitalaria*, 22(3), 312-321.

Varsavsky, M., Rozas, P., Becerra, A., Luque, I., Quesada, J. M., Ávila Rubio, V., Muñoz, M. (2017). Recomendaciones de vitamina D para la población general. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición*, 64, 7–14. doi:10.1016/j.endinu.2016.11.002

Vásquez, D., Cano, C.A., Gómez, A., González, M.Á., Guzmán, R., Martínez, J.I., Rosero, O., Rueda, C., Acosta, J.L. (2017). Vitamina D. Consenso colombiano de expertos. *Medicina*, 39(2), 140-157.

Vranić, L., Mikolašević, I., & Milić, S. (2019). Vitamin D deficiency: consequence or cause of obesity?. *Medicina*, 55(9), 541

Wang, Z., Senn, T., Kalhorn, T., Zheng, X. E., Zheng, S., Davis, C. L., ... & Thummel, K. E. (2011). Simultaneous measurement of plasma vitamin D3 metabolites, including 4 β , 25-dihydroxyvitamin D3, using liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytical biochemistry*, 418(1), 126-133.

Wortsman, J., Matsuoka, L. Y., Chen, T. C., Lu, Z., & Holick, M. F. (2000). Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *The American journal of clinical nutrition*, 72(3), 690-693.

Zimmet, P., Alberti, K.G., Serrano, M. (2005). Una nueva definición mundial del síndrome metabólico propuesta por la Federación Internacional de Diabetes: fundamento y resultados. *Revista española de cardiología*, 58(12), 1371-1376.

Zuluaga, N.A., Alfaro J.M., Balthazar V., Jiménez K.E., Campuzano G. (2011). Vitamina D: nuevos paradigmas. *Medicina y laboratorio*, 17(5-6), 211-246.

10. ANEXOS

ANEXO 1



UANL
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



UIB
Universitat de les
Illes Balears



FaSPyN
Facultad de Salud Pública y Nutrición

**La Facultad de Salud Pública y Nutrición de la UANL y
la Universidad de las Islas Baleares invitan:**

Hábitos alimenticios en mujeres perimenopáusicas

Protocolo: 15-FaSPyN-SA-11



**Requisito:
Mujeres 40 a 65 años**

¿Cómo será su participación?

Cita 1: Responder cuestionarios: historia clínica, alimentación, hidratación, actividad física.

Cita 2: Completar Evaluaciones de nutrición:

- InBody: masa grasa y muscular, peso ideal.
- Toma de sangre: hemoglobina, glucosa, nivel antioxidante.
- Pruebas físicas: equilibrio, fuerza en brazo, flexibilidad, agilidad.

LAS PRUEBAS SE REALIZARÁN UNA VEZ POR AÑO Y EN 3 AÑOS (2016-2018)

❖ **Lugar:**
Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública
Facultad de Salud Pública y Nutrición – UANL
Av. Dr. Eduardo Aguirre Pequeño y Yuriria
Col. Mitras Centro. Monterrey, NL. (entre Odontología y Psicología)



❖ **Contacto:**
M.C. Alexandra Tijerina Sáenz
Email: alexandra.tijerinas@uanl.mx
 /habitosalimenticios.mujeres
Teléfono: 8329-4000 ext. 3074. Horario 10am a 1pm

Pruebas y resultados son gratuitos

ANEXO 2

CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPACION EN PROTOCOLO DE INVESTIGACION

TITULO: Hábitos alimenticios en mujeres perimenopáusicas

NÚMERO DE PROTOCOLO: 15- FaSPyN-SA-11

INVESTIGADORES:

M.C. Alexandra Tijerina

Profesor Asociado en la Facultad de Salud Pública y Nutrición (FaSPyN) de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL).

Dr. Josep Antoni Tur Marí

Catedrático Universidad de las Islas Baleares, España.

Director de Departamento de [Biología Fundamental y Ciencias de la Salud](#).

LUGAR: Este estudio se llevará a cabo en el Centro de Investigación de la Facultad de Salud Pública y Nutrición (FaSPyN) de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Dr. Eduardo Aguirre Pequeño y Yuriria s/n. Col. Mitras Centro. Monterrey, N.L.

