



UNIVERSIDAD DE OVIEDO

Relevancia de la vitamina D₃ en la reproducción

Trabajo de Fin de Máster
2015/2016

Autora	M ^a Teresa Hato Castro
Tutor	Dr. Vicente López Villaverde

Agradecimientos

En primer lugar he de darle las gracias a mi tutor el Dr. Vicente López Villaverde, por haberme ayudado y enseñado estos meses y no sólo en el ámbito académico. Junto a él, debo agradecer a toda la plantilla de EmbryoCenter que me hayan facilitado la labor para que todo me saliera bien y pudiera compaginar el trabajo con los estudios.

Por otro lado agradecer a mi familia al completo, especialmente a mis padres, mi hermana, Fermín y Felipe, por haberme apoyado y animado para que yo me sintiera respaldada en todo momento, incluso cuando estaba en Oviedo lejos de ellos.

A mis compañeras de piso Rosana y María por acogerme en sus vidas y hacerme sentir como en casa.

A mis compañeros de Máster, que ahora son mis amigos y amigas, sobre todo a Hayvi y Helena, con las que he compartido experiencias inolvidables y que han sido en parte mis pilares durante mi estancia en Oviedo. Y quisiera hacer mención especial a Sergio por toda su ayuda y por su capacidad para calmarme y hacerme sentir segura.

Índice de contenido

Resumen	1
Abstract.....	1
Índice de abreviaturas	2
Hipótesis	5
Introducción.....	5
Mecanismo de acción de la Vitamina D ₃	6
Funciones de la Vitamina D ₃	9
Justificación del trabajo	12
Interés por la prevalencia de la deficiencia de Vitamina D ₃	13
Vitamina D ₃ y fertilidad	14
Materiales y Metodología.....	15
Vitamina D ₃ y Reproducción.....	16
Influencia de la Vitamina D ₃ en la fertilidad masculina.....	16
Influencia de la Vitamina D ₃ en la fertilidad femenina.....	20
Papel de la Vitamina D ₃ en la reserva ovárica y desarrollo folicular	20
Importancia de la Vitamina D ₃ en la esteroidogénesis	22
Influencia de la Vitamina D ₃ en la patología reproductiva.....	24
Influencia de la Vitamina D ₃ en el Síndrome de Ovario Poliquístico	24
Influencia de la Vitamina D ₃ en la endometriosis	31
Implicaciones de la Vitamina D ₃ en los miomas	39
Influencia de la Vitamina D ₃ en la implantación e inmunotolerancia materna	44
Discusión	53
Conclusiones.....	60
Referencias	61

Resumen

Esta revisión bibliográfica ofrece una actualización sobre la importancia de la influencia de la Vitamina D₃ (VD₃) en el ámbito de la reproducción humana y sintetiza los conocimientos existentes en la bibliografía al respecto. Para ello se han realizado búsquedas en las bases de datos Pubmed y ScienceDirect y en base a los estudios y revisiones analizadas se ha evaluado la influencia de la VD₃ en la fertilidad masculina y femenina y en algunas patologías reproductivas en mujeres: síndrome de ovario poliquístico (SOP), endometriosis, miomas uterinos y fallos implantatorios. Se ha planteado la hipótesis de que la VD₃ es una hormona que influye positivamente en las características reproductivas pudiendo mejorar los síntomas de las patologías y el éxito de la reproducción. Esta hipótesis se ha visto sustentada por la información examinada, aunque se requieren más estudios para confirmar la rentabilidad del análisis y suplementación de VD₃ para tratar estas patologías.

Abstract

This literature review aims to offer an update on the role of Vitamin D₃ (VD₃) on human reproduction and summarises the current knowledge regarding VD₃ that can be found on related publications. To this end, the databases Pubmed and Science Direct have been used to search for studies and reviews, which have been used to evaluate the influence of VD₃ on male and female fertility, as well as in some female reproductive pathologies: polycystic ovary syndrome (PCOS), endometriosis, uterine myoma and implantation failure. VD₃ has been hypothesized to have a positive effect on reproduction, being able to improve pathology symptoms and reproductive success. This hypothesis is supported by the information analysed here. However, further research is required in order to confirm the viability of VD₃ analysis and use as a supplement to treat these pathologies.

Índice de abreviaturas

- 1,25-(OH)₂-D₃: 1,25-dihidroxitamina D₃.
- 17β-HSD: 17β-hidroxiesteroide deshidrogenasa.
- 1α-OH-D₃: 1α-hidroxitamina D₃.
- 25-OH-D₃: 25-hidroxitamina D₃.
- 3β-HSD: 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa.
- AF2: dominio función de activación 2.
- AGE: productos de glicación avanzada.
- APO-1: antígeno de apoptosis 1.
- AR: artritis reumatoide.
- ARNm: ARN mensajero.
- ASIP: Agouti-signaling protein.
- B10: células B secretoras de IL10.
- BMI^aD: nivel de VD₃ ajustado a IMC.
- CDK: quinasas dependientes de ciclinas.
- CDKI: inhibidor de la ciclina dependiente de quinasa.
- CDX2: proteína caudal homeobox 2.
- COMP: catecol-O-metiltransferasa.
- COX2: ciclooxigenasa 2.
- Cr: creatinina.
- CYP24A1: 24-hidroxilasa.
- CYP27A1: 25-hidroxilasa.
- CYP27B1: 1α-hidroxilasa.
- CYP2R1: 25-hidroxilasa.
- DBD: dominio de unión a ADN.
- DC: células dendríticas.
- DHEAS: dehidroepiandrosterona.
- DM: diabetes mellitus.
- ECM: matriz extracelular.
- EEUU: Estados Unidos.
- EOC: estimulación ovárica controlada.
- ER-α: receptor de estrógenos α.
- FAI: índice de andrógenos libres.
- FasR: receptor de FAS.

- FET: transferencia de embriones criopreservados.
- FGF23: factor de crecimiento fibroblástico 23.
- FIV: fecundación *in vitro*.
- FSH: hormona foliculoestimulante.
- Gc: componente específico de grupo.
- GcMAF: Gc derivada del factor de activación de macrófagos.
- HAM: hormona antimulleriana.
- HDL: lipoproteínas de alta densidad.
- IDO: indolamina 2,3-dioxigenasa.
- IFN- γ : interferón γ .
- Ig: inmunoglobulina.
- IGF1: factor de crecimiento insulínico 1.
- IL: interleucinas.
- IM: intramuscular.
- IMC: índice de masa corporal.
- IOM: instituto de Medicina.
- IR: resistencia a la insulina.
- LBD: dominio de unión a ligando.
- LH: hormona luteinizante.
- LRP5: receptores de lipoproteínas de baja densidad relacionadas con la proteína-5.
- M1, M2: macrófagos 1, 2.
- MMPs: metaloproteinasas de la matriz.
- NK: células asesinas naturales.
- NKT: células T asesinas naturales CD1d-reactivas.
- NOX1: NADPH oxidasa 1.
- OCT: 22-oxa-1,25-dihidroxitamina D₃.
- OMS: Organización Mundial de la Salud.
- OR: odds ratio o razón de momios.
- PAMPs: patrones de moléculas asociadas a patógenos.
- PAPP-A: proteína plasmática A asociada al embarazo.
- PCNA: antígeno nuclear de proliferación celular.
- PCOS: polycystic ovary syndrome.
- PD-1: proteína de la muerte celular programada.
- PED/PEA-15: fosfoproteína enriquecida en diabetes.

- PEG: pequeño para la edad gestacional.
- PIGF: factor de crecimiento placentario.
- PR: receptor de progesterona.
- RAGE: receptor de productos finales de glicación avanzada.
- RFA: recuento de folículos antrales.
- ROS: especies reactivas de oxígeno.
- RR: riesgo relativo.
- RXR: receptor X retinoide α .
- SHBG: globulina fijadora de hormonas sexuales.
- SM: submucoso.
- SOP: Síndrome del Ovario Poliquístico.
- sRAGE: isoformas solubles del receptor de AGE.
- SS: subseroso.
- TGF: factor de crecimiento transformante.
- TIMP: inhibidor tisular de metaloproteinasas de la matriz.
- TLR4: receptor tipo toll 4.
- TNF: factor de necrosis tumoral.
- TRA: técnicas de reproducción asistida.
- Treg: células T reguladoras.
- uNK: NK uterinas.
- UV: Ultravioleta.
- VD: vitamina D.
- VD₂: vitamina D₂.
- VD₃: Vitamina D₃.
- VDBP/DBP: proteína de unión a Vitamina D₃.
- VDR: receptor de Vitamina D₃.
- VDRE: elementos de respuesta a Vitamina D₃.

Hipótesis

La Vitamina D₃ es una hormona que influye positivamente en las características reproductivas pudiendo mejorar los síntomas de las patologías asociadas y el éxito de los tratamientos de reproducción.

Introducción

Durante la revolución industrial se extendió el raquitismo en los niños ingleses por la falta de nutrientes y de sol, y tras conseguir mejoras en los pacientes gracias al tratamiento con luz ultravioleta (UV), leche y aceite de hígado de bacalao, en 1938 se consiguió aislar el compuesto, la Vitamina D (VD) cuya insuficiencia provocaba la enfermedad.

La VD entra en nuestro organismo de dos maneras: como ergocalciferol o vitamina D₂ (VD₂) y como colecalciferol, o Vitamina D₃ (VD₃), que se trata en realidad de una hormona secosteroide (Fernández Giráldez 2013). La VD₂ es sintetizada en las plantas a partir del ergosterol, mientras que la VD₃ se forma por la transformación del 7-dehidrocolesterol. La mayor parte de la VD₃ del organismo (80-90%) es producida por la piel al exponerse a la radiación ultravioleta, que convierte el 7-dehidrocolesterol (presente en la piel) a la VD₃ debido a la pérdida del anillo B de la molécula de colesterol (Sayegh et al. 2014; Irani & Merhi 2014; Anagnostis et al. 2013). También la dieta es fuente de VD₃, aunque en menor proporción (5-10%), de alimentos como la leche, el zumo de naranja, aceite de pescado, pescado azul (salmón, sardinas...) o suplementos (Irani & Merhi 2014; Fernández Giráldez 2013).

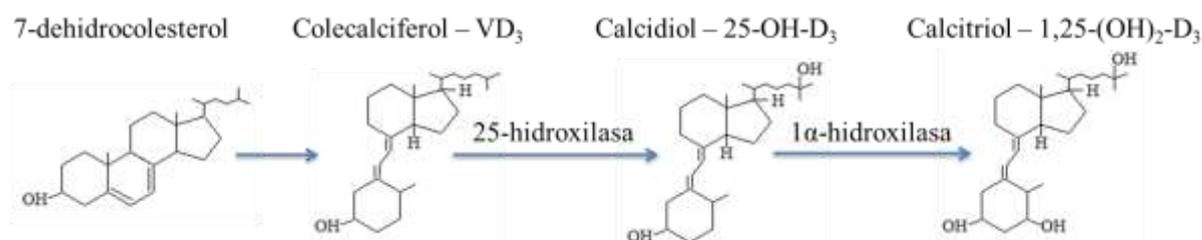


Figura 1 - Transformaciones del 7-dehidrocolesterol para dar lugar al calcitriol o 1,25-(OH)₂-D₃. Las enzimas 25-hidroxilasa y 1α-hidroxilasa convierten la VD₃ a sus formas activas.

Mecanismo de acción de la Vitamina D₃

La VD₃ es transportada gracias a su interacción con la proteína de unión a vitamina D (VDBP o “vitamin D-binding protein”) (Shahrokhi et al. 2016). La VDBP, o componente (Gc) específico de grupo, es reconocido como un importante transportador plasmático de la VD₃ y de sus metabolitos, y es el precursor de la Gc-proteína derivada del factor de activación de macrófagos (GcMAF), que puede activar la función depuradora de los macrófagos sin iniciar la respuesta inflamatoria (Daiger et al. 1975; Ravensborg et al. 2010).

Sin embargo la VD₃ no es biológicamente activa y requiere de unas transformaciones previas en el hígado y el riñón para ejercer sus funciones. En el hígado se encuentra la enzima 25-hidroxilasa, perteneciente a la familia de los citocromos P450 y conocida como CYP2R1 o CYP27A1, que produce en el 7-dehidrocolesterol una hidroxilación del carbono 25 que da lugar al calcidiol o 25-hidroxivitamina D₃ (25-OH-D₃), la forma de la VD₃ más presente en la circulación (Brakta et al. 2015). Esta enzima ha sido también encontrada en los testículos.

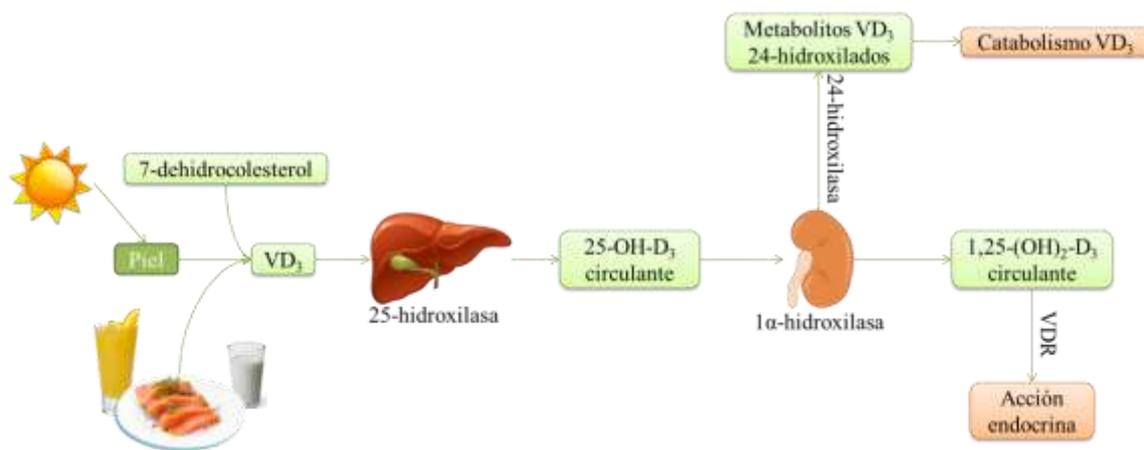


Figura 2 - Síntesis y procesamiento de la VD₃ en el organismo. La VD₃ procedente del 7-dehidrocolesterol o de la dieta se transforma en 25-OH-D₃ en el hígado y luego en 1,25-(OH)₂-D₃ en los riñones.

Además de esta hidroxilación hepática, en los túbulos distales de los riñones se produce una segunda transformación mediada por la enzima 1 α -hidroxilasa, que transforma la 25-OH-D₃ en calcitriol o 1,25-dihidroxivitamina D₃ (1,25-(OH)₂-D₃). La enzima 1 α -hidroxilasa (conocida como CYP27B1) se ha encontrado también en ovarios, cerebro, mamas, próstata, colon, hueso, endotelio, músculos vasculares lisos, páncreas y

placenta (Irani & Merhi 2014; Sayegh et al. 2014; Anagnostis et al. 2013; Brakta et al. 2015).

La VD₃ en su forma activa (1,25-(OH)₂-D₃) actúa a través de su receptor (VDR), que pertenece a la familia de los receptores hormonales nucleares esteroideos/tiroideos (Brakta et al. 2015; Irani & Merhi 2014; Sayegh et al. 2014; Anagnostis et al. 2013; Haussler et al. 2012). Cuando el calcitriol actúa sobre el VDR, éste sufre una transformación conformacional y forma un heterodímero con el receptor X retinoide α (RXR), que le capacita para unirse a regiones reguladoras (tanto promotoras como amplificadoras o “enhancers”) de los genes sobre los que tiene efecto para realizar su acción genómica (Brakta et al. 2015; Anagnostis et al. 2013; Haussler et al. 2012). En estos genes diana se conocen unos elementos de respuesta a la VD₃, o VDRE, que pueden encontrarse tanto en regiones proximales al promotor, como también en regiones distales e intergénicas, e incluso en intrones de los genes diana (Brakta et al. 2015). Dentro de las acciones genómicas de la VD₃, la epigenética desempeña un potencial papel de influencia debido a que las regiones de respuesta a esta vitamina pueden estar accesibles, o no, dependiendo de la metilación y acetilación del genoma (Haussler et al. 2012). Además de sus acciones genómicas, el calcitriol tiene acciones no genómicas a través de segundos mensajeros cuando se une a receptores diferentes a VDR (Haussler et al. 2012; Blomberg Jensen & Dissing 2012). El mecanismo de actuación lo define en detalle Haussler y colaboradores y está representado en la Figura 3: cuando la VD₃ en su forma activa (1,25-(OH)₂-D₃) se une al VDR, éste sufre un cambio conformacional que le permite que su dominio AF2 (“Activation Function 2” o función de activación 2) se una a un co-activador. El AF2 se conoce también como dominio de unión a ligando o LBD por sus siglas en inglés y se conforma por 12 α -hélices que permiten la heterodimerización y la unión a moduladores. La unión a un co-activador ayuda a que el VDR interaccione con el receptor RXR de una manera más eficiente formando un heterodímero, de esta manera deja de unirse al ADN de una forma inespecífica y pasa a reconocer zonas concretas del genoma, los VDRE. Las partes de VDR y RXR que se unen al genoma se conocen como dominios de unión a ADN o DBD y tienen una estructura de dedos de zinc que, cuando se combinan, permiten la unión con diferente especificidad a diversas partes del genoma. La unión al ADN se produce de modo que RXR queda unido por la parte 5’ y VDR a la 3’.

tiene también un dominio AF2 con capacidad de unión a otros co-activadores y se ha demostrado que cuando está unido a VDR no puede interactuar con su ligando (el ácido retinoico) (Haussler et al. 2012).

En conjunto, los sucesos que se producen para que la VD₃ exprese su actividad son: la unión del ligando 1,25-(OH)₂-D₃ a VDR, el cambio conformacional o heterodimerización con RXR, la unión de co-activadores y la interacción con VDRE, que desencadena las acciones de estos elementos (Haussler et al. 2012).

Si la unión tiene lugar con un co-represor en lugar de un co-activador (Figura 3B) se produciría la represión de los genes VDRE. Aún no hay evidencias sobre el mecanismo que conlleva esta represión, aunque hay algunas hipótesis, como por ejemplo que hay un cambio en algunos nucleótidos de la secuencia de VDRE que provocan la preferencia de la unión al co-represor frente a la del co-activador. Sin embargo, aún se requiere más investigación para esclarecer este mecanismo (Haussler et al. 2012).

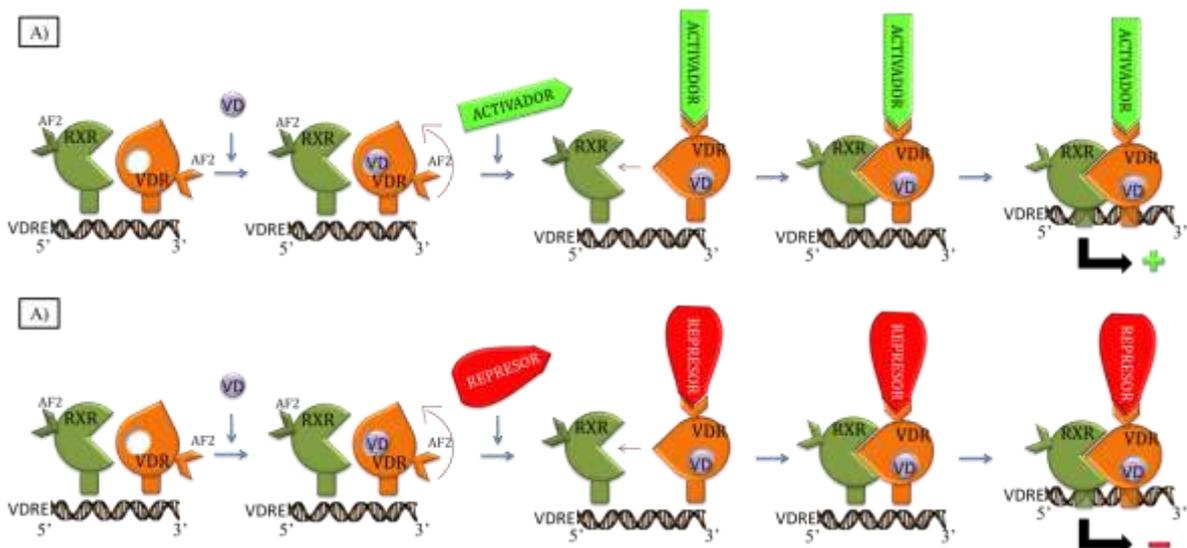


Figura 3 – Mecanismo de acción de la VD₃ por su unión a VDR. A) la VD₃ se une a VDR y se favorece por un lado la unión a un co-activador y por otro la heterodimerización con RXR, que permite la unión a los VDRE activando sus acciones. B) Si se une un co-represor el resultado es la inhibición de los efectos de los VDRE.

Los VDRE se caracterizan porque pueden variar de secuencia ligeramente, lo que puede significar que VDR se unirá con afinidad variable, o que el heterodímero se unirá al ADN dando lugar a diferentes conformaciones que harán que se unan a uno u otro modulador con distinta preferencia variando, por tanto, la acción final. Hay genes que presentan, además, más de un VDRE, por lo que pueden unirse a ellos varios receptores

modulando así la intensidad de su efecto. La teoría actual es que cuando los VDRE se encuentran más separados en la secuencia, éstos se unen por cambios en la conformación haciendo que se acerquen en el espacio y así se genera una zona de respuesta a VD₃ (Haussler et al. 2012).

Funciones de la Vitamina D₃

A través de la expresión de VDR, existen ciertos genes que son regulados positivamente y otros negativamente. Entre los primeros se encuentran el gen que codifica la osteopontina, que desencadena la osificación, el de la proteína de unión al calcio, fundamental para la absorción del calcio intestinal, o los receptores de lipoproteínas de baja densidad relacionados con la proteína-5 (LRP5), que promueve la osteoblastogénesis. Entre los segundos, suprimidos en su expresión, se halla el factor anti-osteoclástico osteoprotegerina (Haussler et al. 2011).

La acción derivada de este conjunto de expresiones representa las funciones “clásicas”, más comunes y conocidas de la VD₃, que incluyen la regulación del metabolismo óseo, mineralización y el control de la homeostasis del calcio y del fósforo (Anagnostis et al. 2013; Lerchbaum & Obermayer-Pietsch 2012). La principal acción de la VD₃ es la que ejerce en el esqueleto en relación a la regulación de la absorción de calcio en el intestino, evitando complicaciones que pudieran causar osteoporosis (Carmeliet et al. 2015). Las acciones sobre el metabolismo del fósforo se deben a la inducción por parte de la VD₃ del factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF23) (regulador de la concentración de fosfato en el plasma) en los huesos.

La amplia distribución de los VDR en muchos otros tejidos, incluyendo las células endoteliales y las de músculo liso de la pared arterial, las células B pancreáticas, monocitos, queratinocitos y neuronas, ha sugerido que los VDR podrían estar también involucrados en la modulación de múltiples funciones fisiológicas (Haussler et al. 2011; Nagpal et al. 2005), acciones “no clásicas” que se encuentran en la expresión de genes relacionados con la autoinmunidad, inflamación, proliferación celular, apoptosis y enfermedades degenerativas.

La habilidad para la regulación de la función autoinmune del organismo se basa en la capacidad para inducir la expresión de genes relacionados con la inmunidad, como

los que codifican la catelicidina (potenciadora de la defensa contra infecciones), o para reprimir los que codifican algunas interleucinas (IL) como la IL-17, IL-2 e IL-12 reduciendo el riesgo de padecer procesos inflamatorios y enfermedades autoinmunes (Anagnostis et al. 2013; Haussler et al. 2012), como la diabetes mellitus (DM) tipo 1, esclerosis múltiple y artritis reumatoide (Nagpal et al. 2005; Mora et al. 2010). La acción antiinflamatoria de la VD₃ previene de enfermedades cardiovasculares e infartos. La razón de esta acción es la mitigación de las acciones de NF κ B y COX2 (factores proinflamatorios) y la inducción de la expresión de enzimas antiinflamatorias como NOX1 (Haussler et al. 2012).

