



## Artigo original

# Correlação entre os níveis de vitamina D e densidade mineral óssea em uma população iraniana saudável



Patricia Khashayar<sup>a,b,\*</sup>, Hamid Reza Aghaei Meybodi<sup>a</sup>, Mohsen Rezai Hemami<sup>c</sup>, Abbasali Keshtkar<sup>d,e</sup>, Hans Peter Dimai<sup>f</sup> e Bagher Larjani<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Osteoporosis Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Teerã, Irã

<sup>b</sup> Center for Microsystems Technology (CMST), Ghent University, Ghent, Bélgica

<sup>c</sup> Endocrinology and Metabolism Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Teerã, Irã

<sup>d</sup> Department of Health, The Ministry of Health and Medical Education (MOHME), Teerã, Irã

<sup>e</sup> Department of Nutrition, The Ministry of Health and Medical Education (MOHME), Teerã, Irã

<sup>f</sup> Department of Internal Medicine, Division of Endocrinology and Metabolism, Medical University of Graz, Graz, Áustria

## INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

## Histórico do artigo:

Recebido em 26 de agosto de 2015

Aceito em 9 de setembro de 2015

On-line em 5 de maio de 2016

## Palavras chave:

Densidade mineral óssea

Osteoporose

Biomarcadores

Vitamina D

Fósforo

Cálcio

## RESUMO

**Objetivos:** Considerando os resultados controversos sobre a relação entre níveis de vitamina D e densidade mineral óssea em diferentes populações, o presente estudo foi desenhado para avaliar essa correlação em uma população iraniana saudável.

**Métodos:** Com uma amostra aleatória de homens e mulheres aparentemente saudáveis, este estudo transversal multicêntrico considerou 4.450 indivíduos que vivem na região urbana de cinco grandes cidades no Irã. Os valores da densidade mineral óssea (DMO) foram analisados em conjunto com os níveis séricos de 25(OH)D e PTH. Análise da variação (Anova) foi usada para estimar os principais efeitos por meio da comparação entre os valores médios desses marcadores e a condição da densidade mineral óssea de cada gênero nesta amostra de estudo.

**Resultados:** Níveis de 25(OH)D foram inversamente proporcionais aos valores de DMO no nível do quadril ( $r = -0,062$  em homens e  $r = -0,057$  em mulheres) e da coluna vertebral ( $r = -0,076$  em homens e  $r = -0,107$  em mulheres). Após ajuste dos dados para idade, a correlação negativa não foi mais estatisticamente significativa.

**Conclusão:** Níveis séricos de 25(OH)D são inversamente correlacionados com os valores de massa óssea em ambos os gêneros.

© 2015 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

DOI se refere ao artigo: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rboe.2015.09.011>.

\* Autor para correspondência.

E-mail: [patricia.kh@gmail.com](mailto:patricia.kh@gmail.com) (P. Khashayar).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.rbo.2015.09.009>

0102-3616/© 2015 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## Vitamin D status and its relationship with bone mineral density in a healthy Iranian population

### A B S T R A C T

#### Keywords:

Bone mineral density  
Osteoporosis  
Biological markers  
Vitamin D  
Phosphorus  
Calcium

**Objectives:** Considering the controversial results regarding the relationship between vitamin D levels and bone mineral density in different populations, the present study was designed to evaluate this correlation in a healthy Iranian population.

**Methods:** Using a random cluster sample of apparently healthy men and women, this multi-center cross-sectional study was carried out among 4450 individuals living in urban areas of five major cities in Iran. Bone mineral density (BMD) values at different sites were analyzed along with the serum levels of 25(OH)D and PTH. Analysis of variance (Anova) was used to estimate the main effects, through comparing the mean values of these markers based on the bone mineral density status of the study group in each sex.

**Results:** 25(OH)D levels were inversely correlated with BMD values at total hip ( $r = -0.062$  in men and  $r = -0.057$  in women) and spine ( $r = -0.076$  in men and  $r = -0.107$  in women). After adjusting the data for age, the inverse correlation was no longer statistically significant.

