

Comunicación corta

REVISTA PERUANA DE MEDICINA INTEGRATIVA

ISSN: 2415 - 2692

Efecto del ergocalciferol (vitamina D₂) y el colecalciferol (vitamina D₃) sobre el control de la glicemia en ratas

Marco Antonio Adriaola Jokada¹, Jorge Luis Arroyo Acevedo², Lesly Chávez Rimache³, Pamela Chacón Uscamaita³, Eliberto Ruiz Ramírez^{1,3}

Información del artículo

Historia del artículo

Recibido: 10/08/2017

Aprobado: 12/09/2017

Autor corresponsal

Eliberto Ruiz Ramírez
Calle José Gálvez 296, Urb. Conde-
villa, San Martín de Porres - Lima
eruiramirez86@gmail.com

Contribución de autores

Todos los autores contribuyeron
de forma similar a la concepción,
ejecución y redacción del manuscrito

Financiamiento

Autofinanciado

Citar como

Adriaola Jokada MA, Arroyo Ace-
vedo JL, Chávez Rimache L, Cha-
cón Uscamaita P, Ruiz Ramírez E.
Efecto del ergocalciferol (vitamina
D₂) y el colecalciferol (vitamina
D₃) sobre el control de la glicemia
en ratas. Rev Peru Med Integrati-
va.2017;2(3):798-802.

Resumen

Objetivo. Determinar el efecto del Ergocalciferol (vitamina D₂) y el colecalciferol (vitamina D₃) sobre el control de la glicemia en ratas. **Materiales y métodos.** Estudio experimental. Se utilizó 48 ratas machos Wistar de 12 semanas de edad, con un peso de 200 ± 50 g, distribuidas de manera aleatoria en ocho grupos de seis: control negativo (suero fisiológico a 2 mL/dieta balanceada); control positivo (suero fisiológico a 2 mL/dieta modificada); EXP 1 (vitamina D₂ a 10000 UI/kg /dieta modificada); EXP 2 (vitamina D₂ a 35000 UI/kg /dieta modificada); EXP 3 (vitamina D₂ a 70000 UI/kg /dieta modificada); EXP 4 (vitamina D₃ a 10000 UI/kg /dieta modificada); EXP 5 (vitamina D₃ a 35000 UI/kg /dieta modificada), y EXP 6 (vitamina D₃ a 70000 UI/kg /dieta modificada); se administraron dos tipos de dietas (dieta balanceada y dieta modificada a base de colesterol y fructuosa) y vitaminas D₂ y D₃ de manera conjunta durante las 13 semanas de estudio. **Resultados.** El promedio de glicemia del grupo control negativo (CN) fue 80,17 mg/dL; en los grupos experimentales fueron: 91,17 mg/dL (EXP1); 90,17 mg/dL (EXP2); 87,67 mg/dL (EXP3); 91,67 mg/dL (EXP4); 88,33 mg/dL (EXP5); 81,83 mg/dL (EXP6), y en el grupo control positivo (CP) fue 134,84 mg/dL. **Conclusión.** Los grupos con dieta modificada y que recibieron ergocalciferol (vitamina D₂) o colecalciferol (vitamina D₃) mostraron niveles menores de glicemia en comparación con los que no recibieron suplementación, no habiendo diferencias significativas entre la utilización de algún tipo de vitamina D o las dosis de 35000 y 70000 UI.

Palabras clave: Ergocalciferoles; Hiperglicemia; Experimentación Animal (Fuente: DeCS).