Los VDR juegan un papel clave en la regulación de ciertos genes implicados en la diferenciación y apoptosis celular, así como en la génesis tumoral (por ejemplo, la inducción de los supresores de tumores p53 y p21), lo que le confiere un potencial efecto anticancerígeno (Haussler et al. 2012; Brakta et al. 2015; Sayegh et al. 2014). La inhibición de la proliferación celular por la VD₃ es debida a su capacidad para producir parada del ciclo celular en la fase G0/G1, a través de la alteración en reguladores del ciclo celular como las ciclinas, las quinasas dependientes de ciclinas (CDK) o los inhibidores quinasas dependientes de ciclinas. Todos estos reguladores han demostrado tener secuencias VDRE en sus regiones promotoras (Brakta et al. 2015).

La apoptosis inducida por la VD₃ responde a tres posibles mecanismos (Brakta et al. 2015): a) Inducción de la expresión de Bax y Bad, dos componentes proteicos proapoptóticos, b) Represión de la expresión de Bcl-2, que al contrario que Bax y Bad, es una proteína antiapoptótica, c) Activación de las moléculas caspasas, las cuales generalmente inducen la apoptosis.

El uso de la VD₃ para inhibir el crecimiento de células cancerosas tiene el inconveniente derivado del riesgo iatrogénico de hipercalcemia, de aquí que se haya trabajado en la síntesis de análogos de este compuesto que conservaran su función sin producir el efecto no deseado; algunos de estos, como EB1089, LG190119 y 22-oxa-1,25-dihidroxitamina D₃ (OCT), han demostrado su utilidad.

La inducción de principios anticancerígenos como TGF β 2, TIMP2 o TIMP3 por parte de la VD₃, junto con la supresión de la señalización β -catenina, proto-oncogén que provoca en células de cáncer de colon, y el efecto antiangiogénico protector frente a las

metástasis, son otros argumentos a favor del papel en el tratamiento del cáncer (Haussler et al. 2012; Brakta et al. 2015).

Los VDR han sido también implicados en la expresión de genes que regulan el metabolismo de la glucosa o asociados a enfermedades cardiovasculares (por ejemplo, la reducción de las concentraciones de homocisteína y la inducción de FOXO3, una molécula importante en la prevención del estrés oxidativo) (Haussler et al. 2011). Estas acciones genómicas de la VD₃ proporcionan un sustrato patogénico común de vinculación de varias enfermedades degenerativas, tales como la aterosclerosis y la osteoporosis (Anagnostis et al. 2009). La inducción por parte de la VD₃ del factor klotho (relacionado con el envejecimiento) en el riñón (Haussler et al. 2012) le proporciona la facultad para retrasar la aparición de enfermedades asociadas al envejecimiento.

Entre otras acciones no clásicas que se han encontrado relacionadas con la VD₃ se encuentran la regulación del ciclo del pelo (Haussler et al. 2012), o la modulación del desarrollo embrionario, ya que el receptor VDR se expresa en las células madre y durante el periodo embrionario temprano. La VD₃ induce la expresión de factores de transcripción CDX-2, encargado entre otras acciones de la embriogénesis temprana en ratones (Haussler et al. 2012). Evolutivamente esta parece ser la función más antigua de la VD₃ por el hecho de que tanto el ligando 1,25-(OH)₂-D₃ como VDR están conservados en especies que no tienen ni huesos (invertebrados) ni pelo (Haussler et al. 2012).

La expresión de VDR también en tejidos reproductivos (los ovarios, el útero, placenta, testículos), o relacionados con la reproducción (hipotálamo e hipófisis) ha planteado la posibilidad de que la VD₃ pudiera afectar de manera determinante a la reproducción (Sayegh et al. 2014; Irani & Merhi 2014), tanto del hombre como de la mujer.

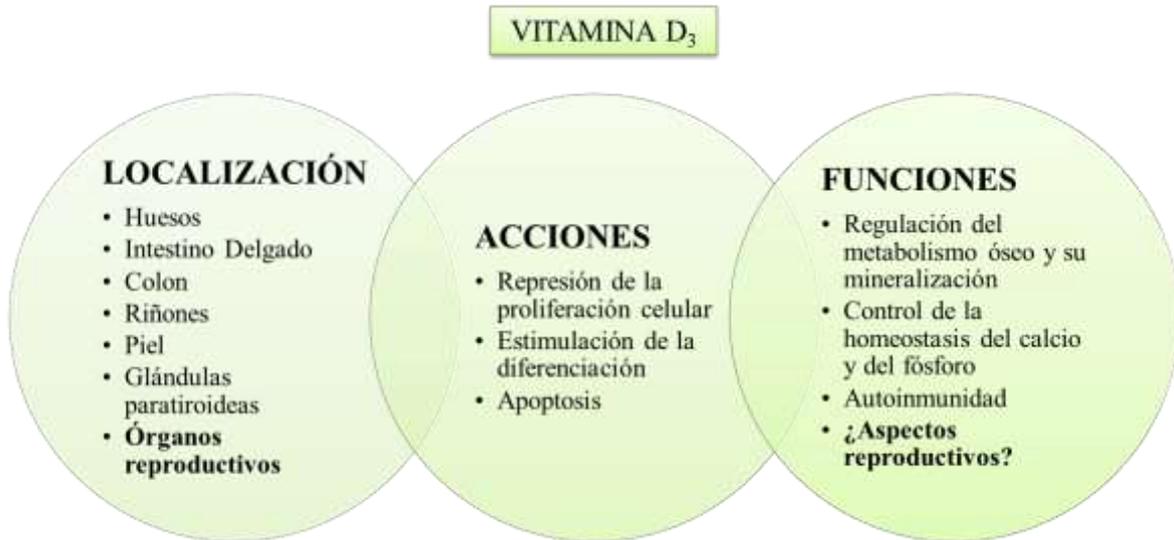


Figura 4 – Localización, acciones y principales funciones conocidas de la VD₃. Debido a su localización en los tejidos y órganos reproductivos se ha planteado la pregunta de su función en la reproducción.

Justificación del trabajo

La elevada prevalencia de niveles bajos de VD₃ en la población y la constatación de su papel en múltiples facetas de la salud, incluida la salud reproductiva, ha suscitado un interés creciente por su estudio y multiplicado por 4 los artículos publicados en los últimos 15 años (PubMed 2016).



Figura 5 - Número de publicaciones sobre la VD₃ desde el año 1927 hasta el 2015. El incremento de las publicaciones es reflejo del interés que ha suscitado esta vitamina y sus efectos en la salud. Fuente: PubMed (Elaboración propia).

Interés por la prevalencia de la deficiencia de Vitamina D₃

La deficiencia severa de VD₃ no solo se asocia a deficiencias en la mineralización ósea (Holick 2007; Holick & Chen 2008), sino también a tipos comunes de cáncer, enfermedades alérgicas, infecciones, trastornos autoinmunes y enfermedades cardiovasculares (Hyppönen et al. 2001; Cannell et al. 2006; Munger et al. 2006; Grant & Mohr 2009; Brehm et al. 2010; Zittermann et al. 2011). La deficiencia de la VD₃ es un hecho constatado y se la valora en la actualidad como epidemia a nivel global (Tamblyn et al. 2015), dato éste ya revelado en la 14^a Reunión de Consenso en Vitamina D, que concluyó con que la deficiencia de VD₃ representa un importante problema de salud (Henry et al. 2010). En 2010, el IOM recomienda un aumento en la ingesta diaria mínima de VD₃ de 600 IU (600 IU=15µg)/día, y afirmó que, al menos, 1500 a 2000 UI/día de la vitamina son necesarios para mantener un nivel en sangre de 25-OH-D₃ > 30 ng/ml, con un nivel superior máximo de 4000 UI/día para adultos, incluidas las mujeres embarazadas (Holick et al. 2011).

Se considera deficiencia de VD₃ a niveles inferiores a 20 ng/ml (50 nmol/l) de 25-OH-D₃ e insuficiencia de VD₃ a niveles de 21-29 ng/ml (52,5-72,5 ng/ml) de 25-OH-D₃ en suero (Holick et al. 2011).

Hay grupos especiales que tienen mayor riesgo de padecer esta deficiencia, como son las personas de piel oscura, las embarazadas y las mujeres que lactan durante mucho tiempo, las personas que viven en zonas del globo con poca exposición al sol, o con elevados índices de masa corporal (IMC) (Tamblyn et al. 2015).

En Estados Unidos (EEUU), en 2006, el 7% de las embarazadas o lactantes tenían menos de 12 ng/ml de 25-OH-D₃ y un 28% presentaban menos de 20 ng/ml (Looker et al. 2011). Otro estudio posterior, también en EEUU, observó niveles menores de 32 ng/ml de 25-OH-D₃ en 83% de mujeres negras embarazadas y 47% de las blancas en el momento del parto. En los recién nacidos los valores eran, además, similares (Bodnar, Simhan, et al. 2007).

La incidencia de esta deficiencia varía en gran medida dependiendo de la raza y procedencia, ya que por ejemplo afecta al 100% de inmigrantes somalíes en Suecia, 98% de mujeres omaníes, 24% de mujeres del este de Canadá y 7% de mujeres de Carolina del Norte (Urrutia & Thorp 2012).

En el Reino Unido en 2014 la “Encuesta de Dieta y Nutrición Nacional” objetivó que el 28% de las mujeres entre 19-24 años tenían niveles de 25-OH-D₃ inferiores a 10ng/ml (Public Health England and Food Standards Agency 2014). Otro estudio en el Reino Unido observó niveles menores de 20ng/ml en 49,5% de las mujeres embarazadas (Gale et al. 2008).

Vitamina D₃ y fertilidad

La evidencia de una asociación entre la VD₃ y la reproducción se observó en ciertos estudios que indicaban una variabilidad estacional en las tasas de embarazo y en la calidad de los tipos de embriones, obtenidos tras fecundación *in vitro* (FIV), con valores superiores durante la primavera y más bajos en otoño. Esta variabilidad en la eficacia reproductiva se ha asociado con el número total de horas de luz (Rojansky et al. 2000) ya que en los países nórdicos, donde las tasas de ovulación y la receptividad del endometrio eran inferiores durante los inviernos largos y oscuros, no se ha demostrado diferencia en la frecuencia de las relaciones sexuales ligadas a los periodos de luz/oscuridad que pudieran relacionarse con las tasas de embarazo (Rojansky et al. 1992).

Estudios experimentales han demostrado que la deficiencia de VD₃ conduce a una reducción del 75% en la fertilidad global de las ratas hembras en comparación con las normales. Este efecto sobre la fertilidad se debía tanto a la disminución en la impregnación (aproximadamente 50%), como en el aumento de complicaciones durante el embarazo (Panda et al. 2001). La inseminación con semen de ratas machos deficientes en VD₃ reducía su fertilidad en un 73% (Uhland et al. 1992).

La acumulación de pruebas de estudios en animales y humanos sugieren que la VD₃ está involucrada en muchas funciones del sistema reproductivo en ambos géneros. En las mujeres, el estado de VD₃ se ha asociado con el resultado de la FIV, síndrome de ovario poliquístico (SOP), endometriosis, y miomas. En los hombres, el estado de la VD₃ se ha asociado con la calidad del semen, recuento de espermatozoides, motilidad y morfología (Anagnostis et al. 2013).

El coste por embarazo por FIV en EEUU, en una mujer con deficiencia de VD₃ para una población con prevalencia de déficit de VD₃ del 65%, se ha estimado en

42.734 \$, una cifra muy superior a los 31.410 \$ cuando la mujer tenía niveles normales (Pacis et al. 2015). Estos autores concluyeron que la detección de niveles de VD₃ y su tratamiento antes de las técnicas de FIV podría ser rentable, aunque se necesita más evidencia.

En base al interés suscitado por estas constataciones, este trabajo tiene como objetivo ofrecer una actualización sobre la importancia de esta deficiencia en el ámbito de la reproducción humana y sintetizar los conocimientos existentes en la bibliografía al respecto para discutir sobre las posibles repercusiones.

Materiales y Metodología

Revisión sistemática durante abril, mayo y junio de 2016 de estudios prospectivos y retrospectivos, realizados *in vivo* e *in vitro*, clínicos o no, y disponibles en las bases de datos Pubmed y ScienceDirect. Se han incluido principalmente artículos en inglés, sin descartar revisiones. Se han buscado términos como “vitamin d” junto con otros como “reproduction”, “fertility”, “ovarian reserve”, “steroidogenesis”, “follicular development”, “conception”, “ivf outcomes”, “follicle”, “PCOS”, “endometriosis”, “implantation”, “receptivity”, “uterine fibroid”, “ART”, etc. Además, se han empleado otros términos como “calcidiol”, “calcitriol” o “hydroxyvitamin d” para hacer referencia a la vitamina D. Por otro lado, se ha buscado bibliografía procedente de las referencias de las publicaciones encontradas. Todos los títulos y resúmenes han sido revisados, y los textos completos en aquellos casos en que la referencia se ha considerado especialmente relevante para esta revisión. Se han excluido cartas a editores, editoriales e informes.

Vitamina D₃ y Reproducción

Los primeros indicios de relación entre la VD₃ y la reproducción fue el descubrimiento de la distribución del receptor de esta vitamina en los tejidos reproductivos (ovarios, endometrio, placenta, testículos espermatozoides) y su expresión en la hipófisis de ambos sexos; y la observación de variaciones en los resultados de las Técnicas de Reproducción Asistida (TRA) en cuanto a tasas de embarazo y calidad embrionaria, en función de la estación del año. Su asociación con las horas de luz, cambiantes a lo largo de las estaciones, suponía una hipótesis relacional con los niveles de VD₃, ya que éstos dependen de la radiación solar UV recibida (Rojansky et al. 2000). Esta relación también fue observada entre los niveles de VD₃ y testosterona (Rafiq et al. 2015).

Influencia de la Vitamina D₃ en la fertilidad masculina

La VD₃ ha sido relacionada con algunas características masculinas reproductivas, como pueden ser los niveles de las hormonas sexuales, la calidad seminal u otros aspectos, y el estilo de vida y la dieta, o suplementos, han demostrado que influyen en los resultados de las TRA (Paes de Almeida Ferreira Braga et al. 2012).

La VD₃ regula el metabolismo del calcio, el cual se ha demostrado que afecta a la espermatogénesis, la movilidad, la hiperactivación espermática y la reacción acrosómica (Lerchbaum & Obermayer-Pietsch 2012; Pludowski et al. 2013). De hecho se ha visto que la 1,25-(OH)₂-D₃ permite la activación de la movilidad espermática al producir un incremento del calcio en su interior celular (Blomberg Jensen 2014).

Los VDR se expresan en los testículos humanos, al igual que en los de otros animales (Hirai et al. 2009), y se ha confirmado la expresión del receptor en el epidídimo, vesículas seminales y próstata en el hombre (Blomberg Jensen et al. 2010). Se ha demostrado que una menor expresión de VDR en los testículos produce efectos negativos en la fertilidad (disminuye la concentración y movilidad espermática en el eyaculado y puede producir anormalidades histológicas) y que la suplementación con calcio puede restaurarla (Blomberg Jensen & Dissing 2012).

Estos VDR también se expresan en las células de Leydig y en los espermatozoides, indicando una acción de la VD₃ en la formación de éstos o en su regulación (Blomberg Jensen et al. 2010).

Dentro de los propios espermatozoides la expresión de VDR varía según su región, siendo evidente para la mayoría de estudios la presencia en la región post-acrosómica y en el cuello de espermatozoides maduros (Aquila et al. 2008), y discutible su expresión en la pieza intermedia (Blomberg Jensen et al. 2010). La distribución de los receptores tampoco es la misma en todos los espermatozoides, ya que varía dependiendo del grado de madurez y de la morfología (Blomberg Jensen et al. 2010; Aquila et al. 2008).

Además del receptor VDR, también se ha estudiado la expresión de las enzimas involucradas en la producción de VD₃, como son la 25-hidroxilasa y 1 α -hidroxilasa. Éstas se expresan en tejidos reproductivos (vesículas seminales, testículos, epidídimo y próstata) y en células (Leydig, en espermátidas elongadas, espermátocitos, espermátogonias y espermatozoides) y su cuantía varía dependiendo del tipo de enzima y de la localización dentro del propio tejido. Blomberg Jensen y colaboradores definieron estas diferencias de expresión y distribución, y estudiaron la concordancia en localización de estas enzimas con la de VDR (Blomberg Jensen et al. 2010). Las evidencias indicaban de nuevo que la VD₃ podría afectar al aparato reproductor masculino o ejercer alguna función en él.

Los niveles de expresión de VDR y 24-hidroxilasa (CYP24A1) en los espermatozoides predicen incluso la calidad seminal y se ha comprobado que hombres con insuficiencia de VD₃ poseen menor movilidad espermática que los normales (Blomberg Jensen 2014).

Estudios experimentales en ratas permitieron comprobar, no sólo que la deficiencia de VD₃ en machos producía una menor tasa de embarazo, sino que cuando se compensaba la hipocalcemia relacionada con la deficiencia de VD₃ mediante la suplementación de calcio, la fertilidad se restauraba solo parcialmente (Blomberg Jensen 2012), y que era necesario suplementar también con VD₃ para que la fertilidad volviera a la normalidad (Blomberg Jensen 2014). En ratones, la falta de VDR producía

un bajo recuento espermático y baja motilidad, aunque se normalizaba suplementando con calcio y estrógeno (Kinuta et al. 2000).

La 1,25-(OH)₂-D₃ produce además en ratones un incremento de la expresión de determinados genes en las células de Sertoli, colaborando de esta forma en la espermatogénesis (Hirai et al. 2009).

En humanos los efectos de la VD₃ se han venido estudiando durante mucho tiempo. Se sabe que la VD₃ es metabolizada en los testículos fetales en humanos a lo largo del desarrollo (Blomberg Jensen 2014). En un estudio de 1992 ya se comprobó una relación entre la estacionalidad y la concepción, por lo tanto una asociación con las variaciones de VD₃ durante las distintas estaciones (Rojansky et al. 1992). Posteriormente se observó, como ya se ha expuesto, efectos de esta estacionalidad en la calidad embrionaria y el resultado de TRA (Rojansky et al. 2000). Más adelante se estudiaron los efectos concretos en las características reproductivas masculinas, observándose que los niveles de 25-OH-D₃ no se correlacionaban con la concentración ni recuento espermático mientras que sí lo hacían con la motilidad y la morfología, tanto en hombres infértiles como en hombres sanos (Blomberg Jensen et al. 2011; Ramlau-Hansen et al. 2011; Blomberg Jensen 2014).

Sin embargo, los resultados no son uniformes ya que, mientras que en algunos estudios se observa una mejora de la motilidad espermática conforme mayores son los niveles de VD₃ séricos (Blomberg Jensen et al. 2011), otros estudios aprecian una disminución de la calidad seminal (recuento total y morfología normal) cuando se trata de niveles muy altos de VD₃, aunque esta asociación pasaba a no ser significativa una vez se hacía un ajuste de variables (Ramlau-Hansen et al. 2011). A favor de la VD₃ está que la 1,25-(OH)₂-D₃ produce la salida de colesterol del espermatozoide y favorece la supervivencia espermática (Aquila et al. 2008).

Respecto su influencia en las variaciones hormonales, los trabajos que han estudiado cómo afectan los niveles de VD₃ a los de testosterona, estradiol, globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG), hormona antimulleriana (HAM), inhibina B, hormona luteinizante (LH) y hormona foliculoestimulante (FSH), han apreciado un aumento de la testosterona tras la suplementación de VD₃ (Pilz et al. 2011). Esta relación entre los niveles de esta vitamina y de testosterona ha sido observada también

con posterioridad (Nimptsch et al. 2012). Se ha visto una conexión directa entre los niveles en suero de 25-OH-D₃ y los niveles de testosterona total y biodisponible (Rafiq et al. 2015; Wehr et al. 2010).

La suplementación con VD₃ también aumenta los niveles de testosterona en hombres obesos (Pilz et al. 2011), aunque se requieren más estudios para demostrar si ésta podría mejorar sus opciones reproductivas de este modo (Buhling & Laakmann 2014).

No se encontró relación entre los niveles de VD₃ séricos con los de estradiol (Ramlau-Hansen et al. 2011; Rafiq et al. 2015), ni con SHBG, LH ni FSH (Rafiq et al. 2015) o inhibina B (Blomberg Jensen et al. 2011).

Por otro lado, la HAM se ve aumentada conforme los niveles de VD₃ son mayores (Dennis et al. 2012).

En células del cáncer de próstata se ha observado que el tratamiento *in vitro* con VD₃ aumenta la expresión de la HAM (Malloy et al. 2009; Krishnan et al. 2007).

Los polimorfismos en genes relacionados con el metabolismo de la VD₃ parecen no estar asociados a los niveles hormonales (Rafiq et al. 2015).

A partir de todas estas observaciones y estudios podemos deducir que los niveles de VD₃ influyen positivamente en la espermatogénesis, maduración y capacidad de fecundación de los espermatozoides, además de influir en los niveles hormonales de testosterona y la HAM. Además, otras acciones de la VD₃ podrían regular también la función testicular de manera indirecta.

Influencia de la Vitamina D₃ en la fertilidad femenina

Papel de la Vitamina D₃ en la reserva ovárica y desarrollo folicular

La reserva ovárica está representada por el conjunto de folículos que hay en los ovarios, incluyendo todos los estadios de desarrollo en los que se encuentran. Los métodos más comunes para medir la reserva ovárica son: ecográficamente a través del recuento de folículos antrales (RFA), y hormonalmente mediante la HAM y la FSH. La HAM es la más empleada al ser la más indicativa y menos variable (Jirge 2011).

La HAM es una glicoproteína de la familia de los "factores de crecimiento transformantes" o "TGF" que se produce en las células de granulosa de los folículos primarios, preantrales y antrales pequeños. Es secretada a la circulación sanguínea y su efecto principal, al unirse a su receptor, es el de suprimir la maduración folicular, evitando el crecimiento y desarrollo de los folículos, y así permitir la selección de algunos de ellos para la ovulación. La HAM va declinando con la edad, reflejando la disminución en la reserva ovárica (Irani & Merhi 2014).

La FSH es otro modo de medir la reserva ovárica. Las células de la granulosa humanas tienen sensibilidad a esta hormona durante la primera fase del desarrollo folicular (metafase I) pero la pierden al llegar a fases de maduración (metafase II) (Merhi, Doswell, et al. 2014). La FSH basal se mide el día 3 del ciclo menstrual. Se sabe que sus niveles aumentan conforme avanza la depleción de los folículos por lo que tiene una relación inversa con la reserva ovárica. La desventaja de la FSH como marcador de reserva ovárica es su variabilidad, y por eso suele usarse más la HAM (Jirge 2011).

Diversos estudios han obtenido resultados relacionando los niveles de VD₃ con la HAM o la FSH. En 2009 se demostró que en el promotor del gen de la HAM se encontraba un VDRE, lo que indicaba que debía existir una relación entre la VD₃ y la HAM (Malloy et al. 2009).

En células de la granulosa de gallina se ha visto que la expresión del ARN mensajero (ARNm) de la HAM disminuye conforme mayores son los niveles de VD₃, mientras que el ARNm del receptor de FSH y la proliferación aumentan (Wojtusik & Johnson 2012). En células de la granulosa de humano la expresión del ARNm del receptor de la HAM y del receptor de FSH se ve disminuida conforme mayores son los

niveles en fluido folicular de 25-OH-D₃. Esto indica un mayor estado de maduración de los folículos, que evitan el efecto inhibitor de la HAM a la vez que se favorecen la fase de independencia de la FSH (Merhi, Doswell, et al. 2014; Irani & Merhi 2014).

