

INVESTIGACIÓN ORIGINAL

Insuficiencia de vitamina D en pacientes adultos con baja masa ósea y osteoporosis en la Fundación Santa Fe de Bogotá 2008-2009

Vitamin D insufficiency in adults patients with low bone mass and osteoporosis in the Fundación Santa Fe de Bogotá 2008-2009

Deyanira González Devia¹, Claudia Zúñiga Libreros², William Kattah Calderón³

Resumen

La hipovitaminosis D se asocia con osteoporosis, enfermedades neuromusculares, autoinmunes y cáncer. La prevalencia oscila entre 11% y 70% en diferentes poblaciones estudiadas. Debido a que la osteoporosis es una enfermedad frecuente, determinamos la prevalencia de hipovitaminosis D asociada a desmineralización ósea en población atendida en la FSFB entre agosto de 2008 y julio de 2009; revisamos edad, género, T-Score, Z-score. Se consideró como rango normal de 25OHD entre 32 y 150 ng/dl. Hallamos 460 determinaciones de 25OHD, 105 sujetos con osteodensitometría DXA, 80% mujeres. Edad promedio 66 años (DE $\pm$ 12,5; rango 39 a 91); para mujeres fue 67,1 años (DE $\pm$ 12,2; rango 39 a 91), para hombres fue 61 años (DE $\pm$ 10,7; rango 42 a 82). Los niveles de 25OHD promedio fueron de 31 ng/ml (DE $\pm$ 17,6; rango 8,2 a 110); para mujeres 30,5 ng/ml (DE $\pm$ 16,1; rango 10,6 a 96 ng/ml), para hombres 33,5 ng/ml (DE $\pm$ 23,4; rango 8,2 a 110 ng/ml). El 69,5% de casos presentaron algún nivel de insuficiencia de vitamina D, 45,7% insuficiencia leve y 23,8% insuficiencia moderada; no hay casos con insuficiencia severa. No hubo diferencias significativas entre concentraciones de 25OHD entre hombres y mujeres; o edad. La osteoporosis se correlaciona con niveles de 25OHD inferiores a 28 ng/ml ($P=0,046$), pero no hay correlación entre niveles bajos de 25OHD y osteopenia. La hipovitaminosis D es muy prevalente en pacientes con osteoporosis y baja masa ósea y debe evaluarse en el contexto de osteoporosis.

Palabras clave: vitamina D, osteoporosis, baja masa ósea, osteopenia.

Abreviaturas: FSFB: Fundación Santa Fe de Bogotá; ODMO: Osteodensitometría; DMO: Densidad Mineral Ósea; 25OHD: 25-hidroxivitamina D.

Summary

Hypovitaminosis D is associated with osteoporosis, neuromuscular diseases, autoimmune diseases and cancer. The prevalence varies from 11-70% in different populations. Due osteoporosis is a common disease, we determined the prevalence of hypovitaminosis D associated with bone demineralization in FSFB population evaluated between August 2008 and July 2009, we reviewed age, gender, T-Score, Z-score. Values between 32-150 ng/ml were considered as normal. We found 460 25OHD results, 105 subjects with mineral density for DXA method, 80% female. Mean age for women was 66 years

1. MD. Internista Endocrinóloga, Médica institucional del Hospital Universitario Fundación Santa Fe de Bogotá. Coordinadora del grupo hueso saludable de la FSFB. Profesora de Cátedra, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes.
2. MD. Internista, Universidad del Rosario.

3. MD. Internista Endocrinólogo, Jefe de la sección de endocrinología, Departamento de Medicina Interna, Hospital Universitario Fundación Santa Fe de Bogotá, Profesor Clínico, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes.

Correspondencia: Deyanira Gonzales Devia: deyaniragonzalezdevia@yahoo.com

Recibido: 30 de agosto de 2010.
Aceptado: 14 de octubre de 2010.