Effect of ergocalciferol (vitamin D₂) and cholecalciferol (vitamin D₃) on glycemic control in rats

Abstract

Objective. Determine the effect of Ergocalciferol (Vitamin D₂) and Cholecalciferol (Vitamin D₃) on glycemic control in rats. **Materials and Methods.** Experimental study. 48 male Wistar rats aged 12 weeks of age were used, which weighted 200 ± 50 g, distributed randomly into eight groups of 6 members each one: negative control (saline solution at 2 mL/ balanced diet), positive control (saline solution at 2 mL/modified diet), EXP 1 (Vitamin D₂ at 10000 IU/kg / modified diet), EXP 2 (vitamin D₂ at 35000 IU/kg / modified diet), EXP 3 (Vitamin D₂ at 70000 IU/kg / modified diet), EXP 4 (Vitamin D₃ at 10000 IU/kg / modified diet), EXP 5 (Vitamin D₃ at 35000 IU/kg / modified diet), EXP 6 (Vitamin D₃ at 70000 IU/kg / modified diet); two types of diets (balanced diet and modified diet based on cholesterol and fructose) and vitamins D₂ and D₃ were administered together during the 13 weeks of study. **Results.** The average of glycemia in the negative control group (NC) was 80.17 mg/dL; in the experimental groups were: 91.17 mg/dL (EXP1), 90.17 mg/dL (EXP2), 87.67 mg/dL (EXP3), 91.67 mg/dL (EXP4), 88.33 mg/dL (EXP5), 81.83 mg/dL (EXP6), and the positive control group (CP) was 134.84 mg/dL. **Conclusions.** Ergocalciferol (Vitamin D₂) and Cholecalciferol (Vitamin D₃) had shown lesser glycemic levels in rats with induced hyperglycemia than who were not received any supplementation. There are any significant differences between the use of some Vitamin D type or doses of 35000 and 70000 IU for both vitamins.

Key words: Ergocalciferols; Hyperglycemia; Animal Experimentation (Source: MeSH).

¹ Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM,

² Facultad de Medicina Humana UNMSM,

³ Facultad de Odontología UNMSM.

Introducción

La diabetes es el trastorno endocrinológico más prevalente en el mundo, es la quinta causa de muerte, especialmente la diabetes *mellitus* tipo II, la cual está asociada con un aumento de la morbilidad y mortalidad ⁽¹⁾. Los problemas principales de la diabetes *mellitus* tipo II son las complicaciones microvasculares y macrovasculares que, clínicamente, se presentan como: ceguera, enfermedad renal y principalmente enfermedad cardíaca. Aunque los métodos actuales para el tratamiento y sus posibles complicaciones han mejorado, la prevención de la enfermedad es preferible ^(2,3). Los datos epidemiológicos nos sugieren que 9 de cada 10 casos de diabetes *mellitus* tipo 2 se atribuyen a hábitos y conductas modificables ⁽⁴⁾.

Por otro lado, la deficiencia de vitamina D es un problema que aumenta silenciosamente en poblaciones sanas y con algunas patologías que generen una insuficiencia generalizada de esta vitamina. En todo el mundo hay aproximadamente 1000 millones de personas que están afectadas por diversos grados de deficiencia de esta vitamina ⁽⁵⁾.

Debido a que la función principal de la vitamina D es mantener la homeostasis del calcio, fósforo y promover la mineralización ósea, recientes estudios sugieren que estos procesos también pueden ser importantes para una variedad de resultados no esqueléticos, incluyendo la función neuromuscular, la regulación de la presión arterial ⁽⁶⁾, la psoriasis, la esclerosis múltiple ⁽⁷⁾ y el cáncer colorrectal y de próstata ⁽⁸⁾.

Sobre esta base, se ha sugerido que la insuficiencia de vitamina D y la homeostasis del calcio podrían desempeñar un papel en el desarrollo de insulinoresistencia, parte importante de la fisiopatología de la diabetes tipo 2 ^(9,10). Estudios previos en modelos animales han sugerido que la vitamina D podría promover directamente la estimulación de la expresión del receptor de insulina en las células β y mediar indirectamente en la regulación del calcio extracelular y el mantenimiento de la afluencia normal de calcio a estas células (11–13); sin embargo, los resultados sobre su eficacia como una alternativa terapéutica en estados hiperglicémicos aún son contradictorios y poco estudiados. Por ende, el objetivo del presente estudio es determinar el efecto de la vitamina D₂ y vitamina D₃ en el control de la glicemia en un modelo murino de inducción de hiperglicemia experimental.