NÚMERO DE TELÉFONO: Si tiene alguna duda o comentario, favor de comunicarse con MC. Alexandra Tijerina Sáenz al teléfono de oficina (81)8329-4000 ext. 3074 o cel. 8115139229.

Esta hoja de consentimiento puede contener palabras que usted no entienda. Por favor pregunte al investigador responsable o a cualquier personal del estudio para que le explique cualquier palabra o información que usted no entienda claramente. Usted puede llevarse a su casa una copia de este consentimiento para pensar sobre este estudio o para discutir con su familia o amigos antes de tomar su decisión.

I- INTRODUCCION

Usted ha sido invitada a participar en un estudio de investigación. Antes de que usted decida participar en el estudio por favor lea este consentimiento

cuidadosamente. Haga todas las preguntas que usted tenga, para asegurarse de que entienda los procedimientos del estudio, incluyendo los riesgos y los beneficios.

II- PROPÓSITO GENERAL DEL ESTUDIO:

Estudiar los hábitos de alimentación de mujeres entre 40 y 65 años de edad y determinar los cambios en la ingesta de energía y nutrientes en un periodo de 2 años.

III- PARTICIPANTES DEL ESTUDIO:

Mujeres entre 40 y 60 años que habiten en área metropolitana del estado de Nuevo León.

El estudio es completamente voluntario. Usted puede abandonar el estudio en cualquier momento sin ser penalizada. Esperamos contar con la participación de 300 mujeres entre 40 y 60 años.

IV- PROCEDIMIENTOS:

La participación en el estudio contempla que todas las mujeres completen una evaluación anual por 3 años, como se describe a continuación:

1. Recibir información por escrito en relación a su participación y al estar de acuerdo, firmar la hoja de consentimiento informado.
2. Responderseis tipos de cuestionarios: información sociodemográfica, historia clínico-nutricia, frecuencia semicuantitativa (2 ocasiones), recordatorios de 24 horas (6 al año), hábitos de hidratación, actividad física.
3. Realizar la densitometría ósea, la evaluación antropométrica y de composición corporal en el Laboratorio de Composición Corporal entre 7:00 y 11:00 hrs y con ayuno de 12 horas.
4. Donar una muestra (2 tubos) de sangre entre 7:00 y 11:00 hrs y después de 12 horas de ayuno, por punción en la vena antecubital para posteriormente recibir resultados de hemoglobina, hematocrito, glucosa, proteína, estado antioxidante.
5. Realizar las pruebas de condición física.

V-RIESGOS:

No existen riesgos previstos en este estudio. Sin embargo; usted podría presentar incomodidad al realizarle las mediciones antropométricas y bioquímicas.

VI- BENEFICIOS

Los beneficios personales de cada una de las participantes es conocer su estado nutricional, de composición corporal, y de condición física a lo largo del protocolo (2 años).

VII- COSTOS

Participar en este estudio no tendrá costo alguno para usted.

VIII- INCENTIVO PARA LAS PARTICIPANTES

No habrá incentivos monetarios para las participantes. Sin embargo, se les dará gratuitamente los resultados de sus evaluaciones de rutina durante su participación en el estudio (incluyendo únicamente las realizadas para este estudio), así como un desayuno ligero después de la toma de sangre.

IX- PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD

Si usted elige participar en este estudio, el investigador responsable, o la persona que éste designe, recopilará información personal sobre usted.

El investigador puede también conseguir su información sobre la salud incluyendo:

- Expedientes médicos de ahora y el pasado (resultados de laboratorios, placas o exámenes físicos).
- Expedientes de la investigación sobre las visitas de estudio, diarios y cuestionarios.
- Expedientes sobre llamadas telefónicas hechas como parte de esta investigación.

Información sobre usted y sobre su salud, que puede identificarle a usted, podría ser brindada a otros para realizar este estudio de investigación. El patrocinador

analizará y evaluará los resultados del estudio. Además, personal del patrocinador y de sus consultores podrán estar visitando el lugar de investigación. Ellos observarán cómo se hace el estudio, y repasarán la información suya para este propósito.