**Conclusion:** Serum 25(OH)D levels are inversely correlated with bone mass values in both sexes.

© 2015 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## Introdução

A osteoporose é uma doença sistêmica caracterizada por baixa massa óssea e deterioração da microarquitetura do tecido ósseo, o que resulta em maior risco de fratura. No entanto, se for identificada em seu estágio inicial, muitas das fraturas podem ser evitadas.<sup>1</sup>

Além dos fatores modificáveis do estilo de vida, a densidade mineral óssea (DMO) é influenciada por fatores genéticos, ambientais e hormonais.<sup>2,3</sup> Embora a influência de marcadores bioquímicos sobre o risco de fratura tenha sido bem documentada em estudos anteriores, a associação entre níveis séricos de vitamina D (25(OH)D) e DMO em diferentes etnias residentes em diferentes áreas geográficas permanece controversa. Vários estudos não observaram relação direta entre níveis séricos de 25(OH)D e DMO.<sup>4</sup>

Assim, o presente estudo foi elaborado para avaliar a relação entre os níveis de vitamina D, DMO e PTH em uma população iraniana saudável.

## Material e métodos

### Seleção dos sujeitos de pesquisa

Este estudo é parte de uma pesquisa abrangente (Imos) que avalia a prevalência de osteoporose e fatores associados em adultos saudáveis (faixa etária: 20-70 anos), em uma amostra representativa da população urbana iraniana, conduzido nas áreas urbanas de cinco grandes cidades do Irã (Teerã, Tabriz, Mashhad, Shiraz e Booshehr) no fim do inverno de 2001 (fevereiro-março).

Os detalhes do projeto de pesquisa e os métodos foram descritos anteriormente.<sup>5</sup> Resumidamente, o Imos usou uma amostragem aleatória de conglomerados para sortear cinco

amostras independentes de adultos saudáveis representativas das províncias, excluindo aqueles que tomavam medicamentos que pudessem alterar o metabolismo ósseo, aqueles com distúrbios hepáticos ou renais, doença óssea metabólica, hipercortisolismo, má absorção, esterilidade, oligomenorreia, diabetes, doença maligna e imobilidade por mais de uma semana, bem como mulheres grávidas e lactantes. O Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisa Endócrina e Metabólica (Endocrine and Metabolism Research Center [EMRC]) aprovou o protocolo do estudo. Um termo de consentimento livre e esclarecido foi assinado pelos participantes antes de sua inclusão.

Todos os participantes foram submetidos a um exame médico circunstanciado, medição da DMO em locais diferentes e alguns exames bioquímicos. Além dos dados demográficos, os indivíduos foram indagados a respeito do estado menopausal e do número de anos desde a menopausa, que foi definida no presente estudo como a cessação natural ou cirúrgica da menstruação havia mais de 12 meses.

### Exames bioquímicos

Uma amostra de sangue em jejum (10 cm<sup>3</sup> de sangue venoso) foi coletada de todos os participantes em suas residências. A centrifugação da amostra e a extração do soro foram feitas no local. As amostras foram então congeladas e enviadas ao laboratório do EMRC para posterior análise.

Os níveis séricos de Ca e P foram analisadas por um método calorimétrico com o uso de Chem. Enzyme Lab Kit, Irã. O intervalo de referência para Ca sérico foi de 8,6 a 10,8 mg/dL e para P sérico, de 2,3 a 5 mg/dL. Os níveis séricos de 25(OH)D e PTH foram medidos pelos métodos de radioimunoensaio (RIA; IDS Ltd Kit, Reino Unido) e radioimunométrico (IRMA; Diasorin Kit, EUA), respectivamente. Os intervalos de referência para 25(OH)D e PTH séricos foram 23-113 Ng/dL e 13-54 Pg/dL,

