

**HIPOVITAMINOSIS D EN UNA POBLACIÓN DE MUJERES ADULTAS
DE LA CIUDAD DE CÓRDOBA**

Konicoff, Iván; Páez, María S.; Trucco, María E.; Benzi, Mariana; Torre, Diana M.

Fundación para el Progreso de la Medicina, Córdoba, Argentina

Correspondencia: Iván Konicoff. Laboratorio de análisis clínicos. Mariano Moreno 457 – Cruz del Eje – Córdoba. Tel: 03549-15502912 – vain_066@hotmail.com

Resumen

Introducción: La Vitamina D (VD) es una hormona esteroidea. El marcador más representativo del estado de VD en el organismo es la 25-hidroxivitamina D (25OHD), que se correlaciona positivamente con los depósitos corporales. Existen enfermedades relacionadas con la deficiencia de VD por lo cual la hipovitaminosis D (Hipo D) representa un problema de salud pública en todos los grupos etarios. **Objetivos:** determinar en una población de mujeres adultas de la ciudad de Córdoba la prevalencia de Hipo D en los períodos de invierno (INV) y verano (VER) y las variaciones estacionales de los niveles séricos de 25OHD durante los períodos de INV y VER. **Sujetos y Métodos:** se realizó un estudio retrospectivo en 91 mujeres de la ciudad de Córdoba de 52 a 90 años de edad (n=50 en INV y n=41 en VER). Se midió calcio total sérico, paratohormona (PTH) intacta en plasma y 25OHD total sérica (VD2 + VD3). Criterios de inclusión: niveles de PTH y calcio total normales. Análisis estadístico: test t y Anova (variables continuas paramétricas) y Mann-Whitney U (variables continuas no paramétricas). Usamos los programas InfoStat e IBM SPSS Statistics. Datos expresados como $\bar{x} \pm DE$. Significancia estadística $p < 0,05$. **Resultados:** prevalencia Hipo D INV 96,00% vs VER 90,24% ($p=0,4032$); niveles 25OHD: INV $17,46 \pm 5,74$ ng/ml vs VER $21,62 \pm 6,67$ ng/ml ($p < 0,002$). **Conclusiones:** en la población estudiada encontramos una marcada prevalencia de Hipo D, tanto en INV como VER. La corrección de la Hipo D y el análisis de otros factores de riesgo como insuficiencia suprarrenal, cirrosis, síndromes de mala absorción y un mal estado nutricional, que puedan modificar la salud ósea, podría generar un impacto positivo en la salud de la población analizada.

Palabras clave: Vitamina D, niveles óptimos de Vitamina D, hipovitaminosis D, deficiencia de Vitamina D.

Introducción

La Vitamina D (VD), fue identificada y purificada por Adolf Windaus y col., quienes la clasificaron como vitamina en lugar de hormona esteroidea y recién en la década de 1960 se consideró a la VD como precursora de una hormona esteroidea producida en el riñón (1). Se encuentra en circulación bajo las formas de VD3 o colecalciferol y VD2 o ergocalciferol. La VD3 es producida principalmente en la piel a partir del 7-dehidrocolesterol y la VD2 a partir del ergosterol presente en hongos y levaduras. La síntesis de ambas se produce a través de dos pasos metabólicos intermedios: a) ruptura del anillo B por acción de la radiación ultravioleta β (UV β), formándose la pre vitamina D y b) isomerización térmica para formar la VD (2-4).

Las VD3 y VD2 ingeridas con los alimentos (pescados y sus aceites, huevo, levaduras y alimentos fortificados) son incorporadas a los quilomicrones (5), que son absorbidos por el sistema linfático para entrar a circulación venosa. Tanto la VD que proviene de la dieta, como la sintetizada en la piel son biológicamente inactivas, siendo convertidas a 25-hidroxivitamina D (25OHD) en tejido hepático por acción de la 25-hidroxilasa (CYP27A1), enzima del citocromo P450 y transformada a 1, 25-dihidroxivitamina D (1,25 (OH)₂ D), la forma activa, mediante la 1 α -hidroxilasa renal (CYP27B1) (2,3,6).

Los avances en el conocimiento de la importancia biológica y clínica de la 1,25 (OH)₂ D estuvieron asociados con la identificación del receptor de vitamina D (VDR) en 1969 (4).

El marcador más representativo del estado de VD en el organismo es el principal metabolito circulante, 25OHD, que se correlaciona positivamente con los depósitos corporales. Sus niveles son mayores en verano (VER) que en invierno (INV) debido a la mayor exposición a la radiación UV, pero aún en VER se encuentran personas con valores deficitarios (4,7-9).