Por otro lado, cuando se estudia la relación de los niveles séricos de VD₃ con los de HAM se observan variaciones estacionales de los niveles de HAM, de igual modo que de VD₃, de manera proporcional. La suplementación con VD₃ evita estas variaciones en la VD₃ y también en la HAM (Dennis et al. 2012) y en mujeres con SOP el aporte de VD₃ permite disminuir los niveles anormalmente elevados de HAM (Irani & Merhi 2014). Hay por tanto una correlación entre los niveles séricos de la VD₃ y de la HAM (Dennis et al. 2012).

RESERVA OVÁRICA		
Tratamiento <i>in vitro</i> con VD₃	Células de la granulosa de gallina	∇ARNm de la HAM △ARNm del receptor de la FSH
	Células de cáncer de próstata humanas	△ARNm de la HAM
	Células de la granulosa humanas	∇ARNm del receptor de la HAM ∇ARNm del receptor de la FSH
Niveles séricos	Correlación entre los niveles séricos de 25-OH-D ₃ y HAM Relación inversa entre los niveles de VD ₃ y de FSH	
Suplementación con VD₃	∇Niveles de HAM en mujeres con SOP	
	Controla cambios estacionales de HAM	
	No produce cambios en niveles séricos de la HAM en mujeres con deficiencia en VD ₃	

Figura 6 - Efectos de la VD₃ en la reserva ovárica. El tratamiento *in vitro* con VD₃ disminuye la expresión de HAM y aumenta la del receptor de FSH en células de granulosa de gallina, aumenta la expresión de la HAM en células de cáncer de próstata humanas, y por otro lado disminuye la expresión de los receptores de HAM y FSH en células de granulosa humanas, indicando una mayor maduración folicular. Los niveles séricos de VD₃ se correlacionan con los de HAM mientras que tienen una relación inversa con los de FSH. La suplementación con VD₃ ayuda a disminuir los altos niveles de HAM en mujeres con SOP, controla las variaciones estacionales de HAM y en mujeres con deficiencia en VD₃ no influye en los niveles de HAM. (△:incremento, ∇:disminución)

Además, la HAM requiere la fosforilación de un factor conocido como Smad 1/5/8 para realizar sus acciones mediante su unión a su receptor; posteriormente el factor Smad 1/5/8 se dirige hacia el núcleo celular y conlleva la activación de genes encargados de las funciones de la HAM. Se ha comprobado que 1,25-(OH)₂-D₃ impide

también esta fosforilación y la localización de Smad 1/5/8 en el núcleo, impidiendo de este modo la acción de la HAM (Merhi, Doswell, et al. 2014).

Existe una relación inversa entre los niveles séricos de VD₃ y los de FSH urinaria. La deficiencia en VD₃ se corresponde con altos niveles de FSH y bajos niveles de HAM, indicando una baja reserva ovárica. Bajos niveles de VD₃ podrían influir en la reserva ovárica predisponiendo a una menopausia temprana (Jukic et al. 2015).

En resumen, unos mayores niveles de VD₃, potenciando la maduración folicular, serían útiles en las TRA con el objetivo de mejorar la Estimulación Ovárica Controlada (EOC), aunque, en la actualidad, se requieren más estudios sobre la suplementación de VD₃ con estos fines. Una deficiencia en VD₃ implicaría una menor reserva ovárica (menor HAM y más FSH), y un riesgo implícito de adelanto de la menopausia.

Importancia de la Vitamina D₃ en la esteroidogénesis

Las hormonas sexuales proceden del colesterol, que se obtiene de la dieta, o a partir de la transformación del acetil-CoA. Este colesterol sufre unos cambios gracias a las enzimas de las rutas de síntesis de hormonas sexuales (Shahrokhi et al. 2016). De las enzimas implicadas algunas han sido estudiadas en relación con la VD₃ y/o el tratamiento con VD₃.

A grandes rasgos se considera que la VD₃ estimula la esteroidogénesis ovárica (Anagnostis et al. 2013).

En estudios *in vitro* se ha demostrado que la expresión de ARNm de algunas isoformas de la familia de la 17β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (17β-HSD), encargada de la activación de las hormonas sexuales, es incrementada por efecto del tratamiento con 1,25-(OH)₂-D₃ en células del cáncer de próstata indicando una asociación entre la VD₃ y la síntesis de esteroides (Wang & Tuohimaa 2007). Además en queratinocitos se había visto ya esta alteración de la expresión tras el tratamiento *in vitro* (Hughes et al. 1997). En humanos se ha demostrado un aumento de la expresión de la 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa o 3β-HSD, necesaria para la síntesis de progesterona en células de la granulosa, lo que implica que la esteroidogénesis se vea potencialmente estimulada por efecto de la VD₃ (Merhi, Doswell, et al. 2014).

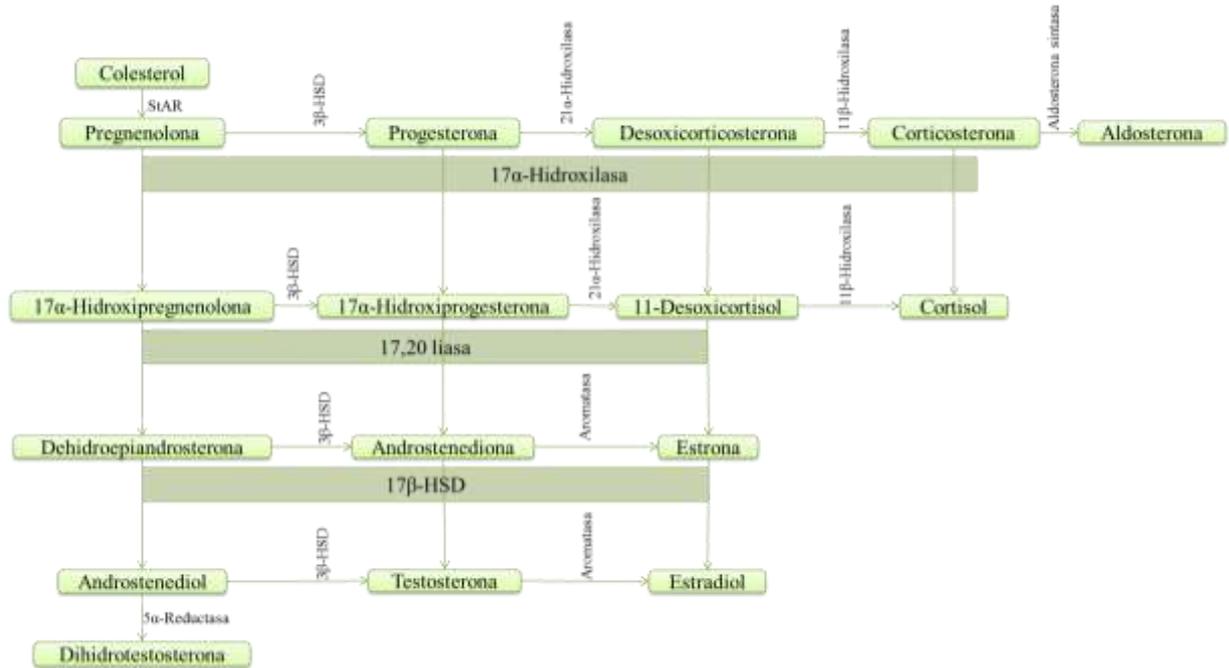


Figura 7 - Esteroidogénesis. Esquema de la síntesis de esteroides y enzimas implicadas.

La aromatasa, enzima que se encarga de la producción de estrógenos a partir de los andrógenos, también experimenta una alteración en la expresión génica durante los tratamientos con VD₃, que es dependiente del tejido (Shahrokhi et al. 2016). La VD₃ aumenta la expresión de la aromatasa en células del cáncer de mama, mientras que en las células del osteosarcoma la disminuye (Krishnan et al. 2010).

La VD₃ estimula la producción de estrógenos, progesterona y de la proteína de unión al factor de crecimiento insulínico 1 (IGF-1) en células humanas de ovario (Parikh et al. 2010), y en células placentarias, la producción de estrógeno y progesterona (Barrera et al. 2007).

Influencia de la Vitamina D₃ en la patología reproductiva

Influencia de la Vitamina D₃ en el Síndrome de Ovario Poliquístico

El Síndrome del Ovario Poliquístico o SOP es el trastorno endocrino más frecuente en la mujer y la causa más común de infertilidad ovulatoria (Azziz et al. 2009), afectando al 15-18% de las mujeres en edad reproductiva cuando se usan los criterios de Rotterdam (March et al. 2010). De presentación heterogénea, su amplio espectro de manifestaciones clínicas se expresa en diferentes grados de hirsutismo, irregularidades menstruales, obesidad, resistencia a la insulina (IR), hiperinsulinemia compensatoria e infertilidad. Las mujeres con SOP se caracterizan por una disfunción ovulatoria que conduce a oligo y/o anovulación, hiperandrogenismo clínico/bioquímico y morfología de ovario poliquístico (The Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshop group 2004).

La relación entre la VD₃ y el fenotipo SOP viene respaldada por un creciente apoyo de publicaciones que refuerzan las implicaciones entre los mecanismos de deficiencia de VD₃ y la resistencia a la insulina, inflamación, dislipidemia y obesidad, es decir, con aquellos fenómenos clínicos y metabólicos que se encuentran comúnmente en el SOP (Wehr et al. 2009; Hahn et al. 2006; Li et al. 2011; Krul-Poel et al. 2013). Aunque la mayoría de los estudios sobre niveles de VD₃ han demostrado que su deficiencia es más común en mujeres con SOP que en mujeres sanas (Li et al. 2011; Wehr, Trummer, et al. 2011; Mazloomi et al. 2012; Lerchbaum et al. 2012), es necesario un mayor respaldo de evidencia al existir trabajos con resultados opuestos (Mahmoudi 2009).

Es posible que los polimorfismos de VDR estén implicados tanto en la fisiopatología del SOP como en su severidad o susceptibilidad (Mahmoudi 2009; Zadeh-Vakili et al. 2013; Ranjzad et al. 2011). Así, mientras las variantes VDR Cdx2 y DHCR7 han sido asociadas con la resistencia a la insulina, las VDR Apa-I lo han hecho con las concentraciones de testosterona en el SOP (Mahmoudi 2009). En tanto que el genotipo Apa-I Aa se ha asociado con una disminución del riesgo de SOP, el genotipo aa se asoció con su aumento (Wehr, Trummer, et al. 2011).

Relación de la Vitamina D₃ con el IMC, IR e hiperandrogenismo

Teniendo en cuenta que la VD₃ es una hormona liposoluble, es posible que su secuestro en el tejido adiposo pudiera explicar el aumento de las tasas de deficiencia de VD₃ observado en mujeres con SOP (Wortsman et al. 2000).

Los niveles séricos de 25-OH-D₃ han demostrado que se correlacionan negativamente con el IMC, la obesidad central y las medidas de adiposidad (Turer et al. 2013; Guasch et al. 2012). Sin embargo, aunque la obesidad sí parece asociarse con la deficiencia de VD₃, el impacto de niveles bajos de 25-OH-D₃ sobre el IMC no está tan claro (Vimalaswaran et al. 2013). Refuerzan este hecho las observaciones de que los pacientes obesos suelen requerir dosis más altas de VD₃ para tratar la deficiencia de VD₃ que los que tienen un peso normal (Aguirre Castaneda et al. 2012; Muscogiuri et al. 2012).

La asociación inversa entre concentraciones de 25-OH-D₃, IMC o IR, también ha sido recogida en diferentes estudios observacionales. En un estudio sobre 38 mujeres con SOP, el análisis de regresión multivariante mostró que las bajas concentraciones de 25-OH-D₃ estuvieron determinadas por el grado de adiposidad, permitiendo hipotetizar que la deficiencia de VD₃ en SOP es consecuencia de la obesidad y que, a través de esta vía, podría agravarse la resistencia a la insulina de forma independiente (Muscogiuri et al. 2012). Este resultado estaba en consonancia con otros estudios previos, en donde la resistencia a la insulina en SOP era más profunda de lo que el IMC podría predecir (Dunaif et al. 1989). Ott observó que el IMC y la deficiencia de 25-OH-D₃ se comportaban como parámetros predictivos independientes tanto del desarrollo folicular como del embarazo en mujeres anovulatorias con SOP tratadas con citrato de clomifeno (Ott et al. 2012).

Aunque en la actualidad parece prematuro establecer relación causal entre la deficiencia de VD₃ y la resistencia a la insulina en pacientes con SOP, disponemos de estudios como los de Hahn, que confirman una asociación entre niveles bajos de VD₃ con la IR en 120 mujeres diagnosticadas con SOP (Hahn et al. 2006), o los de Li, en el que las mujeres con SOP y déficit severo de VD₃ presentaban más resistencia a la insulina, independientemente del IMC y la relación cintura-cadera (RCC) (Li et al.

2011), o los de Panidis, en los que evaluando a 291 mujeres con SOP y 109 controles, se informó de una asociación inversa entre niveles de 25-OH-D₃ con la obesidad y también con un IMC asociado a la IR (Panidis et al. 2005).

Estudios de suplementación con VD₃, diferentes a los observacionales, han constatado también esta relación ya que en ellos la administración de VD₃ mejoraba el IR y reducía los andrógenos en suero (Belenchia et al. 2013; Kotsa et al. 2009; Wehr, Pieber, et al. 2011). Belenchia y colaboradores, en un ensayo controlado y aleatorio, demostró que la corrección de la deficiencia de VD₃ en los obesos adolescentes se asociaba con una mejoría significativa en la sensibilidad a la insulina (Belenchia et al. 2013). Kotsa, al evaluar el efecto de la suplementación con 1 µg de 1α-OH-D₃ sobre el índice de sensibilidad a la insulina en 15 mujeres obesas con SOP, observó una mejoría en la primera fase de la secreción de insulina y una disminución significativa de lipoproteínas de alta densidad (HDL) y triglicéridos, sin cambios en el IMC (Kotsa et al. 2009).

Obermayer y colaboradores, tras una suplementación semanal de 20.000 UI de colecalciferol durante 24 semanas en 57 mujeres con SOP y una media de IMC de 25,4 kg/m², observó una disminución significativa, en ayunas y tras la estimulación, de las concentraciones de glucosa y péptido C. El 50% de las mujeres que previamente tenían oligomenorrea, normalizaron o mejoraron sus ciclos menstruales después de la suplementación de VD₃. La concentración media de 25-OH-D₃ después del tratamiento fue 52,2 ng/ml (Wehr, Pieber, et al. 2011).

Sin embargo estos resultados no han sido confirmados por un estudio controlado con placebo, en que no hubo diferencias significativas en la sensibilidad a la insulina en comparación con el placebo después de un período de tratamiento de 2 meses (Ardabili et al. 2012). No obstante, la crítica a este estudio es que las concentraciones de 25-OH-D₃ después los suplementos de VD₃ podrían no haber sido suficientes (23,4±6,1 ng/ml).

Los mecanismos aceptados por los que la VD₃ guardaría relación con la IR serían:

- a) Estimulación en la expresión de los receptores de insulina, que conlleva un aumento en la capacidad de respuesta a la insulina para el transporte de glucosa y una disminución en la sensibilidad a la insulina (Maestro et al. 2003).
- b) Regulación de más de 300 genes, incluyendo genes implicados en el metabolismo de la glucosa, a través de los complejos de VD₃ unida a su receptor D/VDR (Kim et al. 2014).
- c) Supresión de citoquinas (Teegarden & Donkin 2009).

Respecto de la relación entre VD₃ e hiperandrogenismo, disponemos de estudios en los que la deficiencia de VD₃ en pacientes con SOP se asoció con un desequilibrio en los marcadores de hiperandrogenismo y se correlacionó con los niveles de testosterona, dehidroepiandrosterona (DHEAS) y con la relación LH/FSH (Hahn et al. 2006; Yildizhan et al. 2009), contribuyendo de esta forma a la desregulación hormonal en pacientes con SOP (Kozakowski et al. 2014).

Aunque en otros trabajos no se observó su correlación con los niveles de testosterona total, testosterona libre y el índice de andrógenos libres (FAI), sí se mantenía una asociación significativa con los niveles de la SHBG (Wehr et al. 2009).

Relación de la Vitamina D₃ con la función ovárica en SOP

Los productos finales de glicación avanzada (AGE) son un grupo heterogéneo de moléculas proinflamatorias constituido por proteínas, lípidos o ácidos nucleicos altamente reactivos que resultan de la interacción no enzimática entre los azúcares reductores (principalmente glucosa) y sus residuos amino libres (Goh & Cooper 2008). Estos AGEs, tras unirse a receptores de la superficie celular (RAGE), dañan las estructuras celulares a través de la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la síntesis de citoquinas proinflamatorias (Wautier et al. 2001).

Existen numerosas evidencias al respecto de una asociación entre el sistema AGE-RAGE y ciertos aspectos del SOP, incluida la obesidad (Vazzana et al. 2012),

resistencia a la insulina (Unoki & Yamagishi 2008), disfunción de los adipocitos (Jia et al. 2012) y disfunción de las células de la granulosa (Diamanti-Kandarakis et al. 2007).

Aunque la formación de AGE ocurre lentamente en condiciones fisiológicas, la IR, como un contribuyente importante en la fisiopatología del SOP, podría acelerar la generación de estos compuestos, que al acumularse en la teca y células de la granulosa, acaban interfiriendo y alterando la función ovárica (Diamanti-Kandarakis et al. 2007).

El sistema AGE-RAGE podría ser la causa del fallo de la ovulación comúnmente visto en pacientes con SOP (Diamanti-Kandarakis et al. 2013), al interferir con la acción de la LH y afectar al desarrollo normal del folículo.

Para defenderse del daño generado por estas moléculas, la célula dispone de unas isoformas solubles del receptor de AGE (sRAGE) que son capaces de detectarlos y unirse a ellos para inhibir competitivamente las interacciones AGE-RAGE. Un aumento en los niveles séricos de sRAGE tendría efectos beneficiosos al suprimir la respuesta inflamatoria (Merhi 2014). Los niveles de sRAGE en líquido folicular de mujeres sometidas a técnicas de FIV ha sido correlacionado positivamente con la dosis necesaria de gonadotropina por ciclo (se necesita menos dosis), número de ovocitos recuperados y niveles de HAM en líquido folicular (Merhi, Irani, et al. 2014).

El efecto beneficioso de la suplementación de VD₃ sobre la función ovárica pudo observarse en un trabajo que incluía a 67 mujeres, con o sin SOP, diagnosticadas de déficit de VD₃ (Irani et al. 2014). Este estudio demostró que la suplementación de VD₃ en mujeres con SOP aumentó significativamente los niveles de sRAGE en suero y disminuyó, también de manera significativa, las concentraciones séricas, anormalmente elevadas, de HAM. Este cambio, sin embargo, no se produjo en las mujeres sin SOP.

La disminución sérica de los niveles anormalmente elevados de HAM en pacientes con SOP podría mejorar potencialmente el proceso ovulatorio, al disminuir el nivel de andrógenos intrafoliculares y aumentar la sensibilidad folicular a la FSH (Chang et al. 2013).

Además de este papel beneficioso sobre la función ovárica, la VD₃ ejercería otra valiosa función al haber sido involucrada en el desequilibrio entre mecanismos pro y antiapoptóticos descritos en el SOP. La deficiencia de VD₃ podría aumentar las concentraciones de proteínas antiapoptóticas, como la fosfoproteína enriquecida en

diabetes (PED/PEA-15) (Savastano et al. 2011), contribuyendo de esta forma al deterioro del mecanismo apoptótico del ovario que conduciría a un exceso de folículos.

Relación de la Vitamina D₃ con las irregularidades menstruales en SOP

Como ya se ha expuesto, el número de estudios disponibles para evaluar los efectos beneficiosos de la suplementación con VD₃ en el SOP es limitado.

En 1999 un trabajo de suplementación de VD₃ y calcio durante un período de 6 meses en mujeres con SOP, observó la normalización de los ciclos menstruales en 7 de las 9 mujeres oligomenorreicas (Thys-Jacobs et al. 1999). Estos resultados fueron confirmados 10 años después en otro trabajo en el que 60 mujeres con SOP fueron incluidas al azar en tres grupos: suplementados con calcio y VD₃, metformina o ambos (Rashidi et al. 2009). Las mujeres en el grupo de combinación de tratamiento demostraron mayor número de folículos dominantes en los 3 meses de seguimiento.

En otro estudio llevado a cabo en 57 mujeres con SOP durante 24 semanas, el 50% de las mujeres con oligomenorrea normalizaron o mejoraron sus ciclos menstruales después de la suplementación de VD₃ (Wehr, Pieber, et al. 2011).

Relación de la Vitamina D₃ con el éxito reproductivo en mujeres con SOP

La inducción de la ovulación constituye la primera aproximación para el tratamiento del SOP relacionado con la infertilidad ovulatoria (Vause et al. 2011).

En un reciente trabajo retrospectivo de Pal y colaboradores (Pal et al. 2015) en el que se utilizaron muestras sanguíneas almacenadas de 626 mujeres que habían participado en un estudio sobre embarazo en el SOP para la evaluación de los niveles de 25-OH-D₃, se observó:

- a) La probabilidad de obtener ovulación tras el tratamiento varió directamente en función del nivel de VD₃ en aquellas pacientes con deficiencia de VD₃, insuficiencia y estado normal (68%, 77% y 78% respectivamente) (p=0,050). Las mujeres con deficiencia de VD₃ tuvieron significativamente menos probabilidades de ovular en comparación con aquellas con niveles de 25-OH-D₃ \geq 20 ng/ml (p=0,006).

b) Los niveles séricos de 25-OH-D₃ fueron significativamente mayores en aquellas mujeres que tuvieron un nacido vivo (25.34±10.39 ng/ml) respecto de las que no lo lograron (23,16±9,71 ng/ml), p=0,046. Por cada 1 ng/ml de aumento de 25-OH-D₃, se incrementa la probabilidad de nacido vivo en un 2% (OR 1,02).

Estas probabilidades aumentaban progresivamente a partir de niveles de 25-OH-D₃ > 38 ng/ml (OR 1,42 con 38 ng/ml, OR 1,51 con ≥ 40 ng/ml y OR 4,5 con ≥ 45 ng/ml).

Esta respuesta demostró ser bidireccional ya que la probabilidad de nacido vivo también disminuía progresivamente a medida que lo hacían los valores plasmáticos de 25-OH-D₃. La proporción de mujeres con insuficiencia de VD₃ (< 30 ng/ml) fue significativamente más alta entre aquellas que no obtuvieron un nacido vivo (75% vs 63%, p=0,013) y la probabilidad de lograrlo se reducía en un 44% para las mujeres con nivel de 25-OH-D₃ <30 ng/ml (OR 0,58).

c) Las probabilidades de aborto disminuían a medida que aumentaban los niveles de VD₃. Un nivel de 25-OH-D₃ ≥ 38 ng/ml se asoció con un 82% menos de probabilidades de aborto en comparación con los niveles inferiores (OR 0,18).

En base a estos resultados, los autores reafirmaron la relevancia de disponer de unos niveles adecuados de 25-OH-D₃ para el éxito reproductivo en mujeres con SOP tratadas mediante inducción de ovulación. Estos niveles deben ser superiores a los 30 ng/ml que se consideran como normales y proponen niveles de 25-OH-D₃ de ≥ 45 ng/ml como "óptimos" para las mujeres que intentan concebir.