**Tabela 1 – Valores médios dos marcadores bioquímicos de acordo com a densidade mineral óssea**

	Categorização da densidade mineral óssea (n°. de casos)			Valor-p
	Osteoporose (246)	Osteopenia (1.448)	Normal (2.096)	
25(OH)D (ng/mL)	42,03 ± 34,59	35,97 ± 26,49	33,04 ± 23,78	< 0,001
PTH (pg/mL)	28,12 ± 16,19	28,82 ± 16,18	28,73 ± 17,72	0,856
Ca (mg/dL)	9,44 ± 0,54	9,43 ± 0,56	9,46 ± 0,57	0,454
P (mg/dL)	3,22 ± 0,49	3,15 ± 0,48	3,19 ± 0,47	0,109

Dados apresentados como média ± DP.

respectivamente. As variações inter- e intraensaio para esses marcadores foram de 8%/6,8% e 8,9%/6,1%, respectivamente.

Com base em valores de 25(OH)D, os participantes foram classificados como portadores de deficiência de vitamina D ( $\leq 20$  ng/mL), insuficientes (deficiência leve; 20-30 ng/mL) e suficientes (acima de 30 ng/mL). O método completo usado para determinar os níveis de 25(OH)D e classificar os participantes foi descrito em estudos anteriores dos autores.<sup>6,7</sup>

### Densidade mineral óssea

Em cada cidade, os pacientes foram submetidos a um exame de densitometria óssea nos segmentos L1-L4 em projeção anteroposterior da coluna lombar, quadril e suas sub-regiões, com o uso de um densitômetro Lunar DPXMD (Lunar 7164, GE, Madison, WI) equipado com a base de dados Nhanes III, por um operador treinado, de acordo com as instruções do fabricante. Os resultados foram expressos em T-scores e Z-scores. Os procedimentos de controle de qualidade foram feitos de acordo com as recomendações do fabricante. Em cada cidade, a variação do instrumento foi determinada regularmente em um procedimento de calibração semanal com o uso de um *phantom* fornecido pelo fabricante (o equilíbrio *phantom* foi enviado de uma cidade para outra após cada teste). A variação interinstrumento foi verificada várias vezes durante o estudo. Houve uma pequena diferença não significativa entre as medidas reportadas. O erro de precisão das medições de DMO foi 1-1,5% na lombar e 2-3% nas regiões femorais.

Com base na recomendação do Grupo de Estudo da Organização Mundial Saúde (OMS), os valores de DMO foram classificados como normal, osteopênico e osteoporótico.<sup>8</sup> Considerando-se que não existe uma definição amplamente aceita de osteoporose em homens, os critérios da OMS para avaliar osteoporose na população feminina foram usados de forma similar para esse grupo.

### Análise estatística

Os dados foram inseridos no Microsoft Access Databank. Dado que um instrumento diferente foi usado para avaliar a DMO nos indivíduos recrutados em Booshehr, os dados coletados nessa cidade foram considerados indisponíveis. Todas as análises estatísticas foram feitas com o *software* SPSS 13.0 para Windows (SPSS, Chicago, IL) com base em uma abordagem de pares e valores de p inferiores a 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

Todas as análises foram feitas separadamente para cada um dos sexos e, em seguida, para o grupo como um todo.

Médias ± SD foram usados para expressar as estatísticas descritivas padrão. As variáveis categóricas foram expressas em porcentagens e comparadas pelo teste de qui-quadrado. As diferenças entre as médias foram avaliadas por análise de variância (Anova) com o teste *post hoc*. O teste t de Student bicaudal foi usado para comparar as médias dos valores bioquímicos em diferentes grupos. A associação entre a variável dependente (DMO) e as variáveis bioquímicas foi examinada por análise bivariada e depois por análises ajustadas de regressão múltipla.