(SD $\pm$ 12.5, range 39-91) for women was 67.1 years (SD $\pm$ 12.2, range 39-91) for men was 61 years (SD $\pm$ 10.7, range 42-82). Mean 25OHD levels were 31 ng / ml (SD $\pm$ 17.6, range 8.2 to 110), for women 30.5 ng / mL (SD $\pm$ 16.1, range 10.6 to 96 ng / mL), for men 33.5 ng / mL (SD $\pm$ 23.4, range 8.2 to 110 ng / mL). 69,5% of cases were considered as vitamin D insufficiency, 45,7% mild, 23,8% moderate, and no cases of severe déficit. No significant difference between 25OHD concentrations and gender, or age were considered. Osteoporosis was correlated with 25OHD levels below 28 ng/ml (P=0,046) but not between low 25OHD and subjects with osteopenia. The vitamin D deficiency is highly prevalent in patients with osteoporosis and low bone mass and should be evaluated in the context of osteoporosis.

Key words: vitamina D, osteoporosis, osteopenia, low bone density.

Objetivo

Determinar la prevalencia de deficiencia de vitamina D asociada a desmineralización ósea en población atendida en la Fundación Santa Fe.

Introducción

La insuficiencia de vitamina D es una de las carencias nutricionales más importantes y relacionadas con riesgo de sufrir osteoporosis que conlleva a una predisposición a fractura y alteración de la función neuromuscular con marcada morbilidad y mortalidad. Existen numerosos estudios realizados en países desarrollados que han estimado la prevalencia de insuficiencia de vitamina D en poblaciones sanas y de riesgo como residentes en hogares geriátricos, pacientes con enfermedad renal crónica, enfermedad hepática, enfermedades neurológicas y en mayores de 65 años; los valores son variables pero pueden oscilar entre un 11% y 70%¹⁻³. Estudios multicéntricos en población latinoamericana evaluando medicaciones para osteoporosis han encontrado prevalencias de hipovitaminosis D entre el 30% y el 40%. Los límites de referencia de normalidad para la vitamina D en la población humana tienen múltiples variables y no están estandarizados para las diferentes poblaciones; sin embargo, se ha determinado que el rango mínimo suficiente de 25OH vitamina D debe ser superior a 32 ng/ml (80nmol/L)⁴. En Colombia no tenemos estudios en la población adulta con los métodos de medición y puntos de normalidad actuales, que nos informen sobre la prevalencia de deficiencia de vitamina D y su correlación con osteoporosis y osteopenia. El objetivo de este estudio es determinar la magnitud de hipovitaminosis D como causa asociada a los defectos en la mineralización ósea (baja masa

ósea y osteoporosis) determinados por densitometría DXA en la población adulta atendida en la Fundación Santa Fe de Bogotá con el fin de optimizar el tratamiento de estos pacientes.

Pacientes y métodos

Se realizó un estudio retrospectivo en población adulta con diagnóstico de osteoporosis u osteopenia, diagnosticado por densitometría DXA, y niveles de vitamina D realizados en la Fundación Santa Fe de Bogotá en el periodo comprendido entre agosto de 2008 y julio de 2009. La hipótesis planteada es que la deficiencia de vitamina D en la población atendida con deterioro de masa ósea es similar a la de los países de latitudes altas (30% a 60%) .

Instrumentos y técnicas de recolección de datos

Se revisaron todos los reportes de laboratorio de 25OH vitamina D practicados en la Fundación Santa Fe de Bogotá (esta prueba se está realizando en esta institución desde agosto de 2008). Se buscaron las historias clínicas de los pacientes con reporte de 25OH vitamina D y se determinó si tenían densitometría ósea realizada en la Fundación Santa Fe de Bogotá a partir del año 2005. Se excluyeron los pacientes que no tenían reporte de densitometría o aquellos en los que no se podían analizar estos resultados. Se analizaron las densitometrías de cada paciente teniendo en cuenta variables de género, edad (mayor de 18 años), niveles de vitamina D y valores de T-score y Z score en columna y cadera. Se estimó que el intervalo de tiempo entre el diagnóstico densitométrico y la realización de los niveles de vitamina D no cambiarían en forma ostensible debido a que el recambio óseo en el adulto ma-

yor es muy lento y los pacientes no se habían intervenido para la deficiencia de vitamina D.