Concluyen estos autores que dada la relación inversa reconocida entre el IMC y niveles de 25-OH-D₃ en suero, y la mayor carga inflamatoria y metabólica originada por la obesidad, podría argumentarse que el IMC debería tenerse en cuenta a la hora de definir los valores para el estado VD₃. A tal fin, estos autores crearon una variable llamada BMI^aD que ajustaba los niveles de 25-OH-D₃ con el IMC. En comparación con la 25-OH-D₃, esta BMI^aD demostró una asociación más robusta con variables hormonales y metabólicas.



Figura 8 – Efectos de la VD₃ en mujeres con SOP.

Influencia de la Vitamina D₃ en la endometriosis

La endometriosis es definida como la presencia de glándulas endometriales y estroma funcional en lugares ectópicos que inducen una reacción inflamatoria local. Afecta al 6%-10% de las mujeres en edad reproductiva y se considera una enfermedad crónica, benigna y dependiente de los estrógenos que está asociada con dismenorrea, dispareunia, dolor pélvico crónico, e infertilidad (Eskenazi & Warner 1997). Aunque fue descrita por primera vez en 1860 por von Rokitansky como adenomioma, el término actual de endometriosis se debe a Sampson (Benagiano & Brosens 2006).

A pesar de haber transcurrido más de 150 años desde su descripción original, y ante el desconocimiento de su patogenia, se siguen postulando diferentes teorías para justificar la heterogeneidad clínica de esta enfermedad, que básicamente se agrupan en función de considerar un origen uterino o extrauterino.

Entre las teorías basadas en un origen no uterino, están:

- a) La teoría de la metaplasia celómica de Meyer (Meyer 1919) basada en que el epitelio genital representa distintos grados de diferenciación del epitelio celómico.
- b) La teoría de los restos embrionarios mullerianos de Recklinghausen (Recklinghausen 1896), por la que la endometriosis podía provenir de restos celulares embrionarios, justificando así la existencia de endometrio ectópico.
- c) La teoría de las células progenitoras de la médula ósea, la más reciente, por la que células provenientes de la médula ósea se diferenciarían en tejido endometrial en diferentes localizaciones (Sasson & Taylor 2008).

Entre las teorías basadas en un origen endometrial, se encuentran: a) la teoría de la implantación por menstruación retrógrada de Sampson, que es la más ampliamente aceptada (Sampson 1927), y b) la de la diseminación linfática y hematógena de las células endometriales (Gong & Tempfer 2011). La primera supone que la endometriosis es causada por la siembra de células endometriales por la migración transtubárica durante la menstruación a la cavidad abdominal. La segunda explicaría las lesiones endometriósicas extraabdominales.

Levander trató de vincular las teorías de la metaplasia de Meyer y la del reflujo retrógrado endometrial por las trompas propuesto por Sampson (Levander 1941). La presencia de este reflujo menstrual anormal irritando el peritoneo generaría elementos activadores y factores de crecimiento facilitadores de la implantación y crecimiento, induciendo metaplasia. Esta teoría unificadora se apoya en conceptos inmunológicos ya que el sistema inmune participa en la homeostasis de la cavidad peritoneal.

Posibles aproximaciones entre Vitamina D₃ y endometriosis

Los efectos pleiotrópicos de la VD₃ en distintas vías fisiológicas le otorgan importantes propiedades antiinflamatorias, inmunomoduladoras y antiproliferativas, que pueden jugar un papel central en la patogénesis y tratamiento de la endometriosis como enfermedad compleja (Liu et al. 2006). El endometrio humano puede ser incluido entre aquellos lugares extrarrenales capaces de convertir la VD₃ en su forma activa ya que la enzima 1 α -hidroxilasa, que cataliza la síntesis de 1,25-(OH)₂-D₃, se expresa tanto en el endometrio eutópico como en el ectópico (Viganò et al. 2006).

a) Aproximaciones a la patogenia.

a.1) Correlación entre los niveles de VD₃ y endometriosis.

La posible relación entre la endometriosis y la VD₃ fue informada por primera vez por Hartwell, al observar mayores niveles séricos de 1,25-(OH)₂-D₃ y niveles similares de 25-OH-D₃ en un pequeño grupo de mujeres con endometriosis respecto del grupo control (Hartwell et al. 1990).

Somigliana comprobó en 87 mujeres con endometriosis y 53 controles, que los niveles de 25-OH-D₃ se incrementaron significativamente en el suero de mujeres con

endometriosis independientemente de la estacionalidad, la edad y la terapia, con diferencias más llamativas en los estadios avanzados (Somigliana et al. 2007).

Sin embargo, otras investigaciones no sólo no han confirmado estos resultados, sino que han llegado a conclusiones opuestas (Agić et al. 2007; Borkowski et al. 2008). En el mayor estudio de cohortes y prospectivo publicado por Harris, que comprendía 1385 casos de endometriosis confirmada laparoscópicamente, recogidas durante un período de 14 años, desde 1991 a 2005, en 70.556 mujeres americanas, se observó que el nivel plasmático de 25-OH-D₃ se asoció inversamente con la presencia de endometriosis (Harris et al. 2013). Las mujeres situadas en el quintil más alto de nivel de VD₃ tenían un riesgo 24% menor de endometriosis que aquellas situadas en el quintil más bajo (RR:0,76). El contraste con los trabajos anteriores podría ser explicado por la heterogeneidad, naturaleza y pequeño tamaño muestral de los estudios previos.

La dieta podría influir en la presencia de endometriosis a través de efectos sobre los mecanismos inflamatorios, contractilidad del músculo liso, funciones inmunes y efectos estrogénicos. La posible implicación del estrés oxidativo en la fisiopatología de la endometriosis motivó la evaluación de la influencia de agentes antioxidantes, como las vitaminas A y E, sin que se demostrase una asociación con la endometriosis (Jackson et al. 2014). Pero pocos estudios han examinado la relación entre la dieta y la endometriosis, y, como consecuencia, la influencia de los niveles de VD₃.

El primer artículo científico que abordó la relación entre dieta y endometriosis fue publicado en 2004 por Parazzini. Tras evaluar a 504 mujeres de edades comprendidas entre los 20 y los 65 años se encontró que la mayor ingesta semanal de frutas y verduras se asoció inversamente con el riesgo de desarrollar la enfermedad (verduras: RR:0,3; p=0,002; y frutas: RR:0,6; p=0,002) (Parazzini et al. 2004). Por el contrario, el consumo de carne roja, embutidos y salchichas fue identificado como un factor de riesgo para el desarrollo de la enfermedad. No encontraron ninguna asociación entre la ingesta de leche o queso y riesgo de endometriosis.

Más recientemente, Trabert concluyó con resultados contradictorios ya que encontró que las grandes consumidoras de frutas tenían más riesgo de endometriosis (Trabert et al. 2011). Sin embargo observó una asociación inversa, aunque no significativa, entre alimentos lácteos y el consumo de calcio y la endometriosis

confirmada quirúrgicamente (en el cuartil superior de ingesta, OR:0,7 para los productos lácteos y OR:0,7 para el calcio). Esta asociación no se obtuvo para la VD₃.

En el estudio de Harris se observó que en las mujeres consumidoras de más de 3 porciones de alimentos lácteos por día, la probabilidad de ser diagnosticadas de endometriosis era un 18% menor que en las que consumían dos porciones por día (RR:0,82) (Harris et al. 2013). En ese estudio, el nivel plasmático de 25-OH-D₃ sí se asoció inversamente con la existencia endometriosis.

a.2) Influencia inmunomoduladora de la VD₃ y la endometriosis.

El defecto inmunológico para el reconocimiento y eliminación de los fragmentos de endometrio vertidos en la cavidad peritoneal se ha considerado esencial en el desarrollo de la endometriosis (Eisenberg et al. 2012).

La VD₃ tiene un papel esencial en la respuesta inmune. Promueve el abandono de las respuestas de tipo Th1 y favorece una inmunidad de tipo Th2 mediante la inhibición de la secreción de IL-12, IL-2, factor de necrosis tumoral (TNF) e interferón, por células T, macrófagos, y células dendríticas (D'Ambrosio et al. 1998; Long & Santos 1999). Suprime tanto la proliferación de linfocitos como la síntesis de inmunoglobulinas, inhibe la acción de los factores de transcripción proinflamatorios y también la producción de diferentes citoquinas, tales como IL-2 e IL-12, entre otras (Froicu et al. 2003). La mayor parte de las actividades biológicas de la VD₃ están dirigidas por un receptor de alta afinidad (VDR), localizado en el cromosoma 12 (12q13.11) que media los efectos de la VD₃ en la regulación de la transcripción de múltiples genes (Whitfield et al. 1995).

Ya que los linfocitos activados CD4⁺ CD8⁺, macrófagos y células dendríticas, expresan ampliamente VDR, y los antígenos presentadores de células, macrófagos y células dendríticas poseen actividad 1 α -hidroxilasa y 24-hidroxilasa (Baeke et al. 2007; Mathieu & Adorini 2002), se ha sugerido que la 1,25-(OH)₂-D₃ puede ser producida localmente en el sistema inmunitario y desempeña una función autocrino-paracrina (Etten et al. 2008).

La asociación entre la deficiencia de VD₃ y el aumento del riesgo de enfermedades (Peterlik & Cross 2005) y su relación estacional, correlacionada con diferentes niveles séricos de VD₃ (Iikuni et al. 2007), en su inicio y en su exacerbación,

como la artritis reumatoide (AR) con un pico a finales del invierno, refuerza esta relación.

Sin embargo, la relación con la endometriosis aún es confusa y se mantiene compleja, ya que, como describimos anteriormente, existen estudios que han asociado la endometriosis tanto con una reserva de 25-OH-D₃ normal, como alta (Somigliana et al. 2007; Agic et al. 2007; Borkowski et al. 2008), en lugar de la baja reserva que podría esperarse. Además, las manifestaciones de la endometriosis no exhiben picos estacionales que podrían correlacionarse con los cambios estacionales en los niveles de 25-OH-D₃.

Es posible que el papel inmunomodulador de la VD₃ en la endometriosis, en caso de existir, sea local, autocrino y/o paracrino, a nivel de los focos de endometriosis o de las lesiones. En un estudio experimental en ratas a las que se les había inducido endometriosis, se observó que aquellas que habían sido tratadas con VD₃ redujeron en un 48,8% el tamaño de la lesión (Abbas et al. 2013).

Teniendo en cuenta que la endometriosis es una enfermedad dependiente de estrógenos, se ha sugerido que los niveles séricos de VD₃ asociados con polimorfismos de VDR pudieran aumentar la susceptibilidad a la enfermedad. Sin embargo, un reciente estudio de Vilarino en 132 mujeres brasileñas infértiles con endometriosis y 133 controles, no encontró relación entre estos polimorfismos y la endometriosis (Vilarino et al. 2011).

Por último, se ha considerado que los polimorfismos séricos del DBP, podrían suponer otro elemento relacional entre la VD₃ y la endometriosis. Niveles de DBP significativamente más altos se han observado en mujeres con endometriosis en comparación con los controles (Faserl et al. 2011).

Es posible que la incapacidad para activar suficientemente la función fagocítica en mujeres con endometriosis, debido a polimorfismos específicos en DBP (Gc2) pudiera permitir la implantación del tejido endometrial en la cavidad peritoneal y explicar los niveles superiores de macrófagos y de citoquinas (IL-1 β , TNF- α y factor de crecimiento endotelial vascular) en el líquido peritoneal, en comparación con los controles, al no inhibirse la capacidad implantatoria.

a.3) Influencia antiproliferativa de la VD₃ en la endometriosis.

Un ensayo controlado con placebo, doble ciego y aleatorio sobre 1179 mujeres reveló que mejorando la calcemia y el estado de VD₃ se reducía sustancialmente la aparición del riesgo de cáncer en mujeres postmenopáusicas (Lappe et al. 2007).

La 1,25-(OH)₂-D₃ ha demostrado una actividad antineoplásica actuando como un factor de transcripción en los mecanismos centrales de la tumorigénesis (crecimiento, diferenciación celular y apoptosis) (Vuolo et al. 2012) inhibiendo las serina-proteinasas, metaloproteinasas, y la angiogénesis (Seubwai et al. 2007).

La endometriosis es tratada como un proceso benigno pero invasivo, que tiende a progresar y recidivar. Sin embargo, las mujeres con endometriosis tienen el doble de riesgo de desarrollar cáncer de ovario, en comparación con controles, un riesgo que es 4 veces mayor si también sufren de infertilidad (Oral et al. 2003). El potencial efecto antiproliferativo/antineoplásico de la 1,25-(OH)₂-D₃ en las lesiones del endometrio actualmente sigue siendo especulativo.

b) Aproximaciones terapéuticas de la VD₃ en la endometriosis.

b.1) Papel de la VD₃ en la infertilidad asociada a la endometriosis.

En el estudio de cohortes ENDO se diagnosticó endometriosis en el 41% de mujeres en edad fértil sometidas a cirugía, mientras que para la población general la prevalencia observada era del 11% (Buck Louis et al. 2011). En otro estudio más reciente, se encontró endometriosis en el 48% de pacientes con esterilidad (Mishra et al. 2015).

En general, se estima que aproximadamente el 25%-50% de las mujeres infértiles tienen endometriosis y que el 30%-50% de las mujeres con endometriosis son infértiles (Missmer et al. 2004).

Entre los mecanismos que explican la infertilidad asociada a la endometriosis se incluyen: distorsión anatómica, modificaciones en la función peritoneal, alteraciones en el ambiente folicular y foliculogénesis y defectos implantatorios por alteraciones en la receptividad endometrial (The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine 2012).

Los metabolitos de la VD₃ han sido implicados en los mecanismos de implantación endometrial tanto en modelos animales como en seres humanos.

La baja expresión de las integrinas $\alpha\beta_3$, biomarcadores conocidos de la ventana de implantación, ha sido descrita en la mitad de las mujeres con endometriosis y podría explicar la alta tasa de fracaso de las TRA en esta población (Donaghay & Lessey 2007).

El papel de la 1,25-(OH)₂-D₃ en implantación probablemente se deba a su capacidad para la activación transcripcional directa del gen HOXA10, un potente estimulador de la $\alpha\beta_3$ (Taylor et al. 1999), que induce la diferenciación de las células endometriales a deciduales (Du et al. 2016). Los pacientes con raquitismo por incapacidad de convertir la 25-OH-D₃ a 1,25-(OH)₂-D₃, tienen una decidualización defectuosa (Glorieux et al. 1995) y, experimentalmente, se ha demostrado que el tratamiento con 1,25-(OH)₂-D₃ induce decidualización en el útero de rata (Halloran & DeLuca 1980b).

El HOXA10 se expresa cíclicamente en el endometrio de adultos en respuesta a estrógenos y progesterona y regula la receptividad del endometrio durante la ventana de implantación (Taylor et al. 1998). La menor expresión de genes en el HOXA10 en el endometrio eutópico y ectópico de endometriosis podría estar asociada tanto a su patogénesis, como a la infertilidad derivada (Deng et al. 2011).

b.2) Papel de la VD₃ en el dolor pélvico asociado a la endometriosis.

La endometriosis es la causa más común de dolor pélvico crónico en las mujeres en edad fértil que implica importantes repercusiones tanto físicas como de relación social (Milingos et al. 2006; Simoens et al. 2007).

Un estudio doble ciego aleatorizado en 40 mujeres (20 con endometriosis y 20 controles) durante un período de estudio de 60 días, concluyó con una reducción del 41% en la puntuación media del dolor ($p < 0,01$) en el grupo que fue tratado con una única dosis oral de colecalciferol (300.000 UI/ml) 5 días antes de la menstruación esperada (Lasco et al. 2012). La mayor reducción de las puntuaciones de dolor ($r: -0,76$; $p < 0,01$) fue observada en mujeres con dolor severo al inicio del estudio.

La reducción del dolor se explica por la acción que tiene la 1,25-(OH)₂-D₃ sobre el endometrio, disminuyendo la síntesis de prostaglandinas (por supresión de la ciclooxigenasa 2) e inactivándolas a través de la regulación de la 15-deshidrogenasa hidroxiprostaglandina (Sayegh et al. 2014), y por los efectos antiinflamatorios de la 1,25-(OH)₂-D₃ al bloquear la producción de citoquinas a través de la activación de p38 (Krishnan & Feldman 2011).

Otro mecanismo que se ha propuesto de reducción del dolor se basa en la propiedad de la 1,25-(OH)₂-D₃ para reducir la angiogénesis *in vivo* (Trump et al. 2010). El dolor en la endometriosis podría estar relacionado con la génesis de fibras nerviosas por un proceso de neuroangiogénesis iniciado en los focos de endometriosis y en las lesiones locales (Stratton & Berkley 2011), que propagaría los estímulos dolorosos a múltiples segmentos de la médula espinal originando síndromes de dolor tales como el síndrome de vejiga dolorosa y síndrome del intestino irritable.

b.3) Uso de los agonistas de VDR en el tratamiento de la endometriosis en general.

Los efectos pleiotrópicos ejercidos por la 1,25-(OH)₂-D₃ y sus análogos, y sus propiedades inmunorreguladoras, y antiinflamatorias podrían ser beneficiosas en condiciones proliferativas, tales como psoriasis, o en aquellas caracterizadas por una inflamación crónica, como artritis reumatoide, el lupus eritematoso sistémico, y la prostatitis autoinmune (Nagpal et al. 2005). El inconveniente es la hipercalcemia asociada a la 1,25-(OH)₂-D₃.

El elocalcitol (1- α -fluoro-25-hidroxi-16,23E-dieno-26,27-bishomo-20-epi-colecalciferol), es un agonista de VDR con baja respuesta calcémica y propiedades bien definidas antiproliferativas y antiinflamatorias, que se ha estudiado en condiciones inflamatorias crónicas (Adorini et al. 2007) y su eficacia establecida en la hiperplasia benigna de próstata.

Este agonista ha sido utilizado para inhibir la respuesta inflamatoria por la vía de la unión al factor nuclear kappa-beta ($\kappa\beta$), que se activa constitucionalmente en las células de endometriosis. Esta vía también se ha implicado en la producción de IL-8, dando como resultado el reclutamiento de macrófagos y NK (células asesinas naturales) (Guo 2006). Experimentalmente, el elocalcitol administrado en ratas a dosis de 100mg/kg una vez al día, fue capaz de reducir el peso total de la lesión endometriósica

hasta en un 70%, y de inhibir el reclutamiento de macrófagos en el peritoneo (Mariani et al. 2012).

c) Aproximaciones al diagnóstico.

Ya se ha expuesto que los polimorfismos séricos del DBP podrían suponer un elemento relacional entre la VD₃ y la endometriosis.

Aunque la tendencia actual va dirigida hacia la evaluación de biomarcadores séricos, el análisis urinario proteómico, mediante electroforesis de dos dimensiones, cromatografía de líquidos y/o espectrometría de masas, ha sido propuesto como un nuevo método de diagnóstico y de estadiaje de la endometriosis (El-Kasti et al. 2011; Vodolazkaia et al. 2012).

En un estudio coreano que usó técnicas proteómicas en muestras de orina de mujeres con y sin endometriosis, se reveló la expresión diferencial de 22 manchas de proteínas, una de las cuales se identificó como DBP urinaria. Esta DBP urinaria corregida para la expresión de creatinina (DBP-Cr) estaba significativamente más elevada en mujeres con endometriosis (Cho et al. 2012). Aunque la DBP-Cr urinaria mostró un valor limitado como marcador diagnóstico para la endometriosis (sensibilidad 58%, especificidad 76%), los niveles urinarios elevados de DBP en estas mujeres fortalecen la asociación sugerida entre DBP y la patogénesis de la endometriosis y la posicionan como un nuevo biomarcador en la endometriosis.

Implicaciones de la Vitamina D₃ en los miomas

El mioma uterino es la tumoración pélvica más frecuente en la mujer y afecta al 15-30% de las que se encuentran en edad reproductiva (Frederick et al. 1994). Es más prevalente (entre 3 y 9 veces) entre la población de etnia negra que en la caucasiana (Buttram 1986), y menos entre las europeas que entre las americanas (Heinemann et al. 2003).

A pesar de su gran carga epidemiológica (se ha publicado que la incidencia acumulada a los 50 años puede llegar hasta el 70% para la población blanca y 80% para las africanas) (Payson et al. 2006), afortunadamente la gran mayoría de los fibromas son asintomáticos y no requieren más tratamiento que el manejo expectante. La razón para

esta conducta es doble: por un lado no existen opciones médicas eficaces y por otro el crecimiento de las lesiones es impredecible (Stewart et al. 2016).

Cuando los miomas producen síntomas, el más común es la menorragia o hipermenorrea y, con menor frecuencia, la presencia de un bulto, o una "molestia pélvica". Sólo si los fibromas están asociados a un sangrado anormal, los tratamientos médicos pueden ser de utilidad a corto plazo ya que a largo plazo no se ha documentado beneficio sobre el tamaño de las lesiones (Stewart et al. 2016; Manyonda et al. 2004).

Para estos miomas sintomáticos, existe el consenso general de que el abordaje quirúrgico es una alternativa más realista a largo plazo, aunque no puede evitar que entre un 15-45% de ellos recidive trascurridos 5-10 años (Candiani et al. 1991).

La edad influye decisivamente en su aparición, triplicándose su presencia entre la segunda y tercera década (Borgfeldt & Andolf 2000).

Su recurrencia tras la primera miomectomía y su correlación con la edad le confiere matices de gran importancia reproductiva en nuestra sociedad actual, que pospone la tarea reproductiva para los últimos años del periodo fértil.

Por lo tanto es de esperar que la proporción de mujeres infértiles diagnosticadas de fibromas uterinos aumente, y si éstos demostrasen una correlación negativa sobre la fertilidad, las consecuencias económicas y clínicas serían notables, considerando en particular los costes y las posibles complicaciones asociadas con el tratamiento.

Mecanismos de infertilidad de los miomas

Los mecanismos por los que los fibromas pueden reducir la fertilidad son teóricos y se basan en acciones que interfieren en la migración de los espermatozoides, óvulo, o en la implantación del embrión transportado (Richards et al. 1998).

Los estudios retrospectivos de cohortes que han examinado el impacto de los fibromas en los resultados de la reproducción asistida informan de menores tasas de embarazo por transferencia embrionaria (miomas submucosos (SM): 9%, intramurales (IM): 16%, subserosos (SS): 37%), y mayores tasas de aborto involuntario (SM:40%, IM:33% y SS:33%), que entre las mujeres del grupo control sin miomas (promedio del 30% y 16,4%) (Bajekal & Li 2000; Rackow & Arici 2005). La opinión generalizada es

que los miomas submucosos poseen efectos reproductivos perjudiciales, los fibromas intramurales un impacto modesto y los fibromas subserosos, la menor repercusión sobre la tasa de embarazo.

Estos efectos perjudiciales podrían estar relacionados con un conjunto de acciones entre las que se consideran las siguientes:

- a) Distorsión anatómica: cuando los miomas se localizan cerca del cuello uterino o de los orificios tubáricos pueden reducir el acceso a las trompas del esperma eyaculado y perjudicar la recuperación de óvulos por las trompas (Garcia Oliveira et al. 2004).
- b) Presión mecánica ejercida en el miometrio: además de alterar el contorno de la cavidad uterina, produciría una vascularización inadecuada del endometrio que sería responsable de la menor tasa de implantación embrionaria (Ng & Ho 2002). Farhi y colaboradores comprobaron que las tasas de embarazo después de las TRA se afectaban sólo cuando los fibromas causaban la deformación de la de la cavidad uterina (Farhi et al. 1995), pero en otros trabajos más recientes, cuando la proximidad del mioma al endometrio es menor de 0,5 cm, ya se producen las condiciones para afectar negativamente al éxito de las TRA (Shastri et al. 2005).
- c) Factores biológicos: la infiltración de células inflamatorias y prostaglandinas, tanto dentro del mioma como en el miometrio adyacente y el endometrio correspondiente, podrían perjudicar la fertilidad y causar aborto involuntario por mecanismos inflamatorios locales. Estos factores alterarían el ambiente endometrial y producirían una contractilidad uterina anormal y un endometrio hostil, aunque no se deformase la cavidad endometrial (Miura et al. 2006).
- d) Mecanismos dependientes de alteraciones en la expresión génica de la receptividad endometrial: que afectarían a la globalidad del endometrio y no sólo a la porción delimitada por el mioma (Rackow & Taylor 2010).