Niveles óptimos de VD son esenciales para mantener la homeostasis del calcio; su forma activa la 1,25 (OH)₂ D estimula la absorción intestinal de calcio y fósforo en un 30-40% y 80%, respectivamente. En el riñón la 1,25 (OH)₂ D estimula la reabsorción de calcio del filtrado glomerular (3). La VD es también necesaria para preservar la salud ósea y prevenir caídas y fracturas; éstas son conocidas como acciones clásicas. Su deficiencia se asocia a raquitismo, osteomalacia e hiperparatiroidismo secundario (3,7,10). El descubrimiento del receptor de VD en diversos tejidos corporales dio lugar al estudio de otras acciones de la VD conocidas como no clásicas. Entre las enfermedades relacionadas con la deficiencia de VD se pueden mencionar enfermedades cardiovasculares, hipertensión, síndrome metabólico, diabetes mellitus tipo 1 y 2, enfermedades autoinmunes, cáncer y esclerosis múltiple (10-25).

La hipovitaminosis D (Hipo D), definida por los bajos niveles circulantes de 25OHD, está ampliamente distribuida en los seis continentes y representa un problema de salud pública en

todos los grupos etarios (8). Varias revisiones ponen de manifiesto una alta prevalencia de déficit de VD en todo el mundo (25-28), incluso en países con baja latitud, donde en general se considera que la radiación UV β es la adecuada, y en países industrializados, donde la suplementación con VD se ha implementado hace algunos años. Las estaciones del año parecen ser un pequeño componente del problema mundial, ya que los países con inviernos largos tienen menor tasa de deficiencia de VD en relación a países soleados, lo que probablemente esté relacionado con la mayor fortificación de alimentos básicos, el consumo de pescado graso y el uso regular de suplementos de VD (25).

En la actualidad no existe consenso en cuanto a los “niveles óptimos” o “deseables” de 25OHD. La *Endocrine Society* publicó en 2011 la Guía de Práctica Clínica sobre Evaluación, Tratamiento y Prevención del Déficit de Vitamina D, proponiendo como “niveles óptimos” una concentración en sangre de VD ≥ 30 ng/ml (3). El *Institute of Medicine* (IOM) en el mismo año publicó recomendaciones sobre ingesta dietaria de calcio y VD, considerando que con niveles de VD ≥ 20 ng/ml se cubrían las necesidades del 97,5% de la población (29). Algunos autores utilizan el criterio de Mc Kenna y Freaney que establece como deseable un valor de 25(OH)D >40 ng/ml (30).

El nivel “deseable” de 25OHD se ha establecido en base a los efectos biológicos sobre el metabolismo mineral y óseo (valor por debajo del cual la parathormona [PTH] se eleva para compensar el déficit, con consecuencias negativas sobre la densidad mineral ósea [DMO] y el riesgo de fractura). No hay ningún ensayo clínico que demuestre que con un nivel medio de 25OHD de 20 ng/ml se produzca reducción del riesgo de fracturas, mientras que sí ha quedado demostrado con niveles de 30 ng/ml (31-33). La revisión de las publicaciones disponibles refiere que esta conclusión se basa en las siguientes líneas de evidencia: 1) niveles elevados de PTH se reducen alcanzando una meseta cuando la concentración sérica de 25OHD es ≥ 30 ng/ml (3); 2) la reducción en el riesgo de caídas en personas de mayor edad se observa con niveles séricos de 25OHD ≥ 30 ng/ml (3); 3) la absorción intestinal de calcio es máxima con valores de 25OHD en sangre ≥ 30 ng/ml. Heaney y col. (34) hallaron que la absorción de calcio fue 65% mayor en los individuos con un nivel sérico de 25OHD de 35 ng/ml que en aquellos que tenían 20 ng/ml; 4) la tasa de pérdida ósea es superior en sujetos con niveles de 25OHD <30 ng/ml (35); 5) existe asociación de una mayor DMO con niveles de 25OHD entre 30 y 40 ng/ml (36,37).

El IOM así como la *Endocrine Society* consideran niveles tóxicos de VD aquellos superiores a 100 ng /ml y 150 ng/ml respectivamente (3, 29), aunque reconocen que la toxicidad de la VD es un evento raro (31).

Objetivos

Determinar en una población de mujeres adultas de la ciudad de Córdoba:

- Prevalencia de Hipo D en los períodos de INV y VER.
- Variaciones estacionales de niveles séricos de 25OHD durante los períodos de INV y VER.

Materiales y Métodos

Sujetos: se realizó un estudio retrospectivo en 91 mujeres posmenopáusicas, saludables y ambulatorias de la ciudad de Córdoba (31° latitud sur) de 52 a 90 años de edad, con niveles de PTH y calcio normales. Cincuenta de ellas (67,48±7,50 años), se estudiaron en INV y 41 (67,93±7,86 años) en VER.