Con respecto a la medición de niveles séricos de vitamina D, se utilizó un método cuantitativo de inmunoensayo enzimático con sensibilidad analítica de 2 ng/ml y especificidad para 25OHD3: 100%, para 25OHD2: 75% y para 24,25(2)OHD3: 100%. Si el paciente tenía dos o más resultados de 25OHD se tomó el valor inicial. El punto de corte de suficiencia tomado fue de 32 ng/ml, utilizado en diversos estudios, el cual se relaciona con disminución de todos los riesgos asociados con deficiencia de vitamina D⁵.

Suficiencia de vitamina D se considera > 32 ng/ml e insuficiencia de vitamina D < 32 ng/ml.

Insuficiencia leve: niveles séricos de 25OH vitamina D entre 20 y 32 ng/ml (50-80 nmol/L).

Insuficiencia moderada: niveles séricos de 25OH vitamina D entre 8 y 19,9 ng/ml (20-49,75 nmol/L).

Insuficiencia severa: niveles séricos de 25OH vitamina D menores de 7,9 ng/ml (16,75 nmol/L).

Estos valores son arbitrarios y se consideraron en el estudio para clasificar las categorías.

Se utilizaron los criterios de la OMS para definir normalidad, baja masa ósea y osteoporosis. El software utilizado es Lunar y con un coeficiente de variación inferior al 1%. Para la densidad mineral ósea en sujetos menores de 50 años se

consideró el valor de Z-Score y para mayores de 50 años el T-Score.

Normalidad: T-S > -1,0 DS, masa ósea baja: T-S entre 1,0 a -2,5 DS Osteoporosis: T-S > 2,5 DS.

Los datos fueron sometidos a los análisis de Epi info versión 3.5.1, se realizó un análisis descriptivo calculando los porcentajes, promedios y frecuencias para cada variable.

Se aplicó prueba de t-student para determinar diferencias entre los niveles de 25OHD en relación con edad, género, densidad ósea normal, osteopenia y osteoporosis.

Aspectos éticos: en el presente estudio se aseguró la privacidad del individuo sujeto a investigación, preservando la confidencialidad de la información tomada de las diferentes historias clínicas. Se acogieron las "Normas Científicas, Técnicas y Administrativas para la Investigación en Salud" establecidas en la Resolución número 008430 de 1993 del Ministerio de Salud. Este estudio se clasifica sin riesgo (revisión de archivos documentales) para quienes participan en el mismo, no requiriéndose un consentimiento informado por escrito.

Resultados

Durante el periodo comprendido entre agosto de 2008 y julio de 2009 se realizaron 460 determinaciones de niveles de 25 OH vitamina D. De estos pacientes 105 contaban con densitometría ósea realizada en la Fundación Santa Fe de Bogotá.