### Resultados

Foram incluídos no estudo 4.450 indivíduos, com média de  $42,6 \pm 13,9$  anos; entre eles 1.900 (42,7%) eram do sexo masculino. Dos participantes, 246 (6,5%; 4,8% dos homens e 7,7% das mulheres) foram identificados como portadores de osteoporose. Uma diferença significativa foi observada em relação à prevalência de osteoporose nos dois sexos (valor de  $p \pm 0,001$ ). Por outro lado, observou-se osteopenia em 848 (58,6%) mulheres estudadas e em cerca de 600 (41,4%) homens.

Os níveis séricos de 25(OH)D foram significativamente maiores entre os portadores de osteoporose (tabela 1). Os coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis do estudo revelaram uma correlação inversa entre os níveis de 25(OH)D e valores de DMO do quadril total ( $r = -0,062$  em homens e  $r = -0,057$  em mulheres) e da coluna ( $r = -0,076$  em homens e  $r = -0,107$  em mulheres; tabela 2).

A correlação entre os níveis de PTH e os valores de DMO em todos os locais não permaneceu significativa após o ajuste dos dados por sexo. Cada ano a mais na idade foi associado a um risco 1.061 e 1.141 vezes maior de desenvolvimento de osteoporose em homens e mulheres, respectivamente. Após o ajuste dos dados por idade, a correlação inversa entre essa, os níveis de 25(OH)D e os valores de DMO em todos os locais não foi estatisticamente significativa (dados não apresentados).

### Discussão

Hipovitaminose D e osteoporose são frequentes em indivíduos que vivem em países com sol abundante, como o Irã.<sup>9-12</sup> A razão por trás dessa constatação, no entanto, ainda não está clara. Muitos acreditam que o nível ideal de 25(OH)D, que leva à supressão máxima dos níveis de iPTH circulantes, deve ser definido a partir de uma base funcional em vez de epidemiológica.<sup>13</sup>

**Tabela 2 – Correlação parcial entre marcadores bioquímicos e valores de densidade mineral óssea (DMO) após controle por sexo (A – masculino e B – feminino)**

	25(OH)D	PTH	Ca	P	DMO (colo do fêmur)	DMO (trocânter)	DMO (quadril total)
<b>A – Masculino:</b>							
PTH	-0,101 <sup>a</sup>						
Ca	0,053 <sup>b</sup>	-0,032 <sup>a</sup>					
P	0,077 <sup>a</sup>	0,088 <sup>a</sup>	0,213 <sup>a</sup>				
DMO (colo do fêmur)	-0,073 <sup>a</sup>	0,023	0,070 <sup>a</sup>	0,137 <sup>a</sup>			
DMO (trocânter)	0,000	-0,008	0,044	0,074 <sup>b</sup>	0,770 <sup>a</sup>		
DMO (quadril total)	-0,062 <sup>b</sup>	0,013	0,064 <sup>b</sup>	0,090 <sup>a</sup>	0,876 <sup>a</sup>	0,934 <sup>a</sup>	
DMO (coluna)	-0,076 <sup>a</sup>	0,038	0,022	0,083 <sup>a</sup>	0,633 <sup>a</sup>	0,616 <sup>a</sup>	0,666 <sup>a</sup>
<b>B – Feminino:</b>							
PTH	-0,175 <sup>a</sup>						
Ca	0,079 <sup>a</sup>	-0,038					
P	0,075 <sup>a</sup>	-0,072 <sup>a</sup>	0,245 <sup>a</sup>				
DMO (colo do fêmur)	-0,095 <sup>a</sup>	-0,024	0,004	0,004			
DMO (trocânter)	-0,074 <sup>a</sup>	-0,046	-0,037	-0,054 <sup>b</sup>	0,806 <sup>a</sup>		
DMO (quadril total)	-0,057 <sup>b</sup>	-0,042	-0,021	-0,034	0,889 <sup>a</sup>	0,926 <sup>a</sup>	
DMO (coluna)	-0,107 <sup>a</sup>	-0,009	-0,030	-0,053 <sup>b</sup>	0,699 <sup>a</sup>	0,624 <sup>a</sup>	0,689 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> correlação significativa ao nível de 0,01 (bicaudal).  
<sup>b</sup> correlação significativa ao nível de 0,05 (bicaudal).