Implicación de la Vitamina D₃ en la etiopatogenia de los miomas

No solo la incidencia de miomas en mujeres afroamericanas, como se expuso al principio, es hasta 3-9 veces superior a la detectada en mujeres de raza blanca, sino que el hallazgo ecográfico de miomas múltiples también lo es (73% vs. 45%) (Baird et al. 2003).

Es de destacar que, respecto de las mujeres caucásicas, las mujeres afroamericanas tienen una probabilidad 10 veces superior de ser deficitarias de VD₃ (Nesby-O'Dell et al. 2002) y 5 veces inferior de poseer valores de suficiencia (10% vs 50%) (Baird et al. 2013). Cuando los niveles de VD₃ son suficientes, la probabilidad de tener fibromas uterinos es inferior, con OR ajustado de 0,68, pero cuando hay deficiencia, la propensión aumenta con una OR ajustada de 2,4 (Paffoni et al. 2013).

A la luz de los conocimientos actuales, podemos por lo tanto pensar que la deficiencia de VD₃ es un factor de riesgo para el desarrollo de leiomioma uterino, ya que ha sido demostrado que las mujeres con fibromas uterinos tienen niveles más bajos de VD₃ en suero que las mujeres sanas y que los niveles séricos de VD₃ están inversamente correlacionados con el tamaño del leiomioma (Sabry et al. 2013).

Una causa de la falta de VD₃ podría estar en la pigmentación negra de la piel, ya que disminuye la absorción de los rayos UV del sol y contrarresta la eficacia de la principal fuente de VD₃, que es la exposición solar. Además de esto, la intolerancia a la lactosa en los afroamericanos es más prevalente y consumen menos leche. La disminución de consumo de leche podría ser otro factor que reduce los niveles de VD₃.

Como el miometrio de los miomas uterinos expresa niveles reducidos de VDR en comparación con el miometrio sano adyacente (Halder et al. 2013), esta circunstancia junto con la reducción de los niveles séricos de VD₃ podrían explicar en parte la mayor incidencia de miomas en las etnias de color.

Los polimorfismos en los genes implicados en el metabolismo de la VD₃ y en la pigmentación de la piel también han sido estudiados con esta finalidad y dos polimorfismos de un solo nucleótido han sido significativamente asociados con el leiomioma uterino (Wise et al. 2014), uno relacionado con la síntesis del colesterol (DHCR7) y otro con la síntesis de melanina, ASIP (Agouti-signaling protein).

Otros estudios sugieren que existe una asociación entre los polimorfismos en las enzimas que estén relacionadas con la activación o la degradación de la VD₃ y el riesgo de desarrollo de los fibromas uterinos en mujeres afro-estadounidenses.

Mecanismos protectores de la Vitamina D₃ frente al mioma

La forma activa de la VD₃, la 1,25-(OH)₂-D₃, actúa en la mayoría de los tejidos del cuerpo y de esta manera puede modular la expresión génica de una manera específica y proteger a la célula de un crecimiento incontrolado a través de mecanismos que inhiban la proliferación y angiogénesis, o que potencien la diferenciación y la apoptosis (Brakta et al. 2015).

Los mecanismos por los que la VD₃ sería protectora frente a la aparición de miomas, podrían resumirse en:

- a) Control del proceso de remodelación: Los leiomiomas se caracterizan por el excesivo depósito de matriz extracelular (ECM), así como por un aumento en la proliferación celular. Esta ECM debe sufrir una degradación como mecanismo fisiológico para su reparación y remodelación, y la interrupción de este proceso de degradación conduce a la patología. Las metaloproteinasas de la matriz (MMPs) son las principales enzimas implicadas en este proceso de degradación, que a su vez están reguladas por los inhibidores tisulares de las metaloproteinasas de la matriz (TIMPs). La VD₃ reduce significativamente el nivel de actividad de las metaloproteinasas MMP-2 y MMP-9 y aumenta los niveles de VDR y TIMP-2 de manera dependiente de la concentración (Halder et al. 2013).
- b) Efecto antiproliferativo: la 1,25-(OH)₂-D₃ reduce la angiogénesis in vivo (Chung et al. 2006; Iseki et al. 1999; Mantell et al. 2000), y el uso de análogos de la 1,25-(OH)₂-D₃ en estudios experimentales, ha demostrado poseer un efecto antiproliferativo sobre el cáncer de colon, mama, próstata y páncreas (Akhter et al. 1997; Abe-Hashimoto et al. 1993; Polek et al. 2001; Kawa et al. 1997; Kawa et al. 1996). Este efecto se basa en la presencia de VDRE en las regiones promotoras de los genes CDKI (inhibidores de la ciclina dependiente de quinasa) con capacidad para detener el ciclo celular en la fase G1. Se ha demostrado que el perfil de expresión de estos VDRE se desregula en los leiomiomas uterinos y que miembros

de la subfamilia NR4A se regulan a la baja en esta patología, en comparación con el miometrio normal (Yin et al. 2013). Esta anomalía podría jugar un papel funcional en la proliferación celular del leiomioma. La inhibición del crecimiento podría seguir vías tales como la regulación a la baja del antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) y de la CDK1; y de la supresión de la expresión y actividad de la catecol-O-metiltransferasa (COMT) en células humanas del leiomioma (Sharan et al. 2011), una enzima esencial en el metabolismo de los estrógenos.

- c) Efecto apoptótico: se basa en que la 1,25-(OH)₂-D₃ puede aumentar la expresión de proteínas proapoptóticas Bax y Bad, activar directamente la vía de las caspasas y regular a la baja la BCL-2 antiapoptótica (Ylikomi et al. 2002).
- d) Actividad antifibrótica: la VD₃ suprime el efecto de TGF-β₃ (proteína que induce la fibrosis) en células humanas de leiomioma (Halder et al. 2011). La VD₃ reduce la expresión de los receptores de estrógenos ER-α, de progesterona PR-A y PR-B, que están regulados al alza en los miomas (Al-Hendy et al. 2015), lo que indica un posible papel terapéutico de la VD₃ en el tratamiento de fibromas uterinos.

Por todo esto, la VD₃ puede ser considerada como una opción terapéutica a largo plazo para el tratamiento eficaz, seguro y no quirúrgico de los miomas uterinos.

Influencia de la Vitamina D₃ en la implantación e inmunotolerancia materna

El papel de la VD₃ como un modulador potencial de la respuesta inmune durante el embarazo ya se postuló por primera vez hace más de 50 años, con referencia específica a la implantación (Chambon 1951).

Durante el embarazo, la decidua se transforma en una interfase privilegiada donde ocurre una regulación inmunológica con mecanismos propios y diferentes a los que tienen lugar fuera de ella. La VD₃ podría ser un elemento regulador clave de la función inmune, ya que, tanto la decidua como la placenta son dos localizaciones principales donde se sintetiza 1,25-(OH)₂-D₃, la forma activa de la VD₃ (Gray et al. 1979). En la actualidad la VD₃ se postula como un sólido candidato para prevenir eventos adversos gestacionales.

Al comienzo del embarazo, las células de la decidua materna y del trofoblasto fetal ya expresan tanto VDR como CYP27B1 y disminuyen la expresión de la enzima

catabólica, CYP24A1 (Zehnder et al. 2002). Es decir, que desde el inicio de la gestación, los tejidos de la placenta/decidua tienen potencial para generar cantidades significativas de 1,25-(OH)₂-D₃ sin una inactivación catabólica apreciable.

Como existen ciertas evidencias de que su utilidad no parece centrarse exclusivamente en funciones de mineralización fetal (el aporte de calcio al feto no se altera en la deficiencia de VD₃ (Halloran & DeLuca 1980a) y la mineralización de los huesos fetales se produce relativamente al final del embarazo mientras que la inducción de VDR y CYP27B1 en tejidos placentarios maternos y fetales ocurre al comienzo de la gestación) (Evans et al. 2004), el aumento de VD₃ producido al inicio de la gestación parece cobrar fuerza como hipótesis de que su función es inmunomoduladora para la aceptación del embarazo.

En un estudio transversal retrospectivo de 133 mujeres diagnosticadas de pérdida recurrente del embarazo (Ota et al. 2014), se observó que 63 de cada 133 mujeres (47,4%) tenían hipovitaminosis D (menos de 30 ng/ml) y que los niveles de células NK y su citotoxicidad eran significativamente superiores en este grupo respecto del grupo con niveles normales de VD₃.

Otro estudio que evaluó el efecto del tratamiento con VD₃ en el trofoblasto de gestantes del primer trimestre con respuesta inflamatoria inducida por anticuerpos antifosfolípidos, informó que el tratamiento con VD₃ mejoraba la respuesta inflamatoria al disminuir los niveles de IL-8 (Gysler et al. 2015).

Su papel en la receptividad endometrial fue tratado en un trabajo que estudió los niveles de VD₃ en 99 receptoras de ovocitos donados que tuvieron transferencia embrionaria (Rudick et al. 2014). Las receptoras con niveles de VD₃ insuficientes (< 30 ng/ml) tuvieron una tasa de nacidos vivos del 31% frente al 59% obtenido en las receptoras con niveles normales. Dado que se trataba de receptoras de ovocitos, la disminución en las tasas de embarazo se atribuyó a la alteración en la receptividad del endometrio. Estos resultados, sin embargo, no pudieron ser confirmados en un estudio retrospectivo (Franasiak et al. 2015) realizado en 529 ciclos de FIV con transferencia de embriones propios en estadio de blastocisto.

Mecanismos inmunomoduladores de la Vitamina D₃

Entre las acciones no clásicas, la VD₃ parece desempeñar un papel fundamental en la función inmune decidual normal promoviendo respuestas innatas a la infección, mientras previene simultáneamente del exceso de adaptación inmunitaria inflamatoria. La VD₃ ha demostrado su influencia en los dos brazos del sistema inmunitario, es decir, en la inmunidad innata (macrófagos, células dendríticas, leucocitos NK) y en la adaptativa o adquirida (linfocitos) (Hewison 2011).

a) Efectos sobre macrófagos.

a.1) Potencia el efecto antibacteriano: los macrófagos representan el 20% de las células inmunes deciduales y ejecutan una amplia gama de funciones críticas inmunológicas, entre las que se incluyen: fagocitosis y destrucción intracelular de los patógenos internalizados, presentación de antígenos, secreción de citoquinas y detección de patrones de moléculas asociadas a patógenos (PAMPs) (Fujiwara & Kobayashi 2005). En 2006 se observó que en los monocitos periféricos se expresaba el gen CYP27B1 (cuya proteína, la enzima 1 α -hidroxilasa, es necesaria para sintetizar 1,25-(OH)₂-D₃, la forma activa de la VD₃) y VDR como consecuencia de la detección de un patrón molecular PAMP de *M. tuberculosis* (Liu et al. 2006). Esta activación intracrina de VD₃ iba seguida de la expresión de catelicidina, un péptido con actividad antimicrobiana (Wang et al. 2004), por lo que la eficacia de la actividad antibacteriana de los monocitos quedaba ligada a la disponibilidad de 25-OH-D₃ para su conversión intracrina a 1,25-(OH)₂-D₃. La conclusión a partir de estos estudios fue que bajos niveles de 25-OH-D₃ séricos disminuyen la actividad antibacteriana de los monocitos y aumentan el riesgo de infección. Por el contrario, la administración de suplementos de VD₃ a individuos deficitarios de VD₃ ayuda a proteger contra la infección (Adams et al. 2009).

Las células deciduales, sin embargo, no expresan CYP27B1, aunque tienen gran capacidad de producción de 1,25-(OH)₂-D₃, de aquí que parezca probable que los macrófagos deciduales desempeñen un papel significativo en la generación localizada de 1,25-(OH)₂-D₃ (Kachkache et al. 1993).

En la decidua, por el contrario, sí se ha constatado la inducción de catelicidina (Evans et al. 2006) y de otras proteínas antibacterianas tales como β -defensinas (Liu et al. 2009), que inducen la autofagia, y hepcidina, que modula los posibles

efectos sobre las concentraciones del hierro intracelular (Bacchetta et al. 2014). Estos mecanismos están centrados fundamentalmente en una función intracelular de la VD₃, y suponen una gran ventaja para mejorar las respuestas antibacterianas.

a.2) Disminuye el componente inflamatorio: los macrófagos M1, inducidos en respuesta a la influencia de citoquinas Th1 proinflamatorias (interferón γ (IFN γ) y factor de necrosis tumoral α (TNF α)), representan el subtipo inflamatorio y poseen una potente acción antimicrobiana y propiedades citotóxicas, y están implicados en la destrucción microbiana, en la inflamación y en la enfermedad autoinmune. Los macrófagos M2, inducidos mediante la exposición a citoquinas Th2 (IL-4, IL10 e IL13), transmiten un fenotipo inmunosupresor distinto consistente con un papel en la inmunidad humoral, tolerancia materno-fetal, eliminación de las células apoptóticas, remodelación tisular y reparación (Mosser 2003; Gordon & Martinez 2010; Erlebacher 2013).

La comparación entre poblaciones de leucocitos del primer y segundo trimestre del embarazo han evidenciado que, aunque el número de macrófagos disminuía significativamente, aumentaba el subconjunto de M2 (CD163⁺CD206⁺) con función activa de inmunotolerancia (Kwan et al. 2014).

La polarización hacia un subtipo de macrófagos M2 también se ha observado en las placentas normales a término en relación con las de las mujeres con embarazos complicados por parto prematuro y pre-eclampsia.

La pérdida del sistema de la VD₃ intracrina placentaria en animales deficitarios para CYP27B1 se ha seguido de un notable aumento de la actividad proinflamatoria en la placenta (Liu et al. 2011).

b) Efecto sobre las células dendríticas: en la decidua humana las células dendríticas (DC) son relativamente escasas en comparación con los macrófagos (1% de las células deciduales totales) por lo que ha sido cuestionada su importancia funcional (Rieger et al. 2004).

Durante el 1^{er} y 2^o trimestre, en la decidua se encuentra inhibida la maduración de los precursores DC hacia el subtipo DC CD83⁺ inflamatorio (Kwan et al. 2014), por lo que las DC en estas circunstancias representan un fenotipo más inmaduro (Kämmerer et al. 2003) que se caracteriza por: a) ser más tolerogénicas que sus homólogas en sangre periférica, b) disminuir tanto la capacidad de presentación de antígenos como

la de expresión de moléculas co-estimuladoras, la de citoquinas inflamatorias (IL12), y c) incrementar la producción de citoquinas antiinflamatorias (IL-10) (Laskarin et al. 2007).

La 1,25-(OH)₂-D₃ ha demostrado en estudios *in vitro* que inhibe la diferenciación y la maduración de las DC a través de su unión al VDR (Griffin et al. 2001); y una sobreabundancia de DC deciduales ha sido observada en casos de pre-eclampsia (Huang et al. 2008) y de abortos recurrentes (Askelund et al. 2004), sugiriendo que las DC pueden estar implicadas en la etiología de algunos acontecimientos adversos en el embarazo. La existencia de un sistema activo para la VD₃ intracrina en las DC justificaría que las variaciones en 25-OH-D₃ materna podrían afectar a su funcionalidad y reclutamiento.

c) Efecto sobre las células NK uterinas/deciduales:

Las células NK uterinas (uNK) representan una importante proporción de la población de leucocitos del estroma decidual. Las uNK difieren fenotípicamente de la mayoría de las células NK periféricas por ser CD56^{bright}, CD16⁻ y CD9⁺, y poseer distinta expresión para receptores NK inhibidores y activadores (Bulmer et al. 2010). Las uNK están presentes en el endometrio de la mujer no embarazada durante todo el ciclo menstrual y aumentan en la mitad de la fase secretora y, posteriormente durante el embarazo, para ocupar un 70% del total de la población decidual estromal de células inmunes (Bulmer et al. 2010). Este número disminuye en la segunda mitad del embarazo, aunque una cantidad sustancial de ellas persiste en el tercer trimestre (Scaife et al. 2003).

Las uNK del embarazo precoz y del endometrio no gestante son distintas entre sí y, a su vez, de las NK de sangre periférica, poseyendo las uNK una disminución de su capacidad citotóxica respecto a las periféricas (Hanna et al. 2003; G E Lash et al. 2010).

La prominencia de las células uNK en la época de la implantación y placentación temprana ha sugerido un papel fundamental en el éxito del establecimiento del embarazo.

Los efectos de la VD₃ en las células uNK han sido mal definidos. En las células mononucleares de sangre periférica, la 1,25-(OH)₂-D₃ inhibe la activación de las células NK y sus acciones citotóxicas de forma dosis dependiente (Merino et al.

1989). Las citoquinas IFN γ e IL2 que aumentan la actividad NK citotóxica, son inhibidas por los precursores de la VD₃ y la 1,25-(OH)₂-D₃ (Leung 1989).

Las células NK expresan ARNm para VDR y CYP27B1 (Morán-Auth et al. 2013) y el tratamiento, con 25-OH-D₃ o con 1,25-(OH)₂-D₃ ha demostrado que promueve respuestas antibacterianas y antiinflamatorias (Evans et al. 2006) en extractos parcialmente purificados procedentes de embarazos humanos del primer trimestre. Dado que la deficiencia de VD₃ tanto en los seres humanos (Bodnar, Catov, et al. 2007) como en ratones (Liu et al. 2013) se ha relacionado con la pre-eclampsia, es posible especular que las células uNK desempeñen algún papel en la fisiopatología de esta complicación del embarazo.

Las células uNK tienen un papel fundamental en la remodelación de las arteriolas espirales (Robson et al. 2012) y en la regulación de la invasión del trofoblasto extraveloso en la decidua basal y en la superficie del miometrio a través de la producción de citoquinas y quimioquinas locales (Gendie E Lash et al. 2010). Una incompleta transformación de las arteriolas espirales y el fracaso de la invasión trofoblástica extravelosa son responsables de la hipoperfusión placentaria y por lo tanto justifican la patogénesis tanto de la pre-eclampsia como del retardo del crecimiento intrauterino.

Otro subtipo de células NK que se acumulan en la decidua son las células T asesinas naturales CD1d-reactivas (NKT), cuya activación en ratones induce el parto prematuro y pérdidas tempranas hasta la mitad de la gestación (Boyson et al. 2006). En los estudios llevados a cabo en ratones, las variaciones del estado sérico de la VD₃ (25-OH-D₃ en suero materno) ha demostrado que produce alteraciones en la función de células NKT en el útero y en su descendencia (Yu & Cantorna 2011). Evidentemente, esto tiene importantes implicaciones para el impacto potencial del estado de la VD₃ en la madre y en la salud infantil en los seres humanos.

d) Efectos sobre las células T:

Los linfocitos T CD3⁺ (células T) comprenden el 10% de la población de leucocitos del estroma endometrial en el primer trimestre.

La activación de las células Th vírgenes conduce a la generación de dos subgrupos Th CD4⁺ que expresan distintos perfiles de citoquinas: los Th1 (IL2, IFN γ y TNF α) citotóxicos y los Th2 colaboradores (IL3, IL4, IL5 e IL10), que apoyan

respectivamente la inmunidad mediada por células y la humoral (Abbas et al. 1996). Un tercer grupo de células Th es influido por la VD₃, son las células Th17, que secretan IL17.

Niveles elevados de células Th17 deciduales se han reportado en abortos espontáneos (Saito et al. 1999) y aumentos en el ratio de Th1/Th2 en la decidua de abortos espontáneos recurrentes (Piccinni et al. 1998).

En 1986 (Nunn et al. 1986) se constató que las células T expresan VDR, con niveles que aumentan a medida que las células T proliferan. Estas observaciones iniciales que enlazan la VD₃ con el sistema inmune adaptativo motivaron que los estudios iniciales de la VD₃ y las células T se centraran en las respuestas antiproliferativas (Nunn et al. 1986; Karmali et al. 1991). Sin embargo, ahora está claro que la VD₃ también influye en el fenotipo de las células T, promoviendo el paso del perfil Th1 de citoquinas al Th2 (Boonstra et al. 2001) limitando el potencial daño tisular asociado a la excesiva respuesta celular inmune Th1 y favoreciendo el paso a un fenotipo Th2 más humoral. Sin embargo, los ratones con bloqueo de genes VDR (que carecen de 1,25-(OH)₂-D₃ mediada por la señalización) tienen reducidos en vez de elevados los niveles de las células Th1 (O'Kelly et al. 2002).

Parece probable que los efectos de la VD₃ en las células T *in vivo* sean más complejos de lo pensado originalmente, y que otras células tales como las células inflamatorias Th17 podrían ser su objetivo potencial. Las células Th17 son importantes para promover respuestas inmunes a algunos patógenos y también están implicadas con el daño inflamatorio tisular (Bettelli et al. 2007).

La exposición a la 1,25-(OH)₂-D₃ *in vitro* suprime el desarrollo de células Th17 (Palmer et al. 2011) y la expresión de la IL17 (IL17A) (Daniel et al. 2008), respectivamente. Paradójicamente, en los casos de ratas con ausencia de genes CYP27B1 se producen niveles elevados de IL17 (Liu et al. 2008). Estudios recientes utilizando un modelo pre-eclampsia en rata han demostrado que la suplementación con VD₃ se produce una disminución significativa en la circulación de células Th CD4⁺ (Darby et al. 2013).

Pero las respuestas inmunes de las células T a la VD₃ no están restringidas a las células Th, sino que también incluyen acciones sobre el supresor Treg, un grupo de células T CD4⁺ que inhiben la proliferación de otras células CD4⁺. El tratamiento de

células naïve CD4⁺ con 1,25-(OH)₂-D₃ induce potentemente el desarrollo de células T reguladoras (Treg) (Gorman et al. 2007), y esto se ha propuesto como un potencial mecanismo de efectos beneficiosos de la VD₃ en enfermedades autoinmunes y en el rechazo del injerto-huésped (Spach et al. 2006). Para estimular el desarrollo de estas Treg, la 1,25-(OH)₂-D₃ puede actuar directamente sobre VDR-células que expresan CD4⁺ (Jeffery et al. 2009).

La proteína de la muerte celular programada 1 (PD-1), el receptor de FAS (FasR), también conocido como antígeno de apoptosis 1 (APO-1) y la indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO), una enzima presente principalmente en macrófagos, han sido implicadas en el proceso de inmunotolerancia ya que sus respectivos ligandos están expresados en las células deciduales y trofoblásticas fetales en humanos y en el ratón (Arck & Hecher 2013).

La 1,25-(OH)₂-D₃ estimula la producción de células T CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺ a través de una vía mediada por IDO (Correale et al. 2009) y la expresión de CYP27B1 parece estar correlacionada con la expresión de TLR4 (un receptor de tipo toll que es responsable de la activación del sistema inmune innato) y de IDO (IDO1) (Evans et al. 2006).

e) Efectos sobre las células B: su número es muy bajo en comparación con las células T. Las células B secretoras de IL10, denominadas células B10, han sido vinculadas a la protección contra la enfermedad autoinmune (Matsushita et al. 2008) y parecen jugar un papel clave en el embarazo mediante la promoción de la tolerancia del feto en desarrollo en ratones (Jensen et al. 2013). Hasta el momento, la función de estas células específicamente dentro de la decidua sigue siendo poco clara.