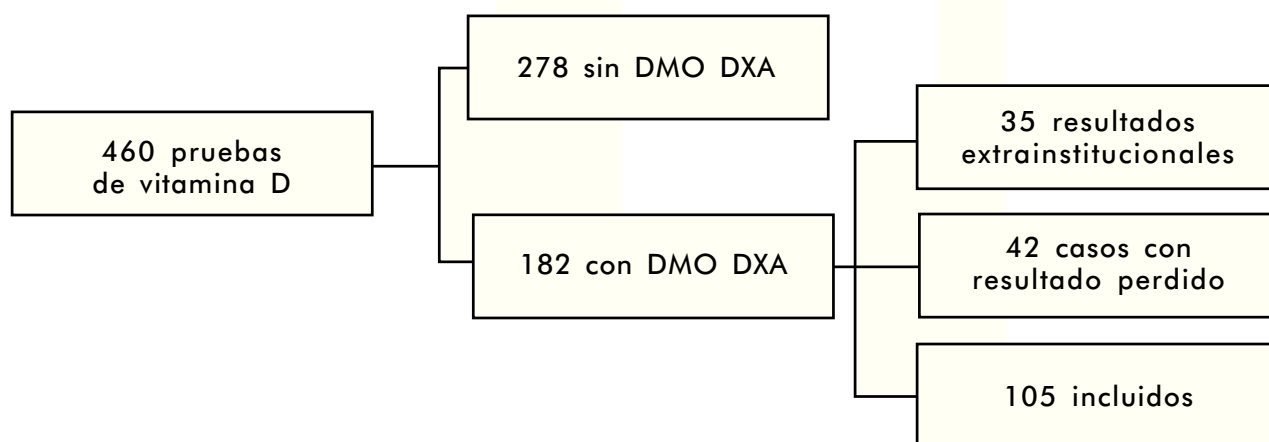


Figura 1. Selección de la población a estudio.

La Tabla 1 muestra las características demográficas de los 105 casos analizados.

De acuerdo con el género se encontró que la mayoría de los sujetos de estudio fueron mujeres con el 81% (85/105) y solo el 19% fueron hombres (20/105). El promedio de la edad fue de 66 años con una desviación estándar de $\pm 12,5$ y un rango entre 39 y 91 años. En el caso de la mujeres el promedio de edad fue de 67,1, desviación estándar de $\pm 12,2$ años y rango de edad entre 39 y 91 años; para los hombres el promedio de edad se encontró en 61 años con una desviación estándar de $\pm 10,7$ y rango entre 42 a 82 años.

El promedio de los niveles de 25OHD3 en la población de estudio fue de 31 ng/ml con una desviación estándar de $\pm 17,6$ y un rango entre

8,2 a 110 ng/ml. En las mujeres se encontró una media de 30,5 ng/ml de 25OHD3 con una desviación estándar de $\pm 16,1$ y un rango entre 10,6 y 96 ng/ml; para los hombres el promedio fue de 33,5 ng/ml con una desviación estándar de $\pm 23,4$ y un rango entre 8,2 y 110 ng/ml; no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de vitamina D entre hombres y mujeres, prueba t de Student ($p = 0,592$) con IC 95% (Tabla 2).

En cuanto a los niveles de vitamina D se encontró que en el 69,5% (73/105) de los sujetos de estudio se presentó algún nivel de insuficiencia. De acuerdo con la clasificación por niveles el 30,5% (32/105) de los sujetos presentaron niveles suficientes, el 45,7% (48/105) se clasificaron con insuficiencia leve de vitamina D y el 23,8% (25/105)

Tabla 1. Características de la población.

Variable	Categoría	Casos	Porcentaje
Género	Femenino	85	81
	Masculino	20	19
Rango de edad (años)	< 49,9	8	7,6
	50 - 64,9	43	41
	65 - 79,9	37	35,2
	> 80	17	16,2
Densidad Mineral ósea DXA	Normal	8	7,6
	Osteopenia	36	34,3
	Osteoporosis	61	58,1
Vitamina D (25OHD)	Suficiente	32	30,5
	Insuficiencia leve	48	45,7
	Insuficiencia moderada	25	23,8
	Insuficiencia severa	0	0,0

Tabla 2. Promedio de vitamina D con relación al género y el rango de edad.

Género Rango de edad	Femenino Casos (vit. D)	Masculino Casos (vit. D)
< 49,9	7 casos (48,97 ng/ml)	1 caso (18,9 ng/ml)
50 - 64,9	28 casos (30,76 ng/ml)	15 casos (35,09 ng/ml)
65 - 79,9	34 casos (29,15 ng/ml)	3 casos (29,09 ng/ml)
> 80	16 casos (24,91 ng/ml)	1 caso (21 ng/ml)

con insuficiencia moderada. No se encontraron casos con insuficiencia severa (Tabla 3).