La extracción de las muestras de sangre se efectuó en ayunas entre las 7:00 y las 10:00 hs, en dos periodos estacionales, VER (enero-marzo 2014) e INV (julio-septiembre 2014).

Análisis bioquímico: se midió calcio total sérico (Advia 1200, Siemens); PTH intacta en plasma y 25OHD total sérica (VD2 + VD3) (quimioluminiscencia, Advia Centaur XP, Siemens).

Criterios de inclusión: niveles normales de calcio (8,3 - 10,6 mg/dl) y de PTH intacta (13,8 - 85,0 pg/ml).

Análisis estadístico: se utilizó el test t y Anova para variables continuas paramétricas, Mann-Whitney U para variables continuas no paramétricas y el cálculo de diferencia de proporciones. Usamos el programa InfoStat (versión 2014, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina) e IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp. Los datos fueron expresados como $\bar{x} \pm DE$. Significancia estadística $p < 0,05$.

En nuestro trabajo consideramos como valores óptimos de 25OHD los propuestos por la *Endocrine Society* (≥ 30 ng/ml) (3), mientras que niveles de $VD < 30$ ng/ml se consideraron como Hipo D.

Resultados

Estudiamos 91 pacientes mujeres con niveles de calcio y PTH normales (Tabla 1).

Tabla 1: Niveles en sangre de Calcio y PTH

Calcio (mg/dl)	PTH (pg/ml)
9,56 ± 0,41	46,29 ± 12,13

Datos expresados como media ± desvío estándar ($\bar{x} \pm DE$)

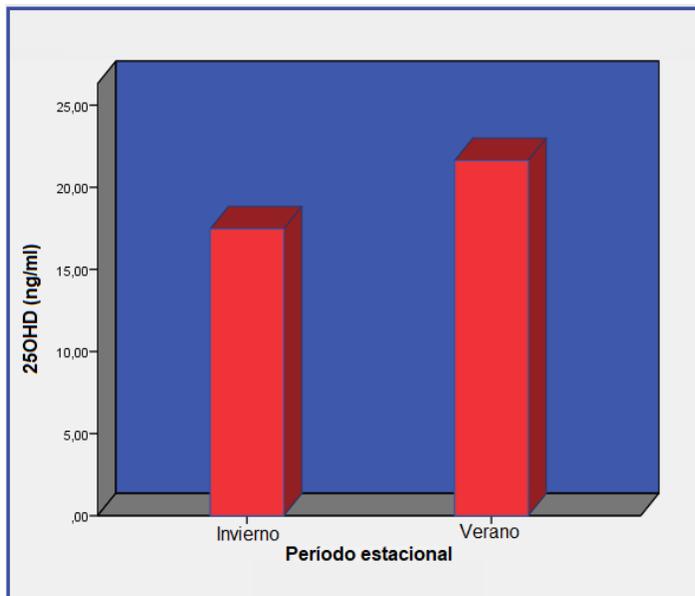
Los niveles de VD evaluados en INV y Ver mostraron una diferencia estadísticamente significativa. (Tabla 2, Figura I)

Tabla 2: Niveles séricos de 25OHD en INV y VER

	INV (n:50)	VER (n:41)	p
25OHD (ng/ml)	17,46 ± 5,74	21,62 ± 6,67	< 0,002

Datos expresados como media ± desvío estándar ($\bar{x} \pm DE$)

Figura I: Variaciones estacionales en los niveles de 25OHD



De acuerdo a los niveles óptimos sugeridos por la *Endocrine Society* encontramos marcada prevalencia de Hipo D en ambas estaciones. En la figura II se muestra la media de la prevalencia de Hipo D cuando se consideran las 2 estaciones en conjunto. Las figuras III y IV muestran la prevalencia de Hipo D en INV (96,00%) y VER (90,24%) respectivamente ($p=0,4032$).