A literatura apresenta resultados controversos sobre a correlação entre níveis séricos de 25(OH)D e DMO. Enquanto alguns estudos não relataram quaisquer correlações entre essas duas variáveis, outros revelaram uma associação positiva entre os níveis séricos de 25(OH)D e os valores de DMO.<sup>4,14-18</sup> Arya et al. observaram uma correlação significativa entre níveis séricos de 25(OH)D e os níveis e valores de DMO no fêmur proximal.<sup>11</sup> Eles concluíram que a deficiência subclínica de 25(OH)D tem um efeito adverso sobre a massa óssea e, portanto, está associada à baixa DMO nesses indivíduos. Similarmente, Villareal et al. sugeriram que mulheres com baixos níveis séricos de 25(OH)D devem ser encaminhadas para exame de osteoporose e ressaltaram que a baixa DMO pode ser o único sintoma nessas mulheres.<sup>19</sup>

Ao contrário desses, o presente estudo observou uma relação significativa, mas negativa, entre os níveis de 25(OH)D e os valores de DMO em todos os locais estudados.

As aparentes discrepâncias entre o nosso estudo e os anteriores podem ser atribuídas ao fato de que muitos estudos populacionais recrutaram indivíduos com um estado de saúde relativamente bom e, portanto, observaram menor prevalência de deficiência grave de vitamina D e osteoporose.<sup>14</sup> A provável associação entre 25(OH)D e DMO também pode variar com base nos locais usados para a medição da DMO, devido à composição distinta do tecido trabecular e do tecido ósseo cortical. Além disso, uma amostra retirada de um estudo de base populacional e que apresente uma prevalência de deficiência grave de vitamina D comparativamente menor pode aumentar a generalização de nossos resultados. Os elevados níveis séricos de 25(OH)D em pacientes com osteoporose podem ser secundários ao fato de que essa doença é mais comum entre idosos e essa faixa etária é mais frequentemente tratada com suplementação de vitamina D. Considerando-se os presentes critérios de exclusão, indivíduos que tomam esses suplementos não deveriam ter sido recrutados para o estudo; entretanto, muitos indivíduos, em particular os de idade mais avançada, tomaram tais suplementos sem estar cientes de seu nome.

A concentração sérica média de 25(OH) em toda a população do estudo foi  $35,37 \pm 30,3$  ng/mL e 67,2% dos indivíduos estudados apresentavam deficiência de vitamina D moderada a grave, independentemente do sexo. À exceção do trocânter, não houve diferença na correlação entre essas variáveis nos dois sexos. É importante notar que os níveis mais elevados de vitamina D observados em casos osteoporóticos neste estudo podem ser atribuídos ao menor número desse tipo de caso em comparação com o número de casos normais. Além disso, considerando-se a análise de subgrupo e o fato de que a população de aposentados e idosos no Irã passa mais tempo ao ar livre, pode-se concluir que esses indivíduos estão expostos a mais sol e, portanto, apresentam níveis mais elevados de 25(OH)D.

Alguns estudos têm observado uma correlação inversa entre os níveis séricos de PTH e os valores de DMO, principalmente no colo do fêmur, e ressaltado o papel catabólico do PTH no osso cortical.<sup>15,20</sup> Tais estudos mostraram ainda que níveis séricos reduzidos de cálcio estão associados a alterações na mineralização e, conseqüentemente, baixa DMO.<sup>13</sup> Em conformidade com tais estudos, Hosseinpanah et al. relataram uma correlação negativa entre os níveis de PTH e os valores de DMO no colo do fêmur, na ausência de correlações semelhantes entre níveis séricos de 25(OH)D e DMO em outros locais.<sup>21</sup> Sadat Ali et al.<sup>22</sup> mostraram que os níveis de vitamina D influenciaram significativamente a DMO em indivíduos saudáveis e apontaram para uma correlação positiva entre o nível de 25(OH)D e DMO e uma significativa correlação negativa com PTH nos grupos estudados. De forma contrária, no presente estudo os valores de PTH estavam inversamente correlacionados com os valores de DMO em todos os locais, menos na coluna. No entanto, essa correlação foi significativa apenas no trocânter femoral.