Se encontró una correlación estadísticamente significativa entre los sujetos que se diagnosticaron con osteoporosis y las concentraciones de vitamina D menores de 28 ng/ml, prueba T de Student ($p = 0,046$ con IC 95%). Sin embargo, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre osteopenia y niveles bajos niveles de vitamina D; prueba T de Student ($p = 0,175$ con IC 95%) comparados con densidad ósea normal u osteoporosis (Tabla 4).

Discusión

En la práctica médica local se ha incrementado el interés en la determinación de la deficiencia de vitamina D como causa del deterioro de la masa ósea. En Colombia cada día tenemos más disponibilidad de pruebas para la medición de vitamina D; sin embargo, estas no están estandarizadas y en la mayoría de veces los resultados no podrían ser equiparables entre un método y otro. Una prueba de laboratorio ideal para evaluar y monitorizar los niveles de vitamina D debe ser sensible, precisa, exacta, específica y reproducible. Muchos métodos utilizados

para evaluar la 25OHD en suero se han cuestionado⁶⁻⁹. Parece que los problemas en la determinación de las concentraciones de 25OHD pueden relacionarse con las características lipofílicas de esta, y con la fuerte afinidad por su proteína transportadora asociada a las características estructurales similares entre vitamina D₂ y D₃¹⁰. Entre los problemas actuales que tenemos con la realización de pruebas de vitamina D y su interpretación se han resaltado:

1. Subestimación de las concentraciones de vitamina D. Algunos métodos por RIA subestiman en más de un 30% las concentraciones de 25OHD₂ como es el caso de IDS y tienen dificultades en la recuperación de los metabolitos medidos¹¹.
2. Sobrestimación de las concentraciones de vitamina D. En las pruebas competitivas, la medición de otros metabolitos producto de la degradación o la isomerización de la vitamina D u otros metabolitos hidroxilados como 24,25-dihidroxi-vitamina D, 25,26-dihidroxi-vitamina D, 25,26-dihidroxi-vitamina D y 26, 23-lactona sobrestiman las concentraciones entre el 10 y el 20%¹²⁻¹⁴.

Tabla 3. Promedio de vitamina D con relación a la densidad mineral ósea (DMO) y al rango de edad.

DMO Rango de edad	Normal Casos (vit. D)	Baja masa Casos (vit. D)	Osteoporosis Casos (vit. D)
< 49,9	3 casos (27,3 ng/ml)	4 casos (57,06 ng/ml)	1 caso (51,5 ng/ml)
50 - 64,9	2 casos (65,1 ng/ml)	19 casos (34,78 ng/ml)	22 casos (27,11 ng/ml)
65 - 79,9	3 casos (35,71 ng/ml)	10 casos (29,09 ng/ml)	24 casos (29,05 ng/ml)
> 80	0 casos	3 casos (18,37 ng/ml)	14 casos (26,04 ng/ml)

Tabla 4. Promedio de vitamina D con relación al género y la DMO.

Género DMO	Femenino Casos (vit. D)	Masculino Casos (vit. D)
Normal	6 casos (31,51 ng/ml)	2 casos (65,1 ng/ml)
Osteopenia	26 casos (33,65 ng/ml)	10 casos (36,02 ng/ml)
Osteoporosis	53 casos (28,87 ng/ml)	8 casos (22,51 ng/ml)

3. Falta de equivalencias entre los ensayos, no hay rangos de referencia para poblaciones específicas¹⁵.
4. La variabilidad intra-ensayo, inter-ensayo y del individuo¹⁶.
5. La calidad de los materiales¹⁷.