La 1,25-(OH)₂-D₃ puede suprimir la proliferación (Shiozawa et al. 1985) y producción de inmunoglobulinas (Ig) (Provvedini et al. 1986) en células B con VDR expresado, e inhibir la diferenciación de células plasmáticas y la clase de células de memoria (Chen et al. 2007) representando un potencial papel en los trastornos relacionados con células B, como ocurre en el lupus eritematoso sistémico.

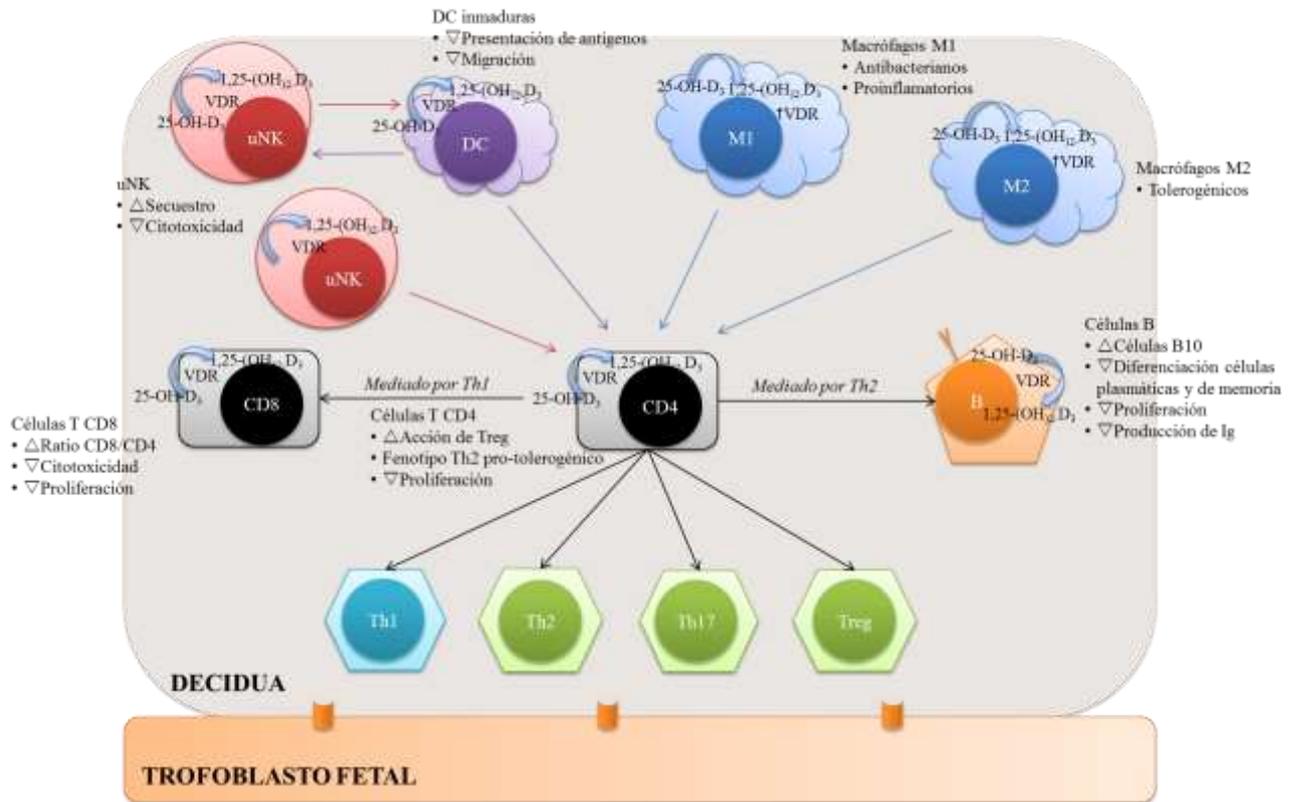


Figura 9 – Intervención de la VD₃ en la inmunotolerancia materno-fetal.

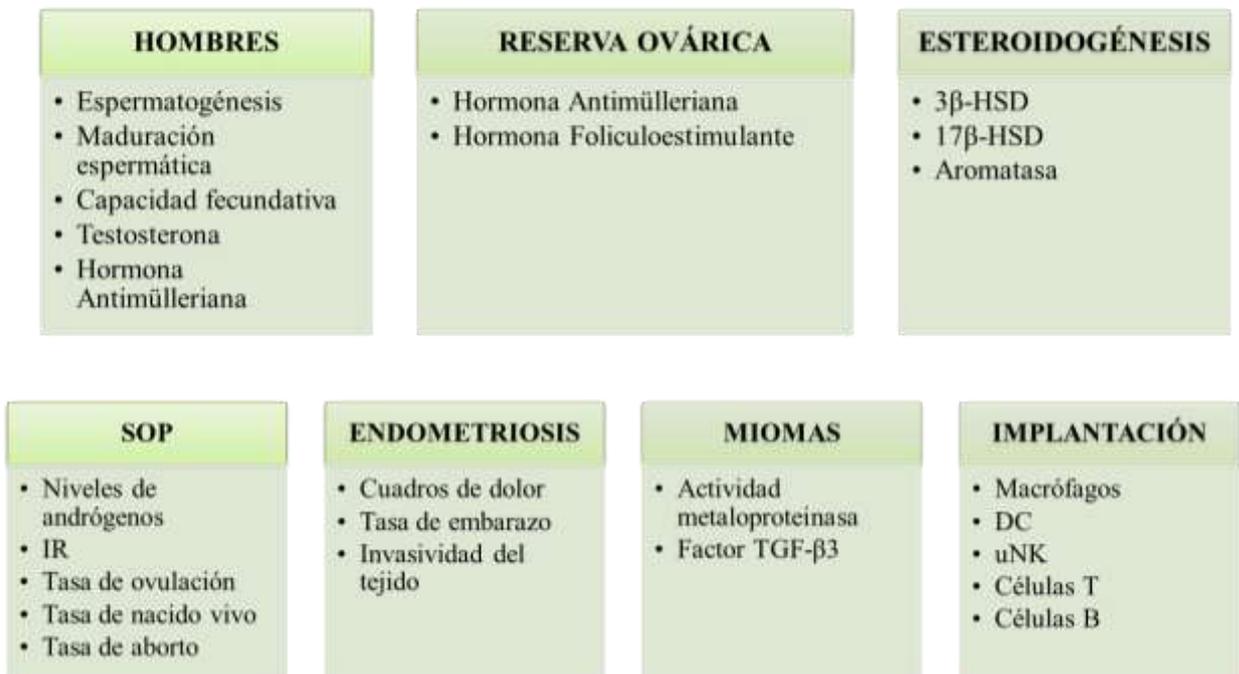


Figura 10 - Factores influenciados por la VD₃

Discusión

Clásicamente, la deficiencia severa de VD₃ era reconocida por su efecto negativo sobre la mineralización ósea, que se manifestaba clínicamente por el raquitismo en los niños y la osteomalacia en los adultos. Pero en épocas más recientes, un nuevo y creciente interés por esta hormona ha surgido como consecuencia de que los bajos niveles en suero de 25-OH-D₃ se han asociado con otras manifestaciones, no clásicas, tales como: enfermedades alérgicas, infecciones, trastornos autoinmunes, tipos comunes de cáncer, enfermedades cardiovasculares (Tamblyn et al. 2015) e incluso patologías asociadas al proceso reproductivo (Pal et al. 2015).

Como consecuencia de su creciente relevancia, que ha multiplicado por cuatro el número de publicaciones en los últimos quince años, en la actualidad comienzan a surgir nuevas preguntas relacionadas con ¿cuál sería el estado óptimo o adecuado de VD₃? o con la magnitud de su deficiencia, que ha llegado a ser considerada como una epidemia mundial y un importante problema de salud (Henry et al. 2010).

La primera pregunta es consecuencia de la elevada dispersión de su deficiencia, estimada entre el 20-90% de la población norteamericana en edad reproductiva. En este sentido, los estudios epidemiológicos no han sido homogéneos para definir el límite del déficit; mientras que algunos lo estimaban por debajo de 12 ng/ml, como se estableció en la 14^a Reunión de Consenso en Vitamina D, otros lo hacían siguiendo las recomendaciones de la “Endocrine Society of North America”, en valores de menos de 20 ng/ml, dejando el término de insuficiencia para valores entre 20-30 ng/ml (Holick et al. 2011). Otras variables de confusión relacionadas con el estilo de vida o la etnia pueden haber contribuido también a distorsionar la magnitud de su prevalencia. Respecto del primero, Garbedian y colaboradores (Garbedian et al. 2013) comentó que el bajo número de mujeres con deficiencia de VD₃ observado en su estudio (1,2%) era debido al incremento en el uso de vitaminas prenatales diarias de su muestra poblacional; y respecto a la influencia de la etnia, las mujeres afroamericanas por su color de piel tienen una probabilidad 10 veces superior de ser deficitarias de VD₃ respecto de las caucásicas (Nesby-O’Dell et al. 2002) y 5 veces menor de poseer valores de suficiencia (10% vs 50%) (Baird et al. 2013).

No obstante, la alta prevalencia de la deficiencia de VD₃, junto con el uso creciente de la detección por médicos de atención primaria durante las visitas anuales de rutina y el papel beneficioso de la VD₃ en la reproducción humana reflejado en numerosos estudios, en los que los malos resultados obstétricos en mujeres con deficiencia de VD₃ mejoraban tras normalizar sus niveles de VD₃, suponen un fuerte argumento para evaluar su estado antes de iniciar un tratamiento de reproducción.

Este trabajo fue realizado por Pacis y colaboradores (Pacis et al. 2015) quienes pretendieron esclarecer, en base a la literatura existente sobre la influencia de la VD₃ en la reproducción, si resultaba rentable el análisis de los niveles de esta vitamina, o su suplementación, de manera previa al inicio de cualquier tratamiento de reproducción asistida. Sin embargo, a pesar de los numerosos estudios evaluados al respecto, estos autores concluían que no existe una respuesta definitiva debido a la heterogeneidad de tamaños muestrales y de variables que se encuentran involucradas. No obstante, lo que sí observaron fue una tendencia creciente a proponer la suplementación y el estudio de VD₃ antes de las TRA para mejorar sus resultados y disminuir los costes sociales de los embarazos al prevenir complicaciones en ellos.

La presencia de receptores VDR en los tejidos reproductivos junto con la variabilidad de los resultados de TRA dependiendo de la estación del año fueron los primeros indicios que relacionaron la VD₃ con la reproducción.

El papel de la VD₃ en la fertilidad masculina fue sugerido tras estudios experimentales en ratas que demostraban la presencia de estos VDR en células de Leydig y Sertoli, túbulos seminíferos, epidídimo, próstata y vesículas seminales, así como en la región acrosómica del espermatozoide. El papel de la VD₃ estaría ligado al mantenimiento de la estabilidad del genoma, viabilidad espermática y producción de elevadas concentraciones de calcio intracelular necesario para la capacidad fecundante (Blomberg Jensen 2014).

La correlación positiva entre niveles de VD₃ con la calidad seminal, mejorando la movilidad espermática, la tasa de embarazo, la espermatogénesis y la morfología siguió animando el estudio de esta posible influencia. Pero no se encontró correlación con la concentración espermática ni con el recuento espermático y de nuevo se concluyó que

hacían falta más estudios, ya que algunos autores observaban un valor máximo de VD₃ a partir del cual las propiedades seminales volvían a disminuir su calidad.

Sin embargo, es preciso diferenciar entre las consecuencias de la deficiencia de la VD₃ y los efectos de su suplementación. La implicación del déficit de VD₃ en la fertilidad masculina se debe a su correlación con los niveles hormonales de testosterona y HAM, que están directamente asociados, pero se desconoce si la suplementación con VD₃ mejoraría las posibilidades de éxito reproductivo.

Frente a la relativa escasez de estudios relacionados con la fertilidad masculina, son numerosos los que han explorado las relaciones entre la VD₃ y los diversos aspectos de la fertilidad femenina.

En relación a la reserva ovárica, los niveles séricos de VD₃ han demostrado estar asociados positivamente a los de HAM y negativamente a los de FSH. El tratamiento *in vivo* con VD₃ aún no ha demostrado efectos significativos en estas hormonas, pero el tratamiento *in vitro* sí ha evidenciado un efecto de la VD₃ en la mejora de la maduración folicular. Si se corroborara este aspecto, la suplementación con VD₃ sería de utilidad en TRA para mejorar la estimulación ovárica ya que, además, la VD₃ potencia la síntesis de estrógenos y progesterona en los ovarios, mediante la inducción de las enzimas 3β-HSD y aromatasas.

Por otro lado, el efecto adverso de la deficiencia de VD₃, que está relacionado con menores niveles séricos de HAM, mayores de FSH y riesgo de disminución de la reserva ovárica, justificaría la suplementación con esta vitamina para impedir la insuficiencia ovárica precoz.

La VD₃ ha sido estudiada en relación a diversas patologías asociadas a infertilidad en la mujer, como el SOP, la endometriosis o la presencia de miomas uterinos.

La deficiencia de VD₃ se ha comprobado que está relacionada con fenómenos clínicos y metabólicos que se encuentran comúnmente en el SOP, tales como resistencia a la insulina, inflamación, dislipidemia y obesidad; y en las mujeres con SOP es más común la deficiencia de VD₃.

Los polimorfismos en el VDR pueden estar implicados en la expresión de este síndrome. Menores niveles de VD₃ en mujeres con SOP se han asociado con mayor obesidad, IR y niveles de andrógenos.

La asociación entre SOP y VD₃ se ha establecido no sólo en situaciones de déficit mediante estudios observacionales sino también en estudios de suplementación. La deficiencia de VD₃ en SOP estaría potenciada por la obesidad y, a través de ella, se agravaría la resistencia a la insulina, pero el déficit severo de VD₃ en sí mismo produce resistencia a la insulina, independientemente del IMC. Estudios clínicos han demostrado que las mujeres con deficiencia de VD₃ tenían menos probabilidades de ovular tras el tratamiento que la que tenían valores normales y que la probabilidad aumentaba al hacerlo el nivel de 25-OH-D₃ por encima de 38 ng/ml. En base a esto, se propuso el valor de 45 ng/ml como el óptimo para maximizar el éxito de las TRA.

Además, los mayores niveles séricos de VD₃ se correspondían con mayor tasa de ovulación, de nacido vivo y menor tasa de aborto, mejorando por tanto el éxito reproductivo.

Estudios de suplementación con VD₃ también han apoyado esta relación favorable, tanto desde la perspectiva analítica (disminución de la resistencia a la insulina y de los andrógenos y lipoproteínas en suero), como desde el resultado clínico, con la normalización o mejora de los trastornos menstruales asociados. Este efecto beneficioso sobre la función ovárica a expensas de un aumento en los niveles de sRAGE en las células de la teca y granulosa, frente a los AGE generados por la resistencia a la insulina, representa un fuerte argumento a favor de la utilidad de la VD₃ en el SOP, aspecto que sale reforzado por la observación de que no ha sido objetivado en mujeres sin SOP.

La disminución sérica de los niveles anormalmente elevados de HAM observada en estas mujeres tras la suplementación de VD₃ es otra circunstancia favorable para normalizar el proceso ovulatorio, al disminuir el nivel de andrógenos intrafoliculares y aumentar la sensibilidad folicular a la FSH.

Esta suplementación también podría contrarrestar el aumento en las concentraciones de proteínas antiapoptóticas (PED/PEA-15) contribuyendo a que disminuya el exceso de folículos antrales.

La endometriosis es otra patología implicada en el éxito reproductivo sobre la que existen numerosos estudios relacionados con la VD₃, aunque a veces con resultados contradictorios.

Resulta cuanto menos curioso, cómo las primeras aproximaciones entre VD₃ y endometriosis publicadas por Hartwell en 1990 (Hartwell et al. 1990) o Somigliana en 2007 (Somigliana et al. 2007) llegaron a conclusiones totalmente opuestas a las aceptadas en la actualidad, observando mayores niveles séricos de 1,25-(OH)₂-D₃ en el grupo de mujeres con endometriosis respecto del grupo control.

La misma contradicción fue observada al abordar esta patología desde la implicación del estrés oxidativo en su fisiopatología. Al evaluar la influencia de los agentes antioxidantes, Trabert en 2011 (Trabert et al. 2011) llegaba a resultados opuestos a los manifestados por Parazzini en 2004 (Parazzini et al. 2004) que había manifestado el efecto beneficioso de la ingesta de frutas y su asociación inversamente proporcional con el riesgo de desarrollar la enfermedad. Aunque en los diferentes estudios ya comenzaba a destacar la importancia del consumo de lácteos y el aporte de VD₃ y su asociación inversa con la existencia de endometriosis (Harris et al. 2013).

Las propiedades antiinflamatorias, inmunomoduladoras y antiproliferativas de esta vitamina podrían jugar un papel central tanto en la patogénesis como en el tratamiento de la endometriosis.

El beneficio de la VD₃ en las mujeres con endometriosis podría deberse a su acción sobre el sistema inmune, su función antineoplásica, antiinflamatoria y antiangiogénica mejorando los cuadros de dolor, la posibilidad de embarazo y la prevención de la actividad invasiva del tejido endometriósico.

Es posible que el papel inmunomodulador de la VD₃ sea también a nivel de los focos de endometriosis o de las lesiones, y que los polimorfismos del transportador plasmático de la VD₃ (DBP) puedan estar implicados en la relación con la endometriosis, pero en la actualidad son necesarios más estudios a este respecto para corroborar estos efectos. Sin embargo, la presencia de niveles elevados de DBP urinaria en mujeres con esta patología, lo posibilitan como biomarcador en potencia de la endometriosis.

El inconveniente de la hipercalcemia asociada a la 1,25-(OH)₂-D₃ ha potenciado el desarrollo de agonistas de VDR, como el elocalcitol para inhibir la respuesta inflamatoria por la vía de la unión al factor nuclear kappa-beta ($\kappa\beta$), que se activa constitucionalmente en las células de endometriosis. Experimentalmente, el elocalcitol administrado en ratas ha sido capaz de reducir el peso total de la lesión endometriósica hasta en un 70% y de inhibir el reclutamiento de macrófagos en el peritoneo.

El mioma uterino es la tumoración pélvica más frecuente en la mujer y sobre todo en las de etnia negra, que llega a ser hasta 9 veces superior a las de etnia caucasiana y el doble la posibilidad de que éstos sean múltiples. Esta circunstancia indica una posible relación entre la VD₃ y el riesgo de tener miomas ya que las afroamericanas tienen una probabilidad 10 veces superior de ser deficitarias de VD₃ en parte porque la pigmentación negra de la piel disminuye la absorción de los rayos UV.

Mayores niveles de VD₃ parecen poder proteger frente a los miomas por su reducción de la actividad de las metaloproteinasas, de la angiogénesis y de la proliferación, por su potenciación de los procesos de apoptosis y por su actividad antifibrótica por la supresión del factor TGF- β 3. Existe la hipótesis de que los miomas podrían asociarse con determinados polimorfismos en enzimas del metabolismo de la VD₃. Por tanto, aunque más investigación es conveniente, se puede concluir que la suplementación con VD₃ podría ser una opción para el tratamiento de los miomas uterinos.

Finalmente, se ha evaluado la influencia de la VD₃ en el éxito reproductivo, vinculándola a la implantación y al mantenimiento del embarazo.

El papel de la VD₃ como un modulador potencial de la respuesta inmune durante el embarazo ya se postuló por primera vez hace más de 50 años, con referencia específica a la implantación. Como existen ciertas evidencias de que su utilidad no parece centrarse exclusivamente en funciones de mineralización fetal, el aumento de la VD₃ observado al inicio de la gestación podría hipotéticamente ejercer una función inmunomoduladora para la aceptación del embarazo. En el trabajo de Ota (Ota et al. 2014), el 47,4% de un grupo de abortadoras de repetición tenían hipovitaminosis D, y en el de Rudick (Rudick et al. 2014), sobre receptoras de ovocitos, aquellas con niveles

de VD₃ insuficientes (< 30 ng/ml) tuvieron una tasa de nacidos vivos del 31% frente al 59% obtenido en las receptoras con niveles normales.

La implantación embrionaria se vería beneficiada por la VD₃ al mejorar la respuesta inflamatoria tras disminuir los factores proinflamatorios. En los estudios analizados se ha relacionado la VD₃ con los macrófagos, a los que potencia su efecto antibacteriano al tiempo que disminuye su respuesta inflamatoria. La VD₃ induce un fenotipo tolerogénico más inmaduro de las DC e inhibe la acción citotóxica de las uNK. Favorece la expresión de células T para que expresen el perfil de citoquinas Th2 frente a las Th1 y aumenta la acción de las Treg, que disminuyen la respuesta inmune. En las células B reduce la producción de Ig, la diferenciación de células plasmáticas y de células de memoria.

Todos estos efectos de la VD₃ sobre el sistema inmunológico tienen como consecuencia que se favorezca la tolerogénesis, lo que optimiza las condiciones para la implantación, y que disminuya la acción citotóxica e inflamatoria, minimizando los riesgos de rechazo.

Nos encontramos en la actualidad ante un reto respecto a la utilidad de la VD₃ que necesita consolidarse, la respuesta a esta vitamina depende de la disponibilidad de su sustrato 25-OH-D₃ y de los niveles de su forma activa 1,25-(OH)₂-D₃, que son específicos para cada tejido y que pueden estar comprometidos en condiciones de insuficiencia de VD₃.

El interés creciente por su estudio es prueba de las expectativas que está generando.

Conclusiones

1. El estudio de la VD₃ y sus efectos es un tema actual con interés creciente. Además de las funciones clásicas, esta vitamina presenta otras “no clásicas” entre las que se incluye la reproducción.
2. La VD₃ se correlaciona positivamente con la calidad seminal aunque se desconocen los efectos de su suplementación.
3. En cuanto a la reserva ovárica la suplementación con VD₃ podría ser de utilidad para mejorar la estimulación ovárica en TRA y para impedir la insuficiencia ovárica precoz.
4. En mujeres con SOP la VD₃ mejora el proceso ovulatorio y disminuye los niveles séricos anormalmente elevados de HAM, además de optimizar el éxito reproductivo.
5. La suplementación con VD₃ o con análogos en la endometriosis mejora los cuadros de dolor, la posibilidad de embarazo y la prevención de la actividad invasiva del tejido endometriósico.
6. Mayores niveles de VD₃ parecen proteger frente a los miomas y podría ser una opción para el tratamiento de éstos.
7. Los efectos de la VD₃ en el sistema inmunológico favorecen la tolerogénesis, optimizando las condiciones para la implantación, y disminuyen la acción citotóxica e inflamatoria, minimizando los riesgos de rechazo.

Conclusión final: la VD₃ está claramente relacionada con las características reproductivas y, aunque se requieren más estudios para confirmar la rentabilidad del análisis y suplementación de VD₃ para tratar estas patologías, hay evidencias suficientes de su influencia, sustentando la hipótesis.