Materiales y métodos

Animales de experimentación

Se utilizaron 48 ratas macho Wistar de 12 semanas de edad, con un peso de 200 ± 50 g adquiridas en el Instituto Nacional de Salud. Los animales de experimentación estuvieron a un ambiente con una temperatura entre 19 a 22 °C, con una humedad de 60 a 70% y con periodos de luz/oscuridad de 12 h, con alimento y agua *ad libitum*. Los animales fueron cuidados cumpliendo con lo mencionado en la Declaración de la ANM sobre el Uso de Animales en Investigación Biomédica ⁽¹⁴⁾, haciendo todos los esfuerzos para minimizar el dolor y el sufrimiento.

Modelo de experimentación

Los animales fueron distribuidos aleatoriamente en ocho grupos de seis ratas cada uno, basándonos en estudios previos ⁽¹¹⁾: un grupo control negativo (CN) al que se le administró 2 mL de suero fisiológico y una dieta balanceada; un grupo control positivo (CP) al que se le suministró 2 mL de suero fisiológico y una dieta modificada (colesterol 200 mg/kg y 1 mL de solución de fructuosa al 10%), y seis grupos experimentales: EXP1: dieta modificada y vitamina D₂ (10000 UI/kg); EXP2: dieta modificada y vitamina D₂ (35000 UI/kg); EXP3: dieta modificada y vitamina D₂ (70000 UI/kg); EXP4: dieta modificada y vitamina D₃ (10000 UI/kg); EXP5: dieta modificada y vitamina D₃ (35000 UI/kg); EXP6: dieta modificada y vitamina D₃ (70000 UI/kg).

La duración del estudio fue de 13 semanas, la administración de las vitaminas D₂ (raquiferol D2, Medipharma [®]) y D₃ (raquiferol D3, Medipharma [®]), a los grupos experimentales, se realizó por vía oral mediante una cánula orogástrica, una vez por semana, conjuntamente con la administración de la dieta modificada, suministrada una vez al día.

Análisis bioquímico

Terminado el tiempo de estudio, se sacrificó a los animales de experimentación mediante la administración de éter dietílico, seguida de la extracción de 5 mL de sangre venosa, por punción intracardiaca, la cual fue analizada mediante un glucómetro digital (ACCU-CHEK, Roche Diagnostics [®]) con la finalidad de registrar los niveles de glicemia en todos los grupos de estudio.

Análisis estadístico

La evaluación del nivel de glucemia fue expresada como promedios $\pm$ desviaciones estándar. Los promedios del perfil glicémico, por grupos de estudio fueron comparados mediante el uso del análisis de varianza de una sola vía (ANOVA) con el test *post-hoc* de Tukey, con ayuda del programa estadístico SPSS para Windows v. 23.0[®]. Las estimaciones realizadas mediante el análisis estadístico fueron presentadas con intervalos de confianza de un 95%. Se consideró un valor de $p < 0,05$ para establecer la significancia estadística.

Resultados

Se observa que el promedio del CN es 80,17 mg/dL mientras que el grupo CP obtiene 134,84 mg/dL al final del periodo de estudio. Asimismo, en los grupos intervenidos con vitamina D₂ el grupo EXP3 (87,67 mg/dL) fue el que obtuvo la menor glicemia; similarmente al caso de los grupos intervenidos con vitamina D₃ donde EXP6 (81,83 mg/dL) es quien obtiene la menor glicemia (Tabla 1).

Al realizar el test de Kruskal-Wallis, se encontraron diferencias significativas entre los niveles de glicemia de todos los grupos ($p < 0,001$), observándose valores dispersos en el grupo CP (Figura 1).

Al evaluar las diferencias por grupos utilizando la prueba *post-hoc* (Tukey) se observó diferencias significativas al comparar todos los grupos de estudio con el control positivo ($p < 0,001$) así como al comparar el control negativo con los grupos EXP1 ($p = 0,046$) y EXP4 ($p = 0,032$) (Tabla 2).