Figura II: Hipovitaminosis D INV + VER

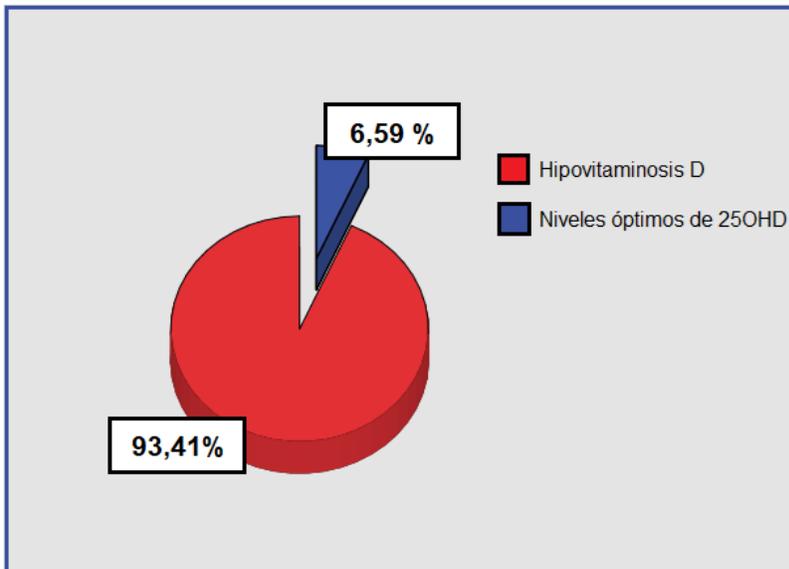


Figura III: Hipovitaminosis D INV

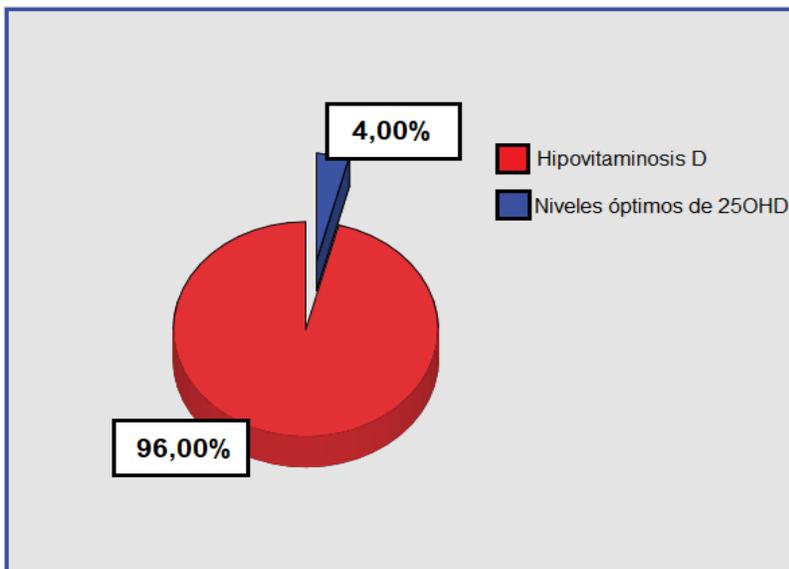
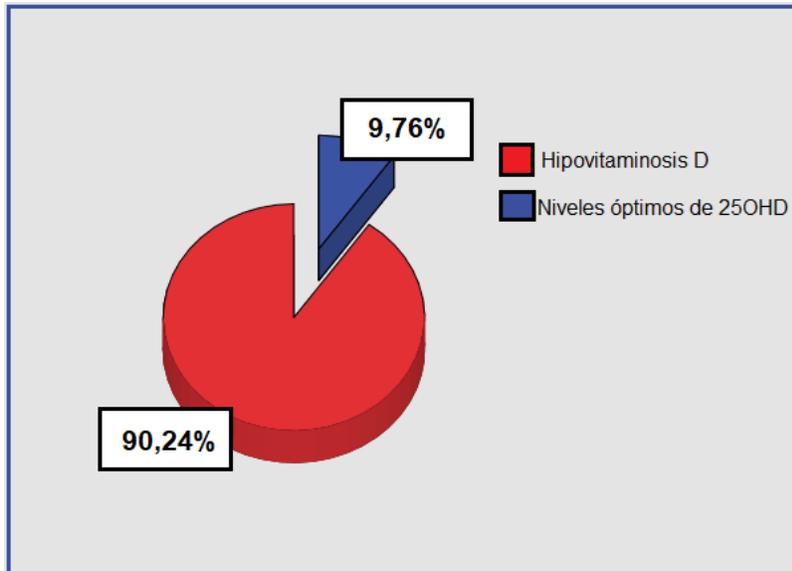


Figura IV: Hipovitaminosis D VER



Al analizar los niveles de VD, se observó que en INV, el 62% de las mujeres estudiadas presentó “deficiencia” de VD, el 8% “deficiencia severa” y sólo el 4% tuvo “niveles óptimos” de VD. En VER, en cambio, no hubo pacientes con “deficiencia severa”, el 36% presentó “deficiencia” y el 10% mostró “niveles óptimos” de VD (Tabla 3).