En nuestro estudio, se encontró una prevalencia de hipovitaminosis D alta en la población atendida en la FSFB con deterioro de la masa ósea, como se han encontrado en otras poblaciones del mundo, que oscilan entre el 11% y el 70%^{18,19}; sin embargo, no es comparable con la prevalencia de otras regiones debido a:

1. Los puntos de cortes en otros estudios fueron inferiores a 32 ng/ml, dejando una proporción importante de la población deficiente en rango de normalidad.
2. Las pruebas para detección para 25OHD3 o 25OHD2 utilizan diferentes metodologías variando en sensibilidad y especificidad, como se discutió en el párrafo anterior. Idealmente se necesita otros métodos de medición que solo midan 25OHD2 y 25OHD3 como la espectrofotometría de masas combinada con cromatografía que elimina otros metabolitos; o el uso de pruebas muy estandarizadas para que los estudios puedan ser comparables, estas pruebas solo son utilizadas para evaluar las pruebas de laboratorio.
3. Las condiciones climáticas como el grado de exposición solar, las costumbres locales con respecto al uso de ropa, el tipo de alimentación y el uso de bloqueador solar también hacen que las concentraciones de vitamina D puedan diferir de otras poblaciones colombianas que llevan un estilo de vida diferente²⁰.

La prevalencia de hipovitaminosis D en nuestra población sin intervención farmacológica puede ser aun mayor debido a:

- Muchos pacientes de nuestro estudio pueden estar tomando suplementos ricos en vitamina D o multivitamínicos.
- El método utilizado en nuestro estudio detecta un metabolito inactivo que sobreestima los valores dados.

Con respecto a la variabilidad intra e inter-laboratorios y la falta de estandarización en los resultados el National Institute of Standards and Technology ha venido trabajando en esto y en un futuro cercano podremos tener unos resultados exactos y con mayor reproducibilidad^{21,22}.

Como es un estudio retrospectivo se trató de disminuir los sesgos asociados a este tipo de estudio; para reducir el sesgo de selección se vinculó el universo de la población a la cual se realizó densitometría ósea y determinaciones séricas de vitamina D. En ningún momento la población había sido intervenida activamente para la corrección de la deficiencia de vitamina D por falta de disponibilidad de la medicación en Colombia hasta esa fecha, por tal motivo se reduce el riesgo de alterar el diagnóstico de tener deficiencia de vitamina D. Este estudio no incluye variables que alteran el metabolismo de la vitamina D; sin embargo, no consideramos pertinente la inclusión de estas para la finalidad del estudio.

Conclusiones

La prevalencia de la deficiencia de vitamina D es muy alta en la población atendida en la FSFB con sospecha de osteoporosis u osteopenia.

Se justifica evaluar los niveles de 25OH vitamina D en todo paciente con osteopenia u osteoporosis.

Recomendaciones

Evaluar los niveles de 25OH vitamina D en todo paciente con osteopenia y osteoporosis.

Este estudio no es comparable con otros estudios de población por

- El punto de corte utilizado, más alto y acorde con los estándares actuales.
- El método para evaluar 25OHD es diferente de otros utilizados en el país.
- El tipo de población atendida.

El hecho de que los estudios de laboratorio tengan sus limitaciones no significa que no sirvan en el escenario clínico; solamente nos obliga a conocer la sensibilidad y especificidad para cada metabolito medido; por tanto, debemos

exigir en el reporte de laboratorio esta información para una adecuada interpretación de los resultados en forma individual y poder confrontarlos con la información científica al respecto.

Es necesario evaluar otras poblaciones, en diferentes regiones del país, para luego definir políticas de salud pública con respecto al enriquecimiento de alimentos básicos con vitamina D (colecalfiferol o ergocalciferol).