Tabla 1. Nivel promedio de glucemia en los grupos de estudio después de la intervención por 13 semanas

Grupos		Concentración de glucosa (mg/dL)
CN	Control Negativo (CN) -Suero	80,17 $\pm$ 3,66
CP	Control Positivo (CP) CF	134,84 $\pm$ 15,11
EXP1	CF + vit. D ₂ (10 000 UI/ kg)	91,17 $\pm$ 2,23
EXP2	CF + vit. D ₂ (35 000 UI/kg)	90,17 $\pm$ 1,47
EXP3	CF + vit. D ₂ (70 000 UI/kg)	87,67 $\pm$ 3,62
EXP4	CF + vit. D ₃ (10 000 UI/kg)	91,67 $\pm$ 2,16
EXP5	CF + vit. D ₃ (35 000 UI/kg)	88,33 $\pm$ 2,88
EXP6	CF + vit. D ₃ (70 000 UI/kg)	81,83 $\pm$ 1,84

* CF: Dieta modificada consistente en colesterol 200 mg/kg + fructosa 10% suministrada en forma diaria durante 13 semanas. Valores expresados en promedio $\pm$ desviación estándar.

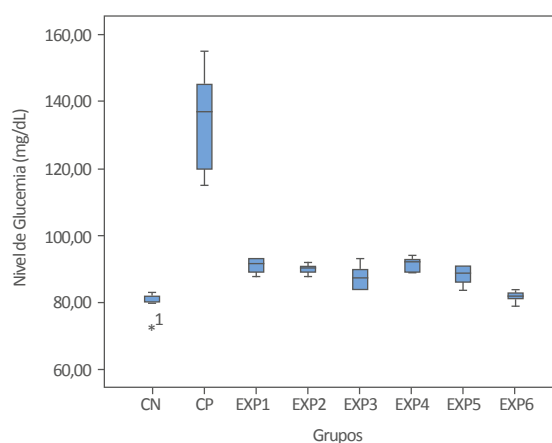


Figura 1. Niveles de glicemia observados en los grupos de estudio.

Discusión

La administración de vitamina D₂ y D₃ mostró niveles de glicemia significativamente menores en todos los grupos de experimentación en comparación al control positivo, concordando con los estudios realizados por George *et al.*⁽¹⁵⁾, quienes demostraron que el tratamiento con vitamina D₃ restauró significativamente la homeostasis de la glucosa en la sangre en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina (STZ). Asimismo, Elseweidy *et al.*⁽¹²⁾, en un estudio con un modelo de inducción de diabetes similar al nuestro, obtuvieron diferencias significativas en comparación a su grupo control positivo usando dosis de 170 UI/semana de vitamina D₃.

En este caso, estudios previos han postulado que la vitamina D₃ podría actuar incrementando los niveles de insulina y IGF-1⁽¹¹⁾ regulando el proceso de degradación de la insulina y de la fosforilación del receptor de esta⁽¹²⁾. En el caso de los efectos de la vitamina D₂, que representa la forma más comúnmente ingerida, pocos han sido los estudios que evalúen sus efectos en modelos experimentales, basados en ensayos clínicos^(16,17) que han sugerido que su potencia y duración de acción serían menores que las obtenidas con el uso de vitamina D₃. A pesar de ello, el presente estudio demuestra que los efectos en los niveles de glicemia son similares, no habiendo diferencias significativas entre ninguna dosis de los grupos de estudio que usaron vitamina D₂ y vitamina D₃. Futuros estudios deberán ayudar a esclarecer si realmente existe alguna diferencia entre la acción de un tipo u otro de Vitamina D con el objetivo de decidir la mejor vía y la más tolerable para el uso en seres humanos.