Tabla 3: Distribución de los niveles de 25OHD según periodo estacional

Invierno		25OHD (ng/ml)				Verano		25OHD (ng/ml)			
		<10	10-20	20-30	>30			<10	10-20	20-30	>30
Pacientes	n	4	31	13	2	Pacientes	n	0	15	22	4
	%	8	62	26	4		%	0	36	54	10

En cuanto a los niveles plasmáticos de PTH, en INV fueron $47,74 \pm 10,71$ pg/ml vs VER $44,51 \pm 13,58$ pg/ml. $p=0,2942$.

Discusión

Existe una fuerte relación entre la salud del hueso y niveles óptimos de VD. La Hipo D es una condición frecuente en ancianos, niños, mujeres embarazadas, durante la lactancia y en

mujeres pre y post menopáusicas. La Hipo D puede exacerbar la osteopenia y osteoporosis y favorecer fracturas y caídas a lo largo de la vida (5,38). Las fracturas de cadera, así como otras fracturas causadas por fragilidad ósea, representan desafortunadamente, uno de los problemas más importantes para la atención de salud en personas de edad avanzada, siendo la corrección del déficit de VD una forma efectiva para reducirlas de manera significativa (39). Además, la deficiencia de VD se ha encontrado asociada con desórdenes autoinmunes (diabetes tipo 1, artritis reumatoidea y esclerosis múltiple), cáncer y enfermedades metabólicas (diabetes tipo 2, síndrome metabólico, hipertensión y afecciones cardiovasculares) (5,10,16,19,40,41).

Debido a las diferencias encontradas en los resultados de 25OHD con las distintas metodologías utilizadas, en el año 2010 surge el Programa de Estandarización de la Vitamina D (VDSP) con el objetivo de lograr mediciones precisas y comparables en todo tiempo, ubicación y procedimiento de laboratorio (42). En nuestro estudio utilizamos el ensayo automatizado de quimioluminiscencia Advia 1200-Siemens que mide 25OHD total (\approx 100% D2 y D3) con reactividad cruzada mínima para el 3-epi-25OHD3 (1,1%). Este metabolito de VD se encuentra en pequeñas concentraciones en adultos, pero en neonatos y niños puede contribuir en forma importante a los niveles circulantes de la VD (43). El ensayo de VD de Advia 1200-Siemens se encuentra alineado con el procedimiento de medición de referencia (ID-LC/MS/MS), siendo al momento del diseño de este estudio, la única metodología certificada por el VDSP (44).

Los niveles séricos de 25OHD varían ampliamente entre diferentes poblaciones, siendo más bajos en Europa, Medio Oriente y la región Asia-Pacífico que en Estados Unidos. Un estudio multinacional (con excepción de América del Norte), mostró que 30-90% de mujeres posmenopáusicas tratadas por osteoporosis tenían niveles de 25OHD <30 ng/ml y 31% de ellas, por debajo de 20 ng/ml. Los valores variaban de acuerdo la ubicación y la estación del año. La deficiencia de VD fue más común en pacientes con fracturas de cadera y en mujeres más ancianas institucionalizadas (45). En Argentina, varias publicaciones han demostrado que la Hipo D también es prevalente, sobre todo en edades avanzadas y en los meses de invierno.

Nosotros realizamos un estudio retrospectivo analizando los niveles de VD en 91 mujeres saludables y ambulatorias de la ciudad de Córdoba. Utilizando el criterio de la *Endocrine Society* para definir Hipo D (25OHD <30 ng/ml), encontramos que la mayoría de nuestras pacientes tenían niveles de VD por debajo 30 ng/ml tanto en INV como en VER, dando una prevalencia similar de Hipo D en ambas estaciones (96% en INV vs 90% en VER). Sin embargo, al comparar los valores absolutos de 25OHD, la diferencia fue estadísticamente significativa ($17,46 \pm 5,74$ ng/ml en INV y $21,62 \pm 6,67$ ng/ml en VER; $p < 0,002$). También, cuando distribuimos las pacientes de acuerdo a sus niveles de VD, hallamos diferencias importantes

entre ambas estaciones: la proporción de pacientes con niveles de 25OHD entre 10 y 20 ng/ml (deficiencia de VD) fue superior en INV (62%) respecto del VER (36%), mientras que el porcentaje de mujeres con concentraciones entre 20 y 30 ng/ml (insuficiencia de VD), fue mayor en VER (54%) que en INV (26%); además, en VER no hubo pacientes con valores de 25OHD <10 ng/ml. Pocos fueron los sujetos con “niveles óptimos” de VD tanto en INV como en VER:

La definición de “niveles óptimos” de VD es diferente según el criterio empleado. La mayoría de los trabajos publicados en Argentina utilizan el criterio de Mc Kenna que establece como “deseable” un valor de VD >40 ng/ml, “Hipo D” <40 ng/ml e “insuficiencia” entre 10 y 19 ng/ml (30). Nosotros, en cambio, adoptamos la sugerencia de la *Endocrine Society* que define como “niveles óptimos” de VD a concentraciones de 25OHD \geq 30 ng/ml ya que es la más difundida a nivel internacional (3). Dada la diferencia de criterios para definir Hipo D, comparamos nuestros resultados con los de otros autores de nuestro país teniendo en cuenta la prevalencia de niveles mayores o menores a 20 ng/ml.