Referencias

- Abbas, A.K., Murphy, K.M. & Sher, A., 1996. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature*, 383, pp.787–793.
- Abbas, M.A. et al., 2013. Regression of endometrial implants treated with vitamin D3 in a rat model of endometriosis. *European Journal of Pharmacology*, 715, pp.72–75.
- Abe-Hashimoto, J. et al., 1993. Antitumor effect of 22-oxa-calcitriol, a noncalcemic analogue of calcitriol, in athymic mice implanted with human breast carcinoma and its synergism with Tamoxifen. *Cancer Research*, 53, pp.2534–2537.
- Adams, J.S. et al., 2009. Vitamin D-directed rheostatic regulation of monocyte antibacterial responses. *The Journal of Immunology*, 182(7), pp.4289–4295.
- Adorini, L. et al., 2007. Inhibition of prostate growth and inflammation by the vitamin D receptor agonist BXL-628 (elocalcitol). *Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 103, pp.689–693.
- Agic, A. et al., 2007. Relative expression of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor, vitamin D 1alpha-hydroxylase, vitamin D 24-hydroxylase, and vitamin D 25-hydroxylase in endometriosis and gynecologic cancers. *Reproductive Sciences*, 14(5), pp.486–497.
- Aguirre Castaneda, R. et al., 2012. Response to Vitamin D3 supplementation in obese and non-obese caucasian adolescents. *Hormone Research in Paediatrics*, 78(4), pp.226–231.
- Akhter, J. et al., 1997. Vitamin D3 analog, EB1089, inhibits growth of subcutaneous xenografts of the human colon cancer cell line, LoVo, in a nude mouse model. *Diseases of the Colon & Rectum*, 40(3), pp.317–321.
- Al-Hendy, A. et al., 2015. 1,25-dihydroxyvitamin D3 regulates expression of sex steroid receptors in human uterine fibroid cells. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 100(4), pp.572–582.
- Anagnostis, P. et al., 2009. Atherosclerosis and osteoporosis: age-dependent degenerative processes or related entities? *Osteoporosis International*, 20, pp.197–207.
- Anagnostis, P., Karras, S. & Goulis, D.G., 2013. Vitamin D in human reproduction: A narrative review. *International Journal of Clinical Practice*, 67(3), pp.225–235.
- Aquila, S. et al., 2008. Human sperm anatomy: ultrastructural localization of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 receptor and its possible role in the human male gamete. , 25, pp.555–564.
- Arck, P.C. & Hecher, K., 2013. Fetomaternal immune cross-talk and its consequences for maternal and offspring's health. *Nature Medicine*, 19(5), pp.548–556.
- Ardabili, H.R., Gargari, B.P. & Farzadi, L., 2012. Vitamin D supplementation has no effect on insulin resistance assessment in women with polycystic ovary syndrome and vitamin D deficiency. *Nutrition Research*, 32(3), pp.195–201.

- Askelund, K. et al., 2004. CD83(+)dendritic cells in the decidua of women with recurrent miscarriage and normal pregnancy. *Placenta*, 25(2-3), pp.140–145.
- Azziz, R. et al., 2009. The androgen excess and PCOS society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertility and Sterility*, 91(2), pp.456–488.
- Bacchetta, J. et al., 2014. Suppression of iron-regulatory hepcidin by Vitamin D. *Journal of the American Society of Nephrology*, 25, pp.564–572.
- Baekke, F. et al., 2007. Vitamin D3 and the immune system: maintaining the balance in health and disease. *Nutrition Research Reviews*, 20, pp.106–118.
- Baird, D.D. et al., 2003. High cumulative incidence of uterine leiomyoma in black and white women: Ultrasound evidence. *The American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 188(1), pp.100–107.
- Baird, D.D. et al., 2013. Vitamin d and the risk of uterine fibroids. *Epidemiology*, 24(3), pp.447–453.
- Bajekal, N. & Li, T.C., 2000. Fibroids, infertility and pregnancy wastage. *Human Reproduction Update*, 6(6), pp.614–620.
- Barrera, D. et al., 2007. Estradiol and progesterone synthesis in human placenta is stimulated by calcitriol. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 103, pp.529–532.
- Belenchia, A.M. et al., 2013. Correcting vitamin D insufficiency improves insulin sensitivity in obese adolescents: a randomized controlled trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 97, pp.774–781.
- Benagiano, G. & Brosens, I., 2006. History of adenomyosis. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 20(4), pp.449–463.
- Bettelli, E., Korn, T. & Kuchroo, V.K., 2007. Th17: The third member of the effector T cell trilogy. *Current Opinion in Immunology*, 19(6), pp.652–657.
- Blomberg Jensen, M., 2014. Vitamin D and male reproduction. *Nature Reviews*, 10, pp.175–186.
- Blomberg Jensen, M. et al., 2011. Vitamin D is positively associated with sperm motility and increases intracellular calcium in human spermatozoa. , 26(6), pp.1307–1317.
- Blomberg Jensen, M., 2012. Vitamin D metabolism, sex hormones, and male reproductive function. *Reproduction*, 144, pp.135–152.
- Blomberg Jensen, M. et al., 2010. Vitamin D receptor and vitamin D metabolizing enzymes are expressed in the human male reproductive tract. , 25(5), pp.1303–1311.
- Blomberg Jensen, M. & Dissing, S., 2012. Non-genomic effects of vitamin D in human spermatozoa. *Steroids*, 77(10), pp.903–909.
- Bodnar, L.M., Simhan, H.N., et al., 2007. High prevalence of Vitamin D insufficiency in black and white pregnant women residing in the Northern United States and their neonates. *Journal of Nutrition*,

- 137(2), pp.447–452.
- Bodnar, L.M., Catov, J.M., et al., 2007. Maternal Vitamin D deficiency increases the risk of preeclampsia. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92(9), pp.3517–3522.
- Boonstra, A. et al., 2001. 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ has a direct effect on naive CD4⁺ T cells to enhance the development of Th2 cells. *The Journal of Immunology*, 167, pp.4974–4980.
- Borgfeldt, C. & Andolf, E., 2000. Transvaginal ultrasonographic findings in the uterus and the endometrium: low prevalence of leiomyoma in a random sample of women age 25–40 years. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*, 79(3), pp.202–207.
- Borkowski, J. et al., 2008. Serum and peritoneal evaluation of vitamin D-binding protein in women with endometriosis. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 62, pp.103–109.
- Boyson, J.E. et al., 2006. Gestation stage-dependent mechanisms of invariant natural killer T cell-mediated pregnancy loss. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(12), pp.4580–4585.
- Brakta, S. et al., 2015. Role of Vitamin D in uterine fibroid biology. *Fertility and Sterility*, 104(3), pp.698–706.
- Brehm, J.M. et al., 2010. Serum vitamin D levels and severe asthma exacerbations in the Childhood Asthma Management Program study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 126, pp.52–58e55.
- Buck Louis, G.M. et al., 2011. Incidence of endometriosis by study population and diagnostic method: the ENDO Study. *Fertility and Sterility*, 96(2), pp.360–365.
- Buhling, K.J. & Laakmann, E., 2014. The effect of micronutrient supplements on male fertility. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 26, pp.199–209.
- Bulmer, J.N., Williams, P.J. & Lash, G.E., 2010. Immune cells in the placental bed. *The International Journal of Developmental Biology*, 54(2-3), pp.281–294.
- Buttram, V.C.J., 1986. Uterine leiomyomata-aetiology, symptomatology and management. *Progress in clinical and biological research*, 225, pp.275–296.
- Candiani, G.B. et al., 1991. Risk of recurrence after myomectomy. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 98(4), pp.385–389.
- Cannell, J.J. et al., 2006. Epidemic influenza and vitamin D. *Epidemiology and Infection*, 134, pp.1129–1140.
- Carmeliet, G., Dermauw, V. & Bouillon, R., 2015. Vitamin D signaling in calcium and bone homeostasis: A delicate balance. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 29, pp.621–631.
- Chambon, Y., 1951. Synergic action of Vitamin D and of progesterone in obtaining ovum implantation

- in the castrated pregnant rabbit. *Comptes rendus des séances de la Société de biologie et de ses filiales*, 145(13-14), pp.955–959.
- Chang, H. et al., 2013. Antimüllerian hormone inhibits follicle-stimulating hormone-induced adenylyl cyclase activation, aromatase expression, and estradiol production in human granulosa-lutein cells. *Fertility and Sterility*, 100(2), pp.585–592.e1.
- Chen, S. et al., 2007. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on human B cell differentiation. *The Journal of Immunology*, 179, pp.1634–1647.
- Cho, S. et al., 2012. Urinary vitamin D-binding protein is elevated in patients with endometriosis. *Human Reproduction*, 27(2), pp.515–522.
- Chung, I. et al., 2006. Differential antiproliferative effects of calcitriol on tumor-derived and matrigel-derived endothelial cells. *Cancer Research*, 66(17), pp.8565–8573.
- Correale, J., Ysraelit, M.C. & Gaitán, M.I., 2009. Immunomodulatory effects of Vitamin D in multiple sclerosis. *Brain: a journal of neurology*, 132, pp.1146–1160.
- D'Ambrosio, D. et al., 1998. Inhibition of IL-12 production by 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ - Involvement of NF-κB downregulation in transcriptional repression of the p40 gene. *Journal of Clinical Investigation*, 101, pp.252–262.
- Daiger, S.P., Mel, S.S. & Cavalli-Sforza, L.L., 1975. Group-Specific component (Gc) proteins bind Vitamin D and 25-hydroxyvitamin D. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(6), pp.2076–2080.
- Daniel, C. et al., 2008. Immune modulatory treatment of trinitrobenzene sulfonic acid colitis with calcitriol is associated with a change of a T Helper (Th)1/Th17 to a Th2 and regulatory T cell profile. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 324(1), pp.23–33.
- Darby, M.M. et al., 2013. Vitamin D supplementation suppresses hypoxia-stimulated placental cytokine secretion, hypertension and CD4⁺ T cell stimulation in response to placental ischemia. *Medical Journal of Obstetrics & Gynecology*, 1(2), pp.1–11.
- Deng, K.X. et al., 2011. Expression and significance of HOXA10 gene in the eutopic and ectopic endometrium of endometriosis. *Zhonghua fu chan ke za zhi*, 56(11), pp.813–816.
- Dennis, N.A. et al., 2012. The level of serum Anti-Müllerian Hormone correlates with Vitamin D status in men and women but not in boys. , 97(7), pp.2450–2455.
- Diamanti-Kandarakis, E. et al., 2007. Immunohistochemical localization of advanced glycation end-products (AGEs) and their receptor (RAGE) in polycystic and normal ovaries. *Histochemistry and Cell Biology*, 127(6), pp.581–589.
- Diamanti-Kandarakis, E. et al., 2013. Interference of AGE-RAGE signaling with steroidogenic enzyme action in human ovarian cells. In *Proceedings of the Endocrine Society's 95th Annual Meeting and*

Expo. pp. 15–18.

- Donaghy, M. & Lessey, B.A., 2007. Uterine receptivity: alterations associated with benign gynecological disease. *Seminars in Reproductive Medicine*, 25(6), pp.461–475.
- Du, H. et al., 2016. Direct regulation of HOXA10 by 1,25-(OH)₂ D₃ in human myelomonocytic cells and human endometrial stromal cells. *Molecular Endocrinology*, 19(9), pp.2222–2233.
- Dunaif, A. et al., 1989. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes*, 38(9), pp.1165–1174.
- Eisenberg, V.H., Zolti, M. & Soriano, D., 2012. Is there an association between autoimmunity and endometriosis? *Autoimmunity Reviews*, 11, pp.806–814.
- El-Kasti, M.M. et al., 2011. Urinary peptide profiling identifies a panel of putative biomarkers for diagnosing and staging endometriosis. *Fertility and Sterility*, 95(4), pp.1261–1266.e6.
- Erlebacher, A., 2013. Mechanisms of T cell tolerance towards the allogeneic fetus. *Nature Reviews Immunology*, 13(1), pp.23–33.
- Eskenazi, B. & Warner, M.L., 1997. Epidemiology of endometriosis. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, 24(2), pp.235–258.
- Etten, E. Van et al., 2008. Regulation of vitamin D homeostasis: implications for the immune system. *Nutrition Reviews*, 66, pp.S125–S134.
- Evans, K.N. et al., 2006. Effects of 25-hydroxyvitamin D₃ and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on cytokine production by human decidual cells. *Biology of Reproduction*, 75, pp.816–822.
- Evans, K.N. et al., 2004. Vitamin D and placental-decidual function. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 11(5), pp.263–271.
- Farhi, J. et al., 1995. Effect of uterine leiomyomata on the results of invitro fertilization treatment. *Human Reproduction*, 10(10), pp.2576–2578.
- Faserl, K. et al., 2011. Polymorphism in Vitamin D-Binding Protein as a genetic risk factor in the pathogenesis of endometriosis. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 96(1), pp.233–241.
- Fernández Giráldez, E., 2013. Una hormona secosteroide llamada aún vitamina D. *Parlem de: Una Vitamina de Moda*, pp.20–21.
- Franasiak, J.M. et al., 2015. Vitamin D levels do not affect IVF outcomes following the transfer of euploid blastocysts. *The American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 212, pp.315.e1–315.e6.
- Frederick, J. et al., 1994. Intramyometrial vasopressin as a haemostatic agent during myomectomy. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 101(5), pp.453–457.
- Froicu, M. et al., 2003. A crucial role for the Vitamin D Receptor in experimental inflammatory Bowel

- diseases. *Molecular Endocrinology*, 17(12), pp.2386–2392.
- Fujiwara, N. & Kobayashi, K., 2005. Macrophages in inflammation. *Current Drug Targets. Inflammation and Allergy*, 4(3), pp.281–286.
- Gale, C.R. et al., 2008. Maternal vitamin D status during pregnancy and child outcomes. *European Journal of Clinical Nutrition*, 62(1), pp.68–77.
- Garbedian, K. et al., 2013. Effect of vitamin D status on clinical pregnancy rates following in vitro fertilization. *Canadian Medical Association Journal*, 1(2), pp.E77–E82.
- Garcia Oliveira, F. et al., 2004. Impact of subserosal and intramural uterine fibroids that do not distort the endometrial cavity on the outcome of in vitro fertilization – intracytoplasmic sperm injection. *Fertility and Sterility*, 81(3), pp.582–587.
- Glorieux, F.H., Arrabian, A. & Delvin, E.E., 1995. Pseudo-vitamin D deficiency: absence of 25-hydroxyvitamin D 1 alpha-hydroxylase activity in human placenta decidual cells. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 80(7), pp.2255–2258.
- Goh, S.-Y. & Cooper, M.E., 2008. The role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 93(4), pp.1143–1152.
- Gong, Y. & Tempfer, C.B., 2011. Regional lymphatic spread in women with pelvic endometriosis. *Medical Hypotheses*, 76, pp.560–563.
- Gordon, S. & Martinez, F.O., 2010. Alternative activation of macrophages: Mechanism and Functions. *Immunity*, 32, pp.593–604.
- Gorman, S. et al., 2007. Topically applied 1,25-dihydroxyvitamin D₃ enhances the suppressive activity of CD4⁺ CD25⁺ cells in the draining lymph nodes. *The Journal of Immunology*, 179, pp.6273–6283.
- Grant, W.B. & Mohr, S.B., 2009. Ecological studies of ultraviolet B, vitamin D and cancer since 2000. *Annals of Epidemiology*, 19, pp.446–454.
- Gray, T.K., Lester, G.E. & Lorenc, R.S., 1979. Evidence for extra-renal 1-alpha-hydroxylation of 25-hydroxyvitamin D₃ in pregnancy. *Science*, 204(4399), pp.1311–1313.
- Griffin, M.D. et al., 2001. Dendritic cell modulation by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ and its analogs: A vitamin D receptor-dependent pathway that promotes a persistent state of immaturity in vitro and in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(12), pp.6800–6805.
- Guasch, A. et al., 2012. Plasma vitamin D and parathormone are associated with obesity and atherogenic dyslipidemia: a cross-sectional study. *Cardiovascular Diabetology*, 11(1), p.149.
- Guo, S.W., 2006. Nuclear factor-kappaB (NF-kappaB): an unsuspected major culprit in the pathogenesis of endometriosis that is still at large? *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 63(2), pp.71–97.
- Gysler, S.M. et al., 2015. Vitamin D reverses aPL-induced inflammation and LMWH-induced sFlt-1 release by human trophoblast. *American Journal of Reproductive Immunology*, 73(3), pp.242–250.

- Hahn, S. et al., 2006. Low serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with insulin resistance and obesity in women with polycystic ovary syndrome. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 114(10), pp.577–583.
- Halder, S.K., Goodwin, J.S. & Al-Hendy, A., 2011. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ reduces TGF-β₃-induced fibrosis-related gene expression in human uterine leiomyoma cells. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 96(4), pp.754–762.
- Halder, S.K., Osteen, K.G. & Al-Hendy, A., 2013. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ reduces extracellular matrix-associated protein expression in human uterine fibroid cells. *Biology of Reproduction*, 89(6), pp.1–13.
- Halloran, B.P. & DeLuca, H.F., 1980a. Calcium transport in small intestine during early development: role of Vitamin D. *American Journal of Physiology*, 239(6), pp.473–479.
- Halloran, B.P. & DeLuca, H.F., 1980b. Effect of vitamin D deficiency on fertility and reproductive capacity in the female rat. *Journal of Nutrition*, 110(8), pp.1573–1580.
- Hanna, J. et al., 2003. CXCL12 expression by invasive trophoblasts induces the specific migration of CD16- human natural killer cells. *Chemokines*, 102(5), pp.1569–1577.
- Harris, H.R. et al., 2013. Dairy-food, calcium, magnesium, and vitamin D intake and endometriosis: a prospective cohort study. *American Journal of Epidemiology*, 177(5), pp.420–430.
- Hartwell, D. et al., 1990. Vitamin D metabolites-relation to age, menopause and endometriosis. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 50(2), pp.115–121.
- Haussler, M.R. et al., 2012. Molecular mechanisms of vitamin D action. *Calcified Tissue International*, 92(2), pp.77–98.
- Haussler, M.R. et al., 2011. Vitamin D receptor (VDR)-mediated actions of 1α,25(OH)₂vitamin D₃: Genomic and non-genomic mechanisms. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 25, pp.543–559.
- Heinemann, K. et al., 2003. Benign gynecological tumors: estimated incidence results of the German cohort study on women's health. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 107, pp.78–80.
- Henry, H.L. et al., 2010. 14th Vitamin D Workshop consensus on vitamin D nutritional guidelines. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 121, pp.4–6.
- Hewison, M., 2011. Vitamin D and innate adaptive immunity. *Vitamins & Hormones*, 86, pp.23–62.
- Hirai, T. et al., 2009. Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D on testicular morphology and gene expression in experimental cryptorchid mouse: testis specific cDNA microarray analysis and potential implication in male infertility. *The Journal of Urology*, 181(3), pp.1487–92.
- Holick, M.F. et al., 2011. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an endocrine

- society clinical practice guideline. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 96, pp.1911–1930.
- Holick, M.F., 2007. Vitamin D deficiency. *New England Journal of Medicine*, 357, pp.266–281.
- Holick, M.F. & Chen, T.C., 2008. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *American Journal of Clinical Nutrition*, 87, p.1080S–1086S.
- Huang, S.J. et al., 2008. Pre-eclampsia is associated with dendritic cell recruitment into the uterine decidua. *The Journal of Pathology*, 214(3), pp.328–336.
- Hughes, S. V et al., 1997. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ regulates estrogen metabolism in cultured keratinocytes. *Endocrinology*, 138(9), pp.3711–3718.
- Hyppönen, E. et al., 2001. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet*, 358, pp.1500–1503.
- Iikuni, N. et al., 2007. What's in season for rheumatoid arthritis patients? Seasonal fluctuations in disease activity. *Rheumatology*, 46, pp.846–848.
- Irani, M. et al., 2014. Vitamin D increases serum levels of the soluble receptor for advanced glycation end products in women with PCOS. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99(5), pp.886–890.
- Irani, M. & Merhi, Z., 2014. Role of vitamin D in ovarian physiology and its implication in reproduction: a systematic review. *Fertility and Sterility*, 102(2).
- Iseki, K. et al., 1999. Inhibition of angiogenesis as a mechanism for inhibition by 1 α -hydroxyvitamin D₃ and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ of colon carcinogenesis induced by azoxymethane in wistar rats. *International Journal of Cancer*, 81, pp.730–733.
- Jackson, L.W. et al., 2014. Oxidative stress and endometriosis. *Human Reproduction*, 20(7), pp.2014–2020.
- Jeffery, L.E. et al., 2009. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and IL-2 combine to inhibit T cell production of inflammatory cytokines and promote development of regulatory T cells expressing CTLA-4 and FoxP3. *The Journal of Immunology*, 183, pp.5458–5467.
- Jensen, F. et al., 2013. Regulatory B10 cells restore pregnancy tolerance in a mouse model. *Biology of Reproduction*, 89(4), pp.1–7.
- Jia, X. et al., 2012. Methylglyoxal mediates adipocyte proliferation by increasing phosphorylation of Akt1. *PLoS ONE*, 7(5), p.e36610.
- Jirge, P.R., 2011. Ovarian reserve tests. *Journal of Human Reproductive Sciences*, 4(3), pp.108–113.
- Jukic, A.M.Z., Steiner, A.Z. & Baird, D.D., 2015. Association between serum 25-hydroxyvitamin D and ovarian reserve in pre-menopausal women. *Menopause*, 22(3), pp.312–316.

- Kachkache, M. et al., 1993. Uterine cells other than stromal decidual cells are required for 1,25-dihydroxyvitamin D, production during early human pregnancy. *Federation of European Biochemical Societies*, 333(1, 2), pp.83–88.
- Kämmerer, U. et al., 2003. Unique appearance of proliferating antigen-presenting cells expressing DC-SIGN (CD209) in the decidua of early human pregnancy. *American Journal of Pathology*, 162(3), pp.887–896.
- Karmali, R. et al., 1991. 1,25(OH)₂D₃ regulates c-myc mRNA levels in tonsillar T lymphocytes. *Immunology*, 74, pp.589–593.
- Kawa, S. et al., 1996. Inhibitory effect of 22-oxa-1,25-dihydroxyvitamin D₃ on the proliferation of pancreatic cancer cell lines. *Gastroenterology*, 110, pp.1605–1613.
- Kawa, S. et al., 1997. Vitamin D analogues up-regulate p21 and p27 during growth inhibition of pancreatic cancer cell lines. *British Journal of Cancer*, 76(7), pp.884–889.
- Kim, J.J. et al., 2014. Vitamin D deficiency in women with polycystic ovary syndrome. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine*, 41(2), pp.80–85.
- Kinuta, K. et al., 2000. Vitamin D is an important factor in estrogen biosynthesis of both female and male gonads. *Endocrinology*, 141(4), pp.1317–1324.
- Kotsa, K. et al., 2009. Role of vitamin D treatment in glucose metabolism in polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility*, 92(3), pp.1053–1058.
- Kozakowski, J., Kapuscinska, R. & Zgliczynski, W., 2014. Associations of vitamin D concentration with metabolic and hormonal indices in women with polycystic ovary syndrome presenting abdominal and gynoidal type of obesity. *Ginekologia Polska*, 85(10), pp.765–770.
- Krishnan, A. V et al., 2007. Novel pathways that contribute to the anti-proliferative and chemopreventive activities of calcitriol in prostate cancer. *Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 103, pp.694–702.
- Krishnan, A. V et al., 2010. Tissue-selective regulation of aromatase expression by calcitriol: implications for breast cancer therapy. *Endocrinology*, 151(1), pp.32–42.
- Krishnan, A. V & Feldman, D., 2011. Mechanisms of the anti-cancer and anti-inflammatory actions of vitamin D. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 51, pp.311–336.
- Krul-Poel, Y.H.M. et al., 2013. The role of vitamin D in metabolic disturbances in polycystic ovary syndrome: a systematic review. *European Journal of Endocrinology*, 169, pp.853–865.
- Kwan, M. et al., 2014. Dynamic changes in maternal decidual leukocyte populations from first to second trimester gestation. *Placenta*, 35, pp.1027–1034.
- Lappe, J.M. et al., 2007. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 85, pp.1586–1591.