O presente estudo foi feito em indivíduos saudáveis com base em seu histórico médico autorrelatado; portanto, a existência de um viés potencial de doenças subjacentes não diagnosticadas é provável. Além disso, a natureza transversal do presente estudo é uma limitação importante. Este estudo

mediu apenas cinco marcadores bioquímicos, ou seja, PTH e 25(OH)D, enquanto os estudos mais recentes têm associado outros marcadores, tais como osteocalcina intacta, valores de DMO e risco de fratura.<sup>23,24</sup> Ademais, as medições de 25(OH)D foram feitas no inverno, quando se acredita que seus níveis estejam mais baixos em comparação com os demais meses do ano. Note-se que o presente estudo foi observacional e que o efeito de fatores importantes, tais como diferenças populacionais (gênero, idade, etnia, sexo, grau de exposição ao sol e ingestão de vitamina D), não foram avaliados. Portanto, grandes estudos prospectivos são necessários para melhor avaliar a correlação entre os marcadores bioquímicos e valores de DMO em diferentes populações.

### Conflitos de interesse

Dr. Dimai recebeu pagamentos por participação em conselho, consultoria, testemunho de especialista, viagens, reuniões e palestras por seu trabalho sobre a osteoporose (Amgen, Daiichi-Sankyo, Eli Lilly, Kyphon, Medtronic, Merck Sharp & Dohme, Novartis, Nycomed, Sanofi-Aventis, Servier). Sua instituição, a Universidade de Medicina de Graz, também recebeu bolsas para o trabalho do Dr. Dimai sobre a osteoporose (Amgen, Daiichi-Sankyo, Eli Lilly, Kyphon, Medtronic, Merck Sharp & Dohme, Novartis, Nycomed, Sanofi-Aventis, Servier).

### Agradecimentos

À equipe do EMRC, à equipe do laboratório e a todos aqueles que gentilmente colaboraram para a feitura deste estudo.