Encontramos semejanza entre nuestros resultados y los reportados por autores que también habían estudiado poblaciones de adultos mayores. En un trabajo retrospectivo, Fradinger E y col. (8), examinaron los casos de 250 mujeres posmenopáusicas ambulatorias de la ciudad de Buenos Aires que habían concurrido a su instituto durante los meses de INV (Julio a Setiembre) y encontraron que el 52% de las pacientes tenían niveles de VD <20 ng/ml.

Fassi J y col. (9), por su lado, evaluó una población de 49 sujetos mayores de 65 años ambulatorios y autoválidos de Buenos Aires (37 eran mujeres), en las estaciones de INV y VER. Estos autores hallaron una diferencia estadísticamente significativa de los niveles de VD entre ambas estaciones (INV $17,3 \pm 7,5$ ng/ml; VER $28,6 \pm 10$ ng/ml) con una prevalencia de 25OHD <20 ng/ml de 65,2% en INV que se redujo significativamente a 14,7% en VER.

En una publicación de Oliveri y col. (46), se estudiaron 339 pacientes ambulatorios (226 mujeres y 113 hombres) de 3 regiones diferentes del país (norte, centro y sur). El estudio se realizó entre los meses de Agosto y Octubre. En la región centro (ciudades de Mendoza y Buenos Aires), el valor promedio de VD fue $17,9 \pm 8,2$ ng/ml (65% <20 ng/ml y 35% >20 ng/).

Brito y col. (47), analizaron los niveles de VD de un grupo de 44 mujeres \geq 65 años, ambulatorias y clínicamente sanas de la ciudad de Buenos Aires, estudiadas entre los meses de Mayo y Junio. Los resultados mostraron niveles de VD inferiores a 20 ng/ml en el 88% de los sujetos.

Al comparar los resultados con los de otras publicaciones hay que considerar también las diferencias metodológicas. Actualmente los niveles séricos de VD son determinados por métodos más exactos y reproducibles pero todavía existe una amplia variabilidad entre ellos.

Los autores mencionados midieron 25OHD por diferentes radioinmunoensayos, algunos de los cuales miden solamente 25OHD3, mientras que otros determinan la suma de 25OHD2 y D3. En nuestro trabajo se midió 25OHD total (VD2+VD3) por quimioluminiscencia. Esta diferencia metodológica podría explicar algunas de las variaciones en las prevalencias reportadas.

La insuficiencia y la deficiencia de VD son más prevalentes en poblaciones con menor exposición solar debido a la latitud geográfica, cultural, religiosa y estilo de vida o a una síntesis menos eficiente de VD cutánea debido a la edad o la pigmentación. Nuestro estudio se realizó en mujeres adultas de la ciudad de Córdoba, que presentan un riesgo *per se* de Hipo D respecto a zonas rurales, debido a los escasos espacios verdes, la polución ambiental y el estilo de vida, siendo factores que dificultan la incidencia de la radiación UV β sobre la piel y la síntesis de VD. Además, al ser mujeres adultas mayores, tienen menor capacidad de síntesis de la hormona (porque disminuye la cantidad de 7-dehidrocolesterol, precursor de VD presente en la piel) y mayor contenido de tejido adiposo, el cual es responsable del secuestro de VD, provocando una disminución de su biodisponibilidad (45).

Oliveri y col. (46) hallaron una asociación inversa entre los niveles circulantes de 25OHD y PTH. En nuestro trabajo, si bien los niveles de PTH de las pacientes fueron ligeramente mayores en INV que en VER, la diferencia no fue estadísticamente significativa, de manera similar a lo observado por Fassi y col. (9). Esta falta de significación estadística puede deberse a la elección de la población estudiada, ya que todas las pacientes que incluimos tenían niveles normales de PTH. Tampoco observamos diferencia estadísticamente significativa al comparar los niveles de PTH teniendo en cuenta los niveles de 25OHD >20 ng/ml vs concentraciones <20 ng/ml.