Tabla 2. Evaluación del efecto de la administración de vitamina D en los valores de glicemia por grupos de estudio

	Vit D2 (10000UI/ kg)	Vit D2 (35000 UI/kg)	Vit D2 (70000 UI/kg)	Vit D3 (10000 UI/kg)	Vit D3 (35000 UI/kg)	Vit D3 (70000 UI/kg)
Control negativo	0,046	0,091	0,371	0,032	0,269	1,000
Control positivo	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Vit D2 (10 000UI/ kg)		1,000	0,967	1,000	0,990	0,140
Vit D2 (35 000 UI/kg)			0,995	1,000	0,999	0,247
Vit D2 (70 000 UI/kg)				0,934	1,000	0,679
Vit D3 (10 000 UI/kg)					0,975	0,102
Vit D3 (35 000 UI/kg)						0,553

* Análisis post hoc - Prueba Tukey

A pesar de estos vacíos, se ha propiciado la investigación clínica en seres humanos utilizando suplementos de vitamina D3 en distintas concentraciones, obteniéndose resultados contradictorios. Por ejemplo, Von *et al.*⁽¹⁸⁾ encontraron que la sensibilidad a la insulina mejoró significativamente con una suplementación diaria de 4000 UI de vitamina D₃ en mujeres con resistencia a la insulina, mientras que Parekh *et al.*⁽¹⁹⁾ observaron que con una sola suplementación de 300 000 UI de vitamina D₃ se encontraban resultados significativos favorables. Por otro lado, Davidson *et al.*⁽²⁰⁾ encontraron que la suplementación con vitamina D en individuos prediabéticos no disminuía la aparición de diabetes *mellitus*; asimismo, estudios previos realizados en Noruega⁽²¹⁾, Irán⁽¹⁰⁾ y el Reino Unido⁽²²⁾, no encontraron efectos en los valores de glicemia en individuos con diabetes tipo 2 que recibían suplementación con Vitamina D.

Este estudio resulta ser calificado como preliminar debido a las numerosas limitaciones que presentó por motivos administrativos; en primer lugar, no se pudo contar con

valores de glicemia producto de la medición con otros métodos, como el uso de la inmunoabsorbancia (ELISA), además de no tener una medición basal y sostenida de los valores de glicemia durante el tiempo de estudio. A pesar de ello, los resultados pueden abrir las posibilidades de establecer mejores diseños experimentales para poder realizar una correcta medición de la verdadera diferencia entre suministrar suplementos de vitamina D3 o vitamina D2 en los indicadores no solo de diabetes tipo 2 sino de, en general, cualquier enfermedad cardiovascular asociada a la aparición de insulinoresistencia.

Por ello, se concluye que la administración de ergocalciferol (vitamina D₂) y colecalciferol (vitamina D₃) demostraron un efecto protector en ratas sometidas a un modelo de hiperglicemia inducida por dieta rica en colesterol y fructuosa, estadísticamente significativo con respecto al grupo que no recibió dichas vitaminas y no encontrándose diferencias entre la utilización de algún tipo de vitamina D o las dosis de 35 000 y 70 000 UI para ambas vitaminas.

Referencias bibliográficas

- Holt RIG. The growth of epidemiology in diabetes research. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* julio de 2017;34(7):875–6.
- Huang ES, Zhang Q, Gandra N, Chin MH, Meltzer DO. The effect of comorbid illness and functional status on the expected benefits of intensive glucose control in older patients with type 2 diabetes: a decision analysis. *Ann Intern Med.* 1 de julio de 2008;149(1):11–9.
- American Diabetes Association. 6. Glycemic Targets. *Diabetes Care.* enero de 2017;40(Suppl 1):S48–56.
- Gillett M, Royle P, Snaith A, Scotland G, Poobalan A, Imamura M, *et al.* Non-pharmacological interventions to reduce the risk of diabetes in people with impaired glucose regulation: a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess Winch Engl.* agosto de 2012;16(33):1–236, iii–iv.
- Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, *et al.* Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* julio de 2011;96(7):1911–30.
- Vimalaswaran KS, Cavadino A, Berry DJ, LifeLines Cohort Study investigators, Jorde R, Dieffenbach AK, *et al.* Association of vitamin D status with arterial blood pressure and hypertension risk: a mendelian randomisation study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* septiembre de 2014;2(9):719–29.
- Sintov AC, Yarmolinsky L, Dahan A, Ben-Shabat S. Pharmacological effects of vitamin D and its analogs:

- recent developments. *Drug Discov Today*. noviembre de 2014;19(11):1769–74.
8. Manousaki D, Richards JB. Low vitamin D levels as a risk factor for cancer. *BMJ*. 31 de octubre de 2017;359:j4952.
9. Choi HS, Kim K-A, Lim C-Y, Rhee SY, Hwang Y-C, Kim KM, et al. Low serum vitamin D is associated with high risk of diabetes in Korean adults. *J Nutr*. agosto de 2011;141(8):1524–8.
10. Talaei A, Mohamadi M, Adgi Z. The effect of vitamin D on insulin resistance in patients with type 2 diabetes. *Diabetol Metab Syndr*. 26 de febrero de 2013;5(1):8.
11. Derakhshanian H, Javanbakht MH, Zarei M, Djalali E, Djalali M. Vitamin D increases IGF-I and insulin levels in experimental diabetic rats. *Growth Horm IGF Res Off J Growth Horm Res Soc Int IGF Res Soc*. octubre de 2017;36:57–9.
12. Elseweidy MM, Amin RS, Atteia HH, Ali MA. Vitamin D3 intake as regulator of insulin degrading enzyme and insulin receptor phosphorylation in diabetic rats. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother*. enero de 2017;85:155–9.
13. Park S, Kim DS, Kang S. Vitamin D deficiency impairs glucose-stimulated insulin secretion and increases insulin resistance by reducing PPAR- γ expression in nonobese Type 2 diabetic rats. *J Nutr Biochem*. 2016;27:257–65.
14. The World Medical Association. Declaración de la AMM sobre el Uso de Animales en la Investigación Biomédica [Internet]. 2016 [citado 2 de marzo de 2017]. Disponible en: <https://www.wma.net/es/polices-post/declaracion-de-la-amm-sobre-el-uso-de-animales-en-la-investigacion-biomedica/>
15. George N, Kumar TP, Antony S, Jayanarayanan S, Paulose CS. Effect of vitamin D3 in reducing metabolic and oxidative stress in the liver of streptozotocin-induced diabetic rats. *Br J Nutr*. 28 de octubre de 2012;108(8):1410–8.
16. Armas LAG, Hollis BW, Heaney RP. Vitamin D2 is much less effective than vitamin D3 in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. noviembre de 2004;89(11):5387–91.
17. Heaney RP, Recker RR, Grote J, Horst RL, Armas LAG. Vitamin D(3) is more potent than vitamin D(2) in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. marzo de 2011;96(3):E447–452.
18. von Hurst PR, Stonehouse W, Coad J. Vitamin D supplementation reduces insulin resistance in South Asian women living in New Zealand who are insulin resistant and vitamin D deficient - a randomised, placebo-controlled trial. *Br J Nutr*. febrero de 2010;103(4):549–55.
19. Parekh D, Sarathi V, Shivane VK, Bandgar TR, Menon PS, Shah NS. Pilot study to evaluate the effect of short-term improvement in vitamin D status on glucose tolerance in patients with type 2 diabetes mellitus. *Endocr Pract Off J Am Coll Endocrinol Am Assoc Clin Endocrinol*. agosto de 2010;16(4):600–8.
20. Davidson MB, Duran P, Lee ML, Friedman TC. High-dose vitamin D supplementation in people with prediabetes and hypovitaminosis D. *Diabetes Care*. febrero de 2013;36(2):260–6.
21. Jorde R, Figenschau Y. Supplementation with cholecalciferol does not improve glycaemic control in diabetic subjects with normal serum 25-hydroxyvitamin D levels. *Eur J Nutr*. septiembre de 2009;48(6):349–54.
22. Witham MD, Dove FJ, Dryburgh M, Sugden JA, Morris AD, Struthers AD. The effect of different doses of vitamin D(3) on markers of vascular health in patients with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. *Diabetologia*. octubre de 2010;53(10):2112–9.