### REFERÊNCIAS

1. Consensus Development Conference. Diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am J Med.* 1993;94(6):646-50.
2. Ardawi M, Maimany A, Bahksh T, Nasrat H, Milaat W, Al-Raddadi R. Bone mineral density of the spine and femur in healthy Saudis. *Osteoporos Int.* 2005;16(1):43-55.
3. Keramat A, Patwardhan B, Larijani B, Chopra A, Mithal A, Chakravarty D, et al. The assessment of osteoporosis risk factors in Iranian women compared with Indian women. *BMC Musculoskelet Disord.* 2008;27(9):28.
4. Chandran M, Hoeck HC, Wong HC, Zhang RF, Dimai HP. Vitamin D status and its relationship with bone mineral density and parathyroid hormone in South-East Asian adults with low bone density. *Endocr Pract.* 2010;17(2):226-34.
5. Aghaei Meybodi H, Heshmat R, Maasoumi Z, Soltani A, Hossein-Nezhad A, Keshtkar A, et al. Iranian osteoporosis research network: background, mission and its role in osteoporosis management. *Iranian J Publ Health.* 2008;A supplementary issue on Osteoporosis and Bone Turnover(1):1-6.
6. Hashemipour S, Larijani B, Adibi H, Sedaghat M, Pajouhi M, Bastan-Hagh M, et al. The status of biochemical parameters in varying degrees of vitamin D deficiency. *J Bone Miner Metab.* 2006;24(3):213-8.
7. Moradzadeh K, Larijani B, Keshtkar A, Hossein-Nezhad A, Rajabian R, Nabipour I, et al. Normative values of vitamin D among iranian population: a population based study. *Int J Osteoporosis Metabolic Dis.* 2008;1(1):8-15.
8. World Health Organization. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Technical Support Series, n°. 843. Genebra: WHO; 1994.
9. Rahman SA, Chee WS, Yassin Z, Chan SP. Vitamin D status among post-menopausal Malaysian women. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2004;13(3):255-60.
10. Raso AA, Navarra SA, Li-Yu J, Torralba TP. Survey of vitamin D levels among postmenopausal Filipino women with osteoporosis. *Int J Rheum Dis.* 2009;12(3):225-9.
11. Arya V, Bhambri R, Godbole MM, Mithal A. Vitamin D status and its relationship with bone mineral density in healthy Asian Indians. *Osteoporos Int.* 2004;15(1):56-61.
12. Khashayar P, Aghaei Meybodi HR, Rezai Homami M, Amini MR, Mohajeri-Tehrani MR, Heshmat R, et al. The discriminative value of various biochemical parameters in detecting varying degrees of vitamin D deficiency in the Iranian population. *Clin Lab.* 2011;57(3-4):163-70.
13. 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.
14. Tsai K, Hsu S, Cheng J, Yang R. Vitamin D stores of urban women in Taipei: effect on bone density and bone turnover, and seasonal variation. *Bone (NY).* 1997;20(4):371-4.
15. Fradinger E, Zanchetta J. Vitamin D and bone mineral density in ambulatory women living in Buenos Aires, Argentina. *Osteoporos Int.* 2001;12(1):24-7.
16. Lips P, Duong T, Oleksik A, Black D, Cummings S, Cox D, et al. A global study of vitamin D status and parathyroid function in postmenopausal women with osteoporosis: baseline data from the multiple outcomes of raloxifene evaluation clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(3):1212-21.
17. Bischoff-Ferrari H, Dietrich T, Orav E, Dawson-Hughes B. Positive association between 25-hydroxy vitamin D levels and bone mineral density: a population-based study of younger and older adults. *Am J Med.* 2004;116(9):634-9.
18. Scharla SH, Scheidt-Nave C, Leidig G, Woitige H, Wuster C, Seibel MJ, et al. Lower serum 25-hydroxyvitamin D is associated with increased bone resorption markers and lower bone density at the proximal femur in normal females: a population-based study. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 1996;104(3):289-92.
19. Villareal DT, Civitelli R, Chines A, Avioli LV. Subclinical vitamin D deficiency in postmenopausal women with low vertebral bone mass. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;72(3):628-34.
20. Sahota O, Masud T, San P, Hosking D. Vitamin D insufficiency increases bone turnover markers and enhances bone loss at the hip in patients with established vertebral osteoporosis. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1999;51(2):217-21.
21. Hosseinpanah F, Rambod M, Hossein-nejad A, Larijani B, Azizi F. Association between vitamin D and bone mineral density in Iranian postmenopausal women. *J Bone Miner Metab.* 2008;26(1):86-92.
22. Sadat Ali M, Al Elg HA, Al Turki HA, Al-Mulhim FA, Al-Ali AK. Influence of vitamin D levels on bone mineral density and osteoporosis. *Ann Saudi Med.* 2011;31(6):602-8.
23. Chaki O, Yoshikata I, Kikuchi R, Nakayama M, Uchiyama Y, Hirahara F, et al. The predictive value of biochemical markers of bone turnover for bone mineral density in postmenopausal Japanese women. *J Bone Miner Res.* 2000;15(8):1537-44.
24. Garnero P. Biomarkers for osteoporosis management: utility in diagnosis, fracture risk prediction and therapy monitoring. *Mol Diagn Ther.* 2008;12(3):157-70.