Los resultados de esta investigación serán publicados en revistas científicas o ser presentados en las reuniones médicas, pero su identidad no será divulgada.

La información de su salud será mantenida tan confidencial como sea posible bajo la ley. Sin embargo, esta información no podrá ser protegida por las reglas de privacidad una vez que se divulgue a nuestros asociados y pueda ser compartida con otros.

Esta autorización servirá hasta el final del estudio, a menos que usted la cancele antes. Usted puede cancelar esta autorización en cualquier momento dejando un aviso por escrito M.C. Alexandra Tijerina Sáenz.

Si usted cancela esta autorización, los investigadores no usarán ni divulgarán su información personal ni de su salud. Esta información sólo se divulgará para preservar la integridad científica del estudio. La información obtenida antes de que usted cancele esta autorización puede ser utilizada por los asociados.

La autorización para el uso y el acceso de la información protegida de la salud para los propósitos de la investigación es totalmente voluntaria. Sin embargo, de no firmar este documento usted no podrá participar en este estudio. Si en el futuro usted cancela esta autorización, no podrá continuar participando en este estudio.

X- PARTICIPACIÓN Y RETIRO VOLUNTARIOS

La participación suya en este estudio es voluntaria. Usted puede decidir no participar o retirarse del estudio en cualquier momento. La decisión suya no resultará en ninguna penalidad o pérdida de beneficios para los cuales tenga derecho. De ser necesario, su participación en este estudio puede ser detenida en cualquier momento por el investigador del estudio o por el patrocinador sin su consentimiento.

XI- FONDOS

El proyecto es parcialmente financiado por el Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica, PAICYT, de la UANL (clave: SA091-15), así como patrocinadores Yakult de México y Hygeia de México.

XII- PREGUNTAS

Si tiene alguna pregunta sobre el estudio o sobre su participación en el mismo, puede contactar a:

M.C. Alexandra Tijerina Sáenz

Profesor Asociado en la Facultad de Salud Pública y Nutrición (FaSPyN) de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL). Correo electrónico: alexandra.tijerinas@uanl.mx. Tel. 1340-4895 ext. 3074

Dr. Josep Antoni Tur Marí

Catedrático Universidad de las Islas Baleares, España.

Director de Departamento de [Biología Fundamental y Ciencias de la Salud](#).

Correo electrónico: jtm834@uib.es

**HOJA DE CONSENTIMIENTO
PARA PARTICIPACION EN PROTOCOLO DE INVESTIGACION**

TITULO: Hábitos alimenticios en mujeres perimenopáusicas

NUMERO DE PROTOCOLO: 15- FaSPyN-SA-11

XII- CONSENTIMIENTO:

Tengo la información adecuada de este estudio. Todas mis preguntas sobre el estudio y mi participación han sido atendidas.

Yo autorizo el uso y la divulgación de mi información de salud a las necesarias para los propósitos de este proyecto de investigación.

Nombre del Participante

Firma del Participante

Fecha

Firma del Investigador

Fecha

RESUMEN CURRICULAR

L.N. Ana Paula Romo Uribe

Candidata para el grado de Maestría en Ciencias en Nutrición

Tesis: NIVELES PLASMÁTICOS DE VITAMINA D Y SÍNDROME METABÓLICO EN MUJERES DE 40 A 60 AÑOS.

Campo de estudio: Ciencias de la Salud

Datos personales: Nacida en Monterrey, Nuevo León el 27 de abril de 1998, hija del Sr. Omar Romo Suárez y de la Sra. Yvonne Uribe Lozano.

Educación: Egresada de la Facultad de Salud Pública y Nutrición de la Universidad Autónoma de Nuevo León en el año 2020. Estudios de Maestría en Ciencias en Nutrición en la Facultad de Salud Pública y Nutrición, UANL, durante el periodo de agosto 2020 a junio de 2022.

Experiencia Profesional: Participación en el concurso de material didáctico con el proyecto “DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE VITAMINA D” en el XXXV Congreso Nacional AMMFEN; Nutriólogo, una pieza clave en el equipo interdisciplinario.

Correo: ana.pau.romo@gmail.com