Referencias

1. Elliott ME, Binkley NC, Carnes M, et al. Fracture risks for women in long-term care: high prevalence of calcaneal osteoporosis and hypovitaminosis D. *Pharmacotherapy* 2003;23:702-710.
2. Semba RD, Garrett E, Johnson BA, Guralnik JM, Fried LP. Vitamin D deficiency among older women with and without disability. *Am J Clin Nutr* 2000;72:1529-1534.
3. Bolland MJ, Grey AB, Ames RW, et al. The effects of seasonal variation of 25-hydroxyvitamin D and fat mass on a diagnosis of vitamin D sufficiency. *Am J Clin Nutr* 2007;86:959-964.
4. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
5. Kuchuk NO, van Schoor NM, Pluijm SM, Chines A, Lips P. Vitamin D status, parathyroid function, bone turnover, and BMD in postmenopausal women with osteoporosis: global perspective. *J Bone Miner Res* 2009;24:693-701.
6. Hart GR, Furniss JL, Laurie D, Durham SK. Measurement of vitamin D status: background, clinical use, and methodologies. *Clin Lab* 2006;52:335-343.
7. Glendenning P, Taranto M, Noble JM, et al. Current assays overestimate 25-hydroxyvitamin D3 and underestimate 25-hydroxyvitamin D2 compared with HPLC: need for assay-specific decision limits and metabolite-specific assays. *Ann Clin Biochem* 2006;43:23-30.
8. Vieth R. Problems with direct 25-hydroxyvitamin D assays, and the target amount of vitamin D nutrition desirable for patients with osteoporosis. *Osteoporos Int* 2000;11:635-636.
9. The DEQAS. Vitamin D external quality assessment scheme. Available from www.deqas.org. Accessed March 29, 2009.
10. Saenger AK, Laha TJ, Bremner DE, Sadrzadeh SM. Quantification of serum 25-hydroxyvitamin D2 and D3 using HPLC-tandem mass spectrometry and examination of reference intervals for diagnosis of vitamin D deficiency. *Am J Clin Pathol* 2006;125:914-920.
11. Hollis BW. Comparison of Commercially Available 125I-based RIA Methods for the Determination of Circulating 25-Hydroxyvitamin D. *Clin Chem* 2000;46(10):1657-1661.
12. Lensmeyer G, Wiebe D, Binkley N, Drezner M. HPLC method for 25-hydroxyvitamin D measurement: comparison with contemporary assays. *Clin Chem* 2006;52:1120-1126.
13. Maunsell Z, Wright DJ, Rainbow SJ. Routine isotope-dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay for simultaneous measurement of the 25-hydroxy metabolites of vitamins D2 and D3. *Clin Chem* 2005;51(9):1683-1690.
14. Horst RL, Hollis BW. Vitamin D assays and their clinical utility. In: Holick MF, editor. *Physiology, Molecular Biology, and Clinical Applications*. Totowa, NJ: Humana Press Inc 1999;239-271.
15. Souberbielle JC, Fayol V, Sault C, Lawson-Body E, Kahan A, Cormier C. Assay-specific decision limits for two new automated parathyroid hormone and 25-hydroxyvitamin D assays. *Clin Chem* 2005;51(2):395-400.
16. Phinney KW. Development of a standard reference material for vitamin D in Serum. *Am J Clin Nutr* 2008;88(suppl):511S-512S.
17. Carter GD, Carter R, Jones J, Berry J. How accurate are assays for 25-hydroxyvitamin D? Data from the international vitamin D external quality assessment scheme. *Clin Chem* 2004;50:2195-2197.
18. Looker AC, Dawson-Hughes B, Calvo MS, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D status of adolescents and adults in two seasonal subpopulations from NHANES III. *Bone* 2002;30:771-777.
19. Saraiva GL, Cendoroglo MS, Ramos LR, Araújo LM, Vieira JG, Maeda SS, Borba VZ, Kunii I, Hayashi LF, Lazaretti-Castro M. Prevalence of vitamin D deficiency, insufficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly inpatients and living in the community of the city of São Paulo, Brazil. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2007;51(3):437-442.
20. Holick MF. Vitamin D requirements for humans of all ages: new increased requirements for women and men 50 years and older. *Osteoporos Int* 1998;8(Suppl 2):S24-S29.
21. National Institute of Standards and Technology (NIST) Chemical Science and Technology Laboratory. NIST releases vitamin D standard reference material. Available from http://www.nist.gov/cstl/analytical/vitaminD_071409.cfm. Accessed August 7, 2009.
22. Isenor JE and Ensom MHH. Is There a Role for Therapeutic Drug Monitoring of Vitamin D Level as a Surrogate Marker for Fracture Risk? *Pharmacotherapy* 2010;30(3):254-264.