Conclusión

En la población estudiada se observó una marcada prevalencia de Hipo D, tanto en INV como en VER. Aunque los niveles de VD fueron significativamente más elevados en VER la proporción de pacientes con deficiencia de VD fue importante. La corrección de la Hipo D y el análisis de otros factores de riesgo como insuficiencia suprarrenal, cirrosis, síndrome de mala absorción y un mal estado nutricional, que puedan modificar la salud ósea, podría generar un impacto positivo en la salud de la población analizada.

Se debería prestar especial atención a la Hipo D, en especial en mujeres añosas, sedentarias, obesas y poco expuestas al sol. Si bien nuestro estudio fue realizado en una población de mujeres en general sanas y ambulatorias, la alta prevalencia de este déficit requiere realizar un diagnóstico temprano que permita implementar la suplementación

apropiada de VD, y así disminuir la posibilidad de enfermedad ósea, la producción de fracturas esqueléticas u otros desórdenes relacionados con la deficiencia de VD.

1. Wolf G. The discovery of vitamin D: the contribution of Adolf Windaus. *J Nutr.* 2004;134(6):1299-302.
2. Bikle D. Nonclassic actions of vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(1):26-34.
3. 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.* 2011;96(7):1911-30.
4. Puche RC. [On the prevalence of hypovitaminosis D in Argentina]. *Medicina (B Aires).* 2015;75(3):183-6.
5. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007;357(3):266-81.
6. Hewison M, Burke F, Evans KN, Lammas DA, Sansom DM, Liu P, et al. Extra-renal 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase in human health and disease. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2007;103(3-5):316-21.
7. Holick M. Vitamin D: a millennium perspective. *J Cell Biochem.* 2003;88:296-307.
8. Fradinger E, Zanchetta J. Vitamin D and bone mineral density in ambulatory women living in Buenos Aires, Argentina. *Osteop Int* 2001;12(1):24-7.
9. Fassi J, Russo Picasso MF, Furci A, Sorroche P, Jáuregui R, Plantalech L. [Seasonal variations in 25-hydroxyvitamin D in young and elderly and populations in Buenos Aires City]. *Medicina (B Aires).* 2003;63(3):215-20.
10. Clifford J, Rosen M. Vitamin D Insufficiency. *N Engl J Med.* 2011;364(3):248-54.
11. Mitri J, Muraru MD, Pittas AG. Vitamin D and type 2 diabetes: a systematic review. *Eur J Clin Nutr.* 2011;65(9):1005-15.

12. 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.* 2010;103(4):549-55.
13. Fung GJ, Steffen LM, Zhou X, Harnack L, Tang W, Lutsey PL, et al. Vitamin D intake is inversely related to risk of developing metabolic syndrome in African American and white men and women over 20 y: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults study. *Am J Clin Nutr.* 2012;96(1):24-9.
14. Patra SK, Nasrat H, Goswami B, Jain A. Vitamin D as a predictor of insulin resistance in polycystic ovarian syndrome. *Diabetes Metab Syndr.* 2012;6(3):146-9.
15. Tzotzas T, Papadopoulou FG, Tziomalos K, Karras S, Gastaris K, Perros P, et al. Rising serum 25-hydroxy-vitamin D levels after weight loss in obese women correlate with improvement in insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(9):4251-7.
16. Gagnon C, Lu ZX, Magliano DJ, Dunstan DW, Shaw JE, Zimmet PZ, et al. Low serum 25-hydroxyvitamin D is associated with increased risk of the development of the metabolic syndrome at five years: results from a national, population-based prospective study (The Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle Study: AusDiab). *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(6):1953-61.
17. Kabadi SM, Lee BK, Liu L. Joint effects of obesity and vitamin D insufficiency on insulin resistance and type 2 diabetes: results from the NHANES 2001-2006. *Diabetes Care.* 2012;35(10):2048-54.
18. Palomer X, González-Clemente JM, Blanco-Vaca F, Mauricio D. Role of vitamin D in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab.* 2008;10(3):185-97.
19. Talaei A, Mohamadi M, Adgi Z. The effect of vitamin D on insulin resistance in patients with type 2 diabetes. *Diabetol Metab Syndr.* 2013;5(1):8.
20. Rostand SG. Vitamin D deficiency in the pathogenesis of hypertension: still an unsettled question. *Curr Hypertens Rep.* 2014;16(8):464.