- Lasco, A., Catalano, A. & Benvenga, S., 2012. Improvement of primary dysmenorrhea caused by a single oral dose of vitamin D: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Archives of internal medicine*, 172(4), pp.366–367.
- Lash, G.E. et al., 2010. Regulation of extravillous trophoblast invasion by uterine natural killer cells is dependent on gestational age. *Human Reproduction*, 25(5), pp.1137–1145.
- Lash, G.E., Robson, S.C. & Bulmer, J.N., 2010. Review: Functional role of uterine natural killer (uNK) cells in human early pregnancy decidua. *Placenta*, pp.S87–92.
- Laskarin, G. et al., 2007. Antigen-presenting cells and materno-fetal tolerance: an emerging role for dendritic cells. *American Journal of Reproductive Immunology*, 58(3), pp.255–267.
- Lerchbaum, E. et al., 2012. Adult-type hypolactasia and calcium intake in polycystic ovary syndrome. *Clinical Endocrinology*, 77, pp.834–843.
- Lerchbaum, E. & Obermayer-Pietsch, B., 2012. Vitamin D and fertility: a systematic review. *European Journal of Endocrinology*, 166, pp.765–778.
- Leung, K.H., 1989. Inhibition of human natural killer cell and lymphokine-activated killer cell cytotoxicity and differentiation by vitamin D₃. *Scandinavian Journal of Immunology*, 30(2), pp.199–208.
- Levander, G., 1941. Über die Pathogenese bei Endometriose. *Archiv für klinische Chirurgie*, 202, pp.497–515.
- Li, H.W.R. et al., 2011. Vitamin D deficiency is common and associated with metabolic risk factors in patients with polycystic ovary syndrome. *Metabolism*, 60(10), pp.1475–1481.
- Liu, N.Q. et al., 2008. Altered endocrine and autocrine metabolism of vitamin D in a mouse model of gastrointestinal inflammation. *Endocrinology*, 149(10), pp.4799–4808.
- Liu, N.Q. et al., 2013. Dietary vitamin D restriction in pregnant female mice is associated with maternal hypertension and altered placental and fetal development. *Endocrinology*, 154(7), pp.2270–2280.
- Liu, N.Q. et al., 2011. Vitamin D and the regulation of placental inflammation. *The Journal of Immunology*, 186, pp.5968–5974.
- Liu, P.T. et al., 2009. Convergence of IL-1b and VDR activation pathways in human TLR2/1-induced antimicrobial responses. *PLoS ONE*, 4(6), p.eS810.
- Liu, P.T. et al., 2006. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science*, 311(5768), pp.1770–1773.
- Long, K.Z. & Santos, J.I., 1999. Vitamins and the regulation of the immune response. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 18(3), pp.283–290.
- Looker, A.C. et al., 2011. Vitamin D status: United States, 2001 – 2006. *NHCS Data Brief*, 59, pp.1–8.

- Maestro, B. et al., 2003. Identification of a Vitamin D response element in the human insulin receptor gene promoter. *Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 84, pp.223–230.
- Mahmoudi, T., 2009. Genetic variation in the vitamin D receptor and polycystic ovary syndrome risk. *Fertility and Sterility*, 92(4), pp.1381–1383.
- Malloy, P.J. et al., 2009. Interaction of the vitamin D receptor with a vitamin D response element in the Müllerian-inhibiting substance (MIS) promoter: regulation of MIS expression by calcitriol in prostate cancer cells. , 150(4), pp.1580–1587.
- Mantell, D.J. et al., 2000. 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. *Circulation Research*, 87, pp.214–221.
- Manyonda, I., Sinthamoney, E. & Belli, A.-M., 2004. Controversies and challenges in the modern management of uterine fibroids. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 111, pp.95–102.
- March, W.A. et al., 2010. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. *Human Reproduction*, 25(2), pp.544–551.
- Mariani, M. et al., 2012. The selective vitamin D receptor agonist, elocalcitol, reduces endometriosis development in a mouse model by inhibiting peritoneal inflammation. *Human Reproduction*, 27(7), pp.2010–2019.
- Mathieu, C. & Adorini, L., 2002. The coming of age of 1,5-dihydroxyvitamin D₃ analogs as immunomodulatory agents. *Trends in Molecular Medicine*, 8(4), pp.174–179.
- Matsushita, T. et al., 2008. Regulatory B cells inhibit EAE initiation in mice while other B cells promote disease progression. *The Journal of Clinical Investigation*, 118(10), pp.3420–3430.
- Mazloomi, S. et al., 2012. Association between hypoadiponectinemia and low serum concentrations of calcium and vitamin D in women with Polycystic Ovary Syndrome. *International Scholarly Research Network*, 2012, pp.1–6.
- Merhi, Z., 2014. Advanced glycation end products and their relevance in female reproduction. *Human Reproduction*, 29(1), pp.135–145.
- Merhi, Z., Irani, M., et al., 2014. Follicular fluid soluble receptor for advanced glycation end-products (sRAGE): a potential indicator of ovarian reserve. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99(2), pp.E226–E233.
- Merhi, Z., Doswell, A., et al., 2014. Vitamin D alters genes involved in follicular development and steroidogenesis in human cumulus granulosa cells. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99(6), pp.E1137–E1145.
- Merino, F. et al., 1989. Regulation of natural killer cytotoxicity by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Cellular Immunology*, 118(2), pp.328–336.
- Meyer, R., 1919. The status of adenomyosis and adenomyoma, with a discussion of seroepithelial

- adenomyosis and sarcomatose adenomyometritis. *Zel Gynaecol*, 43, pp.745–750.
- Milingos, S. et al., 2006. Endometriosis in patients with chronic pelvic pain: is staging predictive of the efficacy of laparoscopic surgery in pain relief? *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 62(1), pp.48–54.
- Mishra, V. V et al., 2015. Prevalence; characteristics and management of endometriosis amongst infertile women: a one year retrospective study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 9(6), pp.1–3.
- Missmer, S.A. et al., 2004. Incidence of laparoscopically confirmed endometriosis by demographic, anthropometric, and lifestyle factors. *American Journal of Epidemiology*, 160(8), pp.784–796.
- Miura, S. et al., 2006. Differential infiltration of macrophages and prostaglandin production by different uterine leiomyomas. *Human Reproduction*, 21(10), pp.2545–2554.
- Mora, J.R., Iwata, M. & von Andrian, U.H., 2010. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nature Reviews Immunology*, 8(9), pp.685–698.
- Morán-Auth, Y. et al., 2013. Vitamin D status and gene transcription in immune cells. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 136, pp.83–85.
- Mosser, D.M., 2003. The many faces of macrophage activation. *Journal of Leukocyte Biology*, 73(2), pp.209–212.
- Munger, K.L. et al., 2006. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *Journal of the American Medical Association*, 296, pp.2832–2838.
- Muscogiuri, G. et al., 2012. Low levels of 25(OH)D and insulin-resistance: 2 unrelated features or a cause-effect in PCOS? *Clinical Nutrition*, 31(4), pp.476–480.
- Nagpal, S., Na, S. & Rathnachalam, R., 2005. Noncalcemic actions of Vitamin D Receptor ligands. *Endocrine Reviews*, 26(5), pp.662–687.
- Nesby-O’Dell, S. et al., 2002. Hypovitaminosis D prevalence and determinants among African American and white women of reproductive age: third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988 – 1994. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76, pp.187–192.
- Ng, E.H.Y. & Ho, P.C., 2002. Doppler ultrasound examination of uterine arteries on the day of oocyte retrieval in patients with uterine fibroids undergoing IVF. *Human Reproduction*, 17(3), pp.765–770.
- Nimptsch, K. et al., 2012. Association between plasma 25-OH vitamin D and testosterone levels in men. *Clinical Endocrinology*, 77(1), pp.106–112.
- Nunn, J.D. et al., 1986. Regulation of human tonsillar T-cell proliferation by the active metabolite of vitamin D₃. *Immunology*, 59, pp.479–484.
- O’Kelly, J. et al., 2002. Normal myelopoiesis but abnormal T lymphocyte responses in vitamin D receptor knockout mice. *Journal of Clinical Investigation*, 109, pp.1091–1099.

- Oral, E. et al., 2003. Prevalence of endometriosis in malignant epithelial ovary tumours. *Obstetrics & Gynecology*, 109, pp.97–101.
- Ota, K. et al., 2014. Vitamin D deficiency may be a risk factor for recurrent pregnancy losses by increasing cellular immunity and autoimmunity. *Human Reproduction*, 29(2), pp.208–219.
- Ott, J. et al., 2012. Parameters for calcium metabolism in women with polycystic ovary syndrome who undergo clomiphene citrate stimulation: a prospective cohort study. *European Journal of Endocrinology*, 166, pp.897–902.
- Pacis, M.M. et al., 2015. Vitamin D and assisted reproduction: should vitamin D be routinely screened and repleted prior to ART? A systematic review. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 32, pp.323–335.
- Paes de Almeida Ferreira Braga, D. et al., 2012. Food intake and social habits in male patients and its relationship to intracytoplasmic sperm injection outcomes. *Fertility and Sterility*, 97(1), pp.53–59.
- Paffoni, A. et al., 2013. Vitamin D status in women with uterine leiomyomas. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 98(8), pp.1374–1378.
- Pal, L. et al., 2015. Vitamin D status relates to reproductive outcome in women with Polycystic Ovary Syndrome: secondary analysis of a multicenter randomized controlled trial. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, pp.1–10.
- Palmer, M.T. et al., 2011. Lineage-specific effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on the development of effector CD4 T cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 286(2), pp.997–1004.
- Panda, D.K. et al., 2001. Targeted ablation of the 25-hydroxyvitamin D 1 α -hydroxylase enzyme: Evidence for skeletal, reproductive, and immune dysfunction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(13), pp.7498–7503.
- Panidis, D. et al., 2005. Serum parathyroid hormone concentrations are increased in women with Polycystic Ovary Syndrome. *Clinical Chemistry*, 51(9), pp.1691–1697.
- Parazzini, F. et al., 2004. Selected food intake and risk of endometriosis. *Human Reproduction*, 19(8), pp.1755–1759.
- Parikh, G. et al., 2010. Vitamin D regulates steroidogenesis and Insulin-like Growth Factor Binding Protein-1 (IGFBP-1) production in human ovarian cells. *Hormone and Metabolic Research*, 42, pp.754–757.
- Payson, M., Leppert, P. & Segars, J., 2006. Epidemiology of Myomas. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, 33(1), pp.1–11.
- Peterlik, M. & Cross, H.S., 2005. Vitamin D and calcium deficits predispose for multiple chronic diseases. *European Journal of Clinical Investigation*, 35(5), pp.290–304.
- Piccinni, M.P. et al., 1998. Defective production of both leukemia inhibitory factor and type 2 T-helper

- cytokines by decidual T cells in unexplained recurrent abortions. *Nature Medicine*, 4(9), pp.1020–1024.
- Pilz, S. et al., 2011. Effect of vitamin D supplementation on testosterone levels in men. *Hormone and Metabolic Research*, 43(3), pp.223–225.
- Pludowski, P. et al., 2013. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality — A review of recent evidence. *Autoimmunity Reviews*, 12(10), pp.976–989.
- Polek, T.C. et al., 2001. Novel nonsteroidal vitamin D receptor modulator inhibits the growth of LNCaP xenograft tumors in athymic mice without increased serum calcium. *Prostate*, 49(3), pp.224–233.
- Provvedini, D. et al., 1986. 1alpha,25-dihydroxyvitamin D₃-binding macromolecules in human B lymphocytes: effects on immunoglobulin production. *The Journal of Immunology*, 136(8), pp.2734–2740.
- Public Health England and Food Standards Agency, 2014. *National Diet and Nutrition Survey. Headline results from years 1, 2 and 3 (combined) of the Rolling Programme (2008/2009-2010/2011)*, Available at: <https://www.gov.uk>.
- PubMed, 2016. National Center for Biotechnology Information (NCBI). *Vitamin D: results by year*. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=vitamin+d> [Accessed July 7, 2016].
- Rackow, B.W. & Arici, A., 2005. Fibroids and in-vitro fertilization: which comes first? *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 17(3), pp.225–231.
- Rackow, B.W. & Taylor, H.S., 2010. Submucosal uterine leiomyomas have a global effect on molecular determinants of endometrial receptivity. *Fertility and Sterility*, 93(6), pp.2027–2034.
- Rafiq, R. et al., 2015. Associations of vitamin D status and vitamin D-related polymorphisms with sex hormones in older men. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*.
- Ramlau-Hansen, C.H. et al., 2011. Are serum levels of vitamin D associated with semen quality? Results from a cross-sectional study in young healthy men. *Fertility and Sterility*, 95(3), pp.1000–1004.
- Ranjzad, F. et al., 2011. Influence of gene variants related to calcium homeostasis on biochemical parameters of women with polycystic ovary syndrome. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 28, pp.225–232.
- Rashidi, B. et al., 2009. The effects of calcium-vitamin D and metformin on polycystic ovary syndrome: a pilot study. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 48(2), pp.142–147.
- Ravnsborg, T. et al., 2010. The glycosylation and characterization of the candidate Gc macrophage activating factor. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1804, pp.909–917.
- Recklinghausen, F. Von, 1896. Adenomyomas and cystadenomas of the wall of the uterus and tube: Their

- origin as remnants of the Wolffian body. *Wiener klinische Wochenschrift*, 8, p.530.
- Richards, P.A., Richards, P.D.G. & Tiltman, A.J., 1998. The ultrastructure of fibromyomatous myometrium and its relationship to infertility. *Human Reproduction Update*, 4(5), pp.520–525.
- Rieger, L. et al., 2004. Antigen-presenting cells in human endometrium during the menstrual cycle compared to early pregnancy. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 11(7), pp.488–493.
- Robson, A. et al., 2012. Uterine natural killer cells initiate spiral artery remodeling in human pregnancy. *The FASEB Journal*, 26, pp.4876–4885.
- Rojansky, N., Benshushan, A. & Meirsdorf, S., 2000. Seasonal variability in fertilization and embryo quality rates in women undergoing IVF. *Fertility and Sterility*, 74(3), pp.476–481.
- Rojansky, N., Brzezinski, A. & Schenker, J.G., 1992. Seasonality in human reproduction: an update. *Human Reproduction*, 7(6), pp.735–745.
- Rudick, B.J. et al., 2014. Influence of vitamin D levels on in vitro fertilization outcomes in donor-recipient cycles. *Fertility and Sterility*, 101(2), pp.447–452.
- Sabry, M. et al., 2013. Serum vitamin D3 level inversely correlates with uterine fibroid volume in different ethnic groups: a cross-sectional observational study. *International Journal of Women's Health*, 5, pp.93–100.
- Saito, S. et al., 1999. Increased T-helper-1-type immunity and decreased T-helper-2-type immunity in patients with preeclampsia. *American Journal of Reproductive Immunology*, 41(5), pp.297–306.
- Sampson, J.A., 1927. Metastatic or embolic endometriosis, due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the venous circulation. *The American Journal of Pathology*, III(2), pp.93–109.
- Sasson, I.E. & Taylor, H.S., 2008. Stem cells and the pathogenesis of endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1127, pp.106–115.
- Savastano, S. et al., 2011. Serum 25-Hydroxyvitamin D levels, phosphoprotein enriched in diabetes gene product (PED/PEA-15) and leptin-to-adiponectin ratio in women with PCOS. *Nutrition & Metabolism*, 8(84), pp.1–8. Available at: <http://www.nutritionandmetabolism.com/content/8/1/84>.
- Sayegh, L., Fuleihan, G.E.H. & Nassar, A.H., 2014. Vitamin D in endometriosis: A causative or confounding factor? *Metabolism*, 63, pp.32–41.
- Scaife, P. et al., 2003. A comparison of cytotoxic decidual leukocyte populations in early and late pregnancy. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 10, p.360A.
- Seubwai, W. et al., 2007. Overexpression of Vitamin D Receptor indicates a good prognosis for cholangiocarcinoma. *Cancer*, 109(12), pp.2497–2505.
- Shahrokhi, S.Z., Ghaffari, F. & Kazerouni, F., 2016. Role of vitamin D in female Reproduction. *Clinica*

Chimica Acta, 455, pp.33–38.

Sharan, C. et al., 2011. Vitamin D inhibits proliferation of human uterine leiomyoma cells via catechol-O-methyltransferase. *Fertility and Sterility*, 95(1), pp.247–253.

Shastri, S.M. et al., 2005. Effect of Uterine Leiomyoma on outcomes of in vitro fertilization (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI). *Fertility and Sterility*, 84, p.S154.

Shiozawa, K. et al., 1985. 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits pokeweed mitogen-stimulated human B-cell activation: an analysis using serum-free culture conditions. *Immunology*, 56, pp.161–167.

Simoens, S., Hummelshoj, L. & D’Hooghe, T., 2007. Endometriosis: cost estimates and methodological perspective. *Human Reproduction Update*, 13(4), pp.395–404.

Somigliana, E. et al., 2007. Vitamin D reserve is higher in women with endometriosis. *Human Reproduction*, 22(8), pp.2273–2278.

Spach, K.M. et al., 2006. IL-10 signaling is essential for 1,25-dihydroxyvitamin D₃-mediated inhibition of experimental autoimmune encephalomyelitis. *The Journal of Immunology*, 177, pp.6030–6037.

Stewart, E.A. et al., 2016. Uterine fibroids. *Nature Reviews Disease Primers*, 2, p.16043.

Stratton, P. & Berkley, K.J., 2011. Chronic pelvic pain and endometriosis: translational evidence of the relationship and implications. *Human Reproduction Update*, 17(3), pp.327–346.

Tamblyn, J.A. et al., 2015. Immunological role of vitamin D at the maternal–fetal interface. *Journal of Endocrinology*, 224, pp.R107–R121.

Taylor, H.S. et al., 1999. HOX gene expression is altered in the endometrium of women with endometriosis. *Human Reproduction*, 14(5), pp.1328–1331.

Taylor, H.S. et al., 1998. HOXA10 is expressed in response to sex steroids at the time of implantation in the human endometrium. *Journal of Clinical Investigation*, 101, pp.1379–1384.

Teegarden, D. & Donkin, S.S., 2009. Vitamin D: emerging new roles in insulin sensitivity. *Nutrition Research Reviews*, 22, pp.82–92.

The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2012. Endometriosis and infertility: a committee opinion. *Fertility and Sterility*, 98(3), pp.591–598.

The Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshop group, 2004. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Human Reproduction*, 19(1), pp.41–47.

Thys-Jacobs, S. et al., 1999. Vitamin D and calcium dysregulation in the polycystic ovarian syndrome. *Steroids*, 64, pp.430–435.

Trabert, B. et al., 2011. Diet and risk of endometriosis in a population-based case-control study. *British Journal of Nutrition*, 105(3), pp.459–467.

- Trump, D.L., Deeb, K. & Johnson, C.S., 2010. Vitamin D: Considerations in the continued development as an agent for cancer prevention and therapy. *Cancer*, 16(1), pp.1–9.
- Turer, C.B., Lin, H. & Flores, G., 2013. Prevalence of Vitamin D deficiency among overweight and obese US Children. *Pediatrics*, 13(1), pp.E152–161.
- Uhland, A.M., Kwiecinski, G.G. & DeLuca, H.F., 1992. Normalization of serum calcium restores fertility in vitamin D - deficient male rats. *Journal of Nutrition*, 122(6), pp.1338–1344.
- Unoki, H. & Yamagishi, S., 2008. Advanced glycation end products and insulin resistance. *Current Pharmaceutical Design*, 14(10), pp.987–989.
- Urrutia, R.P. & Thorp, J.M., 2012. Vitamin D in pregnancy: current concepts. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 24(2), pp.57–64.
- Vause, T.D. et al., 2011. Ovulation induction in polycystic ovary syndrome. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*, 33(1), p.12.
- Vazzana, N. et al., 2012. Endogenous secretory RAGE in obese women: association with platelet activation and oxidative stress. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 97(9), pp.E1726–E1730.
- Viganò, P. et al., 2006. Cycling and early pregnant endometrium as a site of regulated expression of the vitamin D system. *Journal of Molecular Endocrinology*, 36, pp.415–424.
- Vilarino, F.L. et al., 2011. Analysis of vitamin D receptor gene polymorphisms in women with and without endometriosis. *Human Immunology*, 72, pp.359–363.
- Vimalaswaran, K.S. et al., 2013. Causal relationship between obesity and Vitamin D status: Bi-directional Mendelian randomization analysis of multiple cohorts. *PLoS Medicine*, 10(2), pp.1–13.
- Vodolazkaia, A. et al., 2012. Evaluation of a panel of 28 biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis. *Human Reproduction*, 27(9), pp.2698–2711.
- Vuolo, L. et al., 2012. Vitamin D and cancer. *Frontiers in Endocrinology*, 3, pp.1–13.
- Wang, J.-H. & Tuohimaa, P., 2007. Regulation of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2, type 4 and type 5 by calcitriol, LXR agonist and 5 β -dihydrotestosterone in human prostate cancer cells. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 107, pp.100–105.
- Wang, T.-T. et al., 2004. Cutting edge: 1,25-dihydroxyvitamin D₃ is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. *The Journal of Immunology*, 173, pp.2909–2912.
- Wautier, M.-P. et al., 2001. Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidant stress to altered gene expression via RAGE. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 280, pp.E685–E694.
- Wehr, E. et al., 2009. Association of hypovitaminosis D with metabolic disturbances in polycystic ovary syndrome. *European Journal of Endocrinology*, 161, pp.575–582.

- Wehr, E. et al., 2010. Association of vitamin D status with serum androgen levels in men. *Clinical Endocrinology*, 73, pp.243–248.
- Wehr, E., Trummer, O., et al., 2011. Vitamin D-associated polymorphisms are related to insulin resistance and vitamin D deficiency in polycystic ovary syndrome. *European Journal of Endocrinology*, 164, pp.741–749.
- Wehr, E., Pieber, T.R. & Obermayer-Pietsch, B., 2011. Effect of vitamin D3 treatment on glucose metabolism and menstrual frequency in polycystic ovary syndrome women: a pilot study. *Journal of Endocrinological Investigation*, 34(10), pp.757–763.
- Whitfield, G.K. et al., 1995. Genomic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Journal of Nutrition*, 125(6 Suppl), p.1690S–1694S.
- Wise, L.A. et al., 2014. Polymorphisms in Vitamin D related genes and risk of uterine leiomyomata. *Fertility and Sterility*, 102(2), pp.503–510.
- Wojtusik, J. & Johnson, P.A., 2012. Vitamin D regulates anti-mullerian hormone expression in granulosa cells of the Hen. *Biology of Reproduction*, 86(3(91)), pp.1–7.
- Wortsman, J. et al., 2000. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72, pp.690–693.
- Yildizhan, R. et al., 2009. Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in obese and non-obese women with polycystic ovary syndrome. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 280(4), pp.559–563.
- Yin, H. et al., 2013. Expression profiling of nuclear receptors identifies key roles of NR4A subfamily in uterine fibroids. *Molecular Endocrinology*, 27(5), pp.726–740.
- Ylikomi, T. et al., 2002. Antiproliferative action of vitamin D. *Vitamins & Hormones*, 64, pp.357–406.
- Yu, S. & Cantorna, M.T., 2011. Epigenetic reduction in iNKT cells following in utero vitamin D deficiency in mice. *The Journal of Immunology*, 186(3), pp.1384–1390.
- Zadeh-Vakili, A. et al., 2013. Genetic polymorphism of vitamin D receptor gene affects the phenotype of PCOS. *Gene*, 515, pp.193–196.
- Zehnder, D. et al., 2002. The ontogeny of 25-hydroxyvitamin D3 1 α -hydroxylase expression in human placenta and decidua. *American Journal of Pathology*, 161(1), pp.105–114.
- Zittermann, A., Gummert, J.F. & Borgermann, J., 2011. The role of vitamin D in dyslipidemia and cardiovascular disease. *Current Pharmaceutical Design*, 17, pp.933–942.