21. Pereira F, Larriba MJ, Muñoz A. Vitamin D and colon cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2012;19(3):R51-71.
22. Mehta RG, Peng X, Alimirah F, Murillo G, Mehta R. Vitamin D and breast cancer: emerging concepts. *Cancer Lett*. 2013;334(1):95-100.
23. Fornari R, Francomano D, Greco EA, Marocco C, Lubrano C, Wannenes F, et al. Lean mass in obese adult subjects correlates with higher levels of vitamin D, insulin sensitivity and lower inflammation. *J Endocrinol Invest*. 2015;38(3):367-72.
24. Esteghamati A, Aryan Z, Nakhjavani M. Vitamin D deficiency is associated with insulin resistance in nondiabetics and reduced insulin production in type 2 diabetics. *Horm Metab Res*. 2015;47(4):273-9.
25. Palacios C, Gonzalez L. Is vitamin D deficiency a major global public health problem? *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014;144 Pt A:138-45.
26. Mithal A, Wahl DA, Bonjour JP, Burckhardt P, Dawson-Hughes B, Eisman JA, et al. Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. *Osteoporos Int*. 2009;20(11):1807-20.
27. van Schoor NM, Lips P. Worldwide vitamin D status. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2011;25(4):671-80.
28. Wahl DA, Cooper C, Ebeling PR, Eggersdorfer M, Hilger J, Hoffmann K, et al. A global representation of vitamin D status in healthy populations. *Arch Osteoporos*. 2012;7:155-72.
29. Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium - Institute of Medicine. Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. The National Academies Press. 2011.
30. Mc Kenna MJ & Freaney R. Secondary hyperparathyroidism in the elderly: means to defining hypovitaminosis D. *Osteoporosis Int*. 1998;8 (Suppl 2), 3–6.

31. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Guidelines for preventing and treating vitamin D deficiency and insufficiency revisited. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(4):1153-8.
32. Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB, Stuck AE, Staehelin HB, Orav EJ, et al. Prevention of nonvertebral fractures with oral vitamin D and dose dependency: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med.* 2009;169(6):551-61.
33. Heaney RP, Holick MF. Why the IOM recommendations for vitamin D are deficient. *J Bone Miner Res.* 2011;26(3):455-7.
34. Heaney RP, Dowell MS, Hale CA, Bendich A. Calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D. *J Am Coll Nutr.* 2003;22(2):142-6.
35. Sánchez A. VITAMINA D: ACTUALIZACIÓN. *Rev Méd Rosario.* 2010;76:70-87.
36. Bischoff-Ferrari HA, Kiel DP, Dawson-Hughes B, Orav JE, Li R, Spiegelman D, et al. Dietary calcium and serum 25-hydroxyvitamin D status in relation to BMD among U.S. adults. *J Bone Miner Res.* 2009;24(5):935-42.
37. Rosen CJ, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, Durazo-Arvizu RA, et al. IOM committee members respond to Endocrine Society vitamin D guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(4):1146-52.
38. Mitchell DM, Henao MP, Finkelstein JS, Burnett-Bowie SA. Prevalence and predictors of vitamin D deficiency in healthy adults. *Endocr Pract.* 2012;18(6):914-23.
39. Vanlint S. Vitamin D and obesity. *Nutrients.* 2013;5(3):949-56.
40. Badawi A, Sayegh S, Sadoun E, Al-Thani M, Arora P, Haddad PS. Relationship between insulin resistance and plasma vitamin D in adults. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2014;7:297-303.
41. Mezza T, Muscogiuri G, Sorice GP, Prioletta A, Salomone E, Pontecorvi A, et al. Vitamin D deficiency: a new risk factor for type 2 diabetes? *Ann Nutr Metab.* 2012;61(4):337-48.

42. Sempos CT, Vesper HW, Phinney KW, Thienpont LM, Coates PM, (VDSP) VDSP. Vitamin D status as an international issue: national surveys and the problem of standardization. *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 2012;243:32-40.
43. Chailurkit L, Aekplakorn W, Ongphiphadhanakul B. Serum C3 epimer of 25-hydroxyvitamin D and its determinants in adults: a national health examination survey in Thais. *Osteoporos Int.* 2015 Sep;26(9):2339-44.
44. Freeman J, Wilson K, Spears R, Shalhoub V, Sibley P. Performance evaluation of four 25-hydroxyvitamin D assays to measure 25-hydroxyvitamin D2. *Clin Biochem.* 2015;48(16-17):1097-104.
45. Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocr Rev.* 2001;22(4):477-501.
46. Oliveri B, Plantalech L, Bagur A, Wittich AC, Rovai G, Pusiol E, et al. High prevalence of vitamin D insufficiency in healthy elderly people living at home in Argentina. *Eur J Clin Nutr.* 2004;58(2):337-42.
47. Brito GM, Mastaglia SR, Goedelmann C, Seijo M, Somoza J y Oliveri B. Estudio exploratorio de la ingesta y prevalencia de deficiencia de vitamina D en mujeres \geq de 65 años que viven en su hogar familiar o en residencias para autoválidos de la ciudad de Buenos Aires, Argentina. *Nutr Hosp.* 2013;28(3):816-22.