

López-Ramiro E¹, Rubert M¹, Mahillo I², de la Piedra C¹

¹ Laboratorio de Bioquímica Investigación

² Departamento de Epidemiología

IIS Fundación Jiménez Díaz - Madrid (España)

Hiperparatiroidismo secundario al déficit de vitamina D

DOI: <http://dx.doi.org/10.4321/S1889-836X2016000200002>

Correspondencia: Concha de la Piedra - Fundación Jiménez Díaz - Avda. Reyes Católicos, 2 - 28040 Madrid (España)
Correo electrónico: cpiedra@fjd.es

Fecha de recepción: 22/11/2015

Fecha de aceptación: 16/03/2016

Trabajo remitido como prestación por la beca FEIOMM recibida para asistir al 33º Congreso de la ASBMR (San Diego, 2011).

Resumen

Introducción: Cada vez está más demostrado el papel de la vitamina D en múltiples patologías, una de ellas el desarrollo de un hiperparatiroidismo secundario al déficit de vitamina D. Los métodos de laboratorio de cuantificación de vitamina D en suero no estaban bien estandarizados hasta ahora, por lo que no podía establecerse con certeza a partir de qué niveles de vitamina D se producían determinadas anomalías como la elevación de la PTH. Nuestro estudio pretende determinar por debajo de qué niveles de vitamina D nos encontraremos con niveles de PTH anormalmente elevados, realizando la determinación de vitamina D en el laboratorio con una técnica debidamente estandarizada y fiable.

Métodos: El estudio descriptivo y retrospectivo se realizó con pacientes mayores de 18 años en los que se hicieron simultáneamente determinaciones de PTH, 25(OH) vitamina D (25OHD) y que además tuvieran valores normales de calcio, filtrado glomerular y fósforo. Para la determinación de vitamina D se utilizó un método de electroquimioluminiscencia estandarizado con respecto a la técnica de gases-masas. Por el programa estadístico Stava versión 11 se calculó el valor de 25OHD para el que la PTH se elevaba por encima de 70 pg/ml con la mayor sensibilidad y especificidad.

Resultados: Se incluyeron 4.083 pacientes, de los que 2.858 eran mujeres (70%) y 1.225 (30%) varones. La edad media de la población estudiada fue 60,60 años (desviación estándar, 15,29). El 74% de la población tenía una PTH en suero por debajo de 70 pg/ml (valores considerados normales) y el 26% mayor de 70 pg/ml. Al construir la curva de ROC de los niveles de 25OHD, en función de valores de PTH por debajo o por encima de 70 pg/ml, el área bajo la curva fue 0,5962 ($p < 0,0001$). El punto de corte teniendo en cuenta conjuntamente la sensibilidad y la especificidad que determinaban los valores de vitamina D para predecir los valores de PTH por encima de 70 pg/ml fue 24 ng/ml. De los pacientes con PTH normal, el 71% tenían valores de vitamina D normales, mientras que, de los pacientes con PTH elevada (mayor de 70 pg/ml), casi la mitad presentaban una vitamina D menor de 24 ng/ml, porcentaje que aumentaba según se iba elevando la PTH.

Conclusiones: El valor de 25OHD que muestra una mejor especificidad y sensibilidad para predecir valores anormalmente elevados de PTH es 24 ng/ml, valor superior al presentado en trabajos anteriores (alrededor de 18 ng/ml).

Con los resultados de este estudio, realizado con un método debidamente calibrado, se puede decir que el 44,9% de pacientes con valores de vitamina D menores de 24 ng/ml presenta niveles de PTH anormalmente elevados, con una función renal normal y valores de calcio y fósforo normales. Este porcentaje es menor entre los 18 y 40 años (24%) y llega al 49% por encima de los 60 años. Estos pacientes podrían tratarse con vitamina D para evitar un posible hiperparatiroidismo secundario al déficit de dicha vitamina. Es importante tener en cuenta que el método de determinación de vitamina D utilizado debe estar debidamente estandarizado con respecto al método de gases-masas.

Palabras clave: hiperparatiroidismo secundario, déficit de vitamina D, vitamin D standarization program, espectrometría tandem-masas, 25(OH) vitamina D.

Secondary hyperparathyroidism due to vitamin D deficiency

Summary

Introduction: Vitamin D is increasingly recognized as playing a significant role in combatting many diseases. One is the development of secondary hyperthyroidism due vitamin D deficiency. To date, laboratory quantification methods of serum vitamin D were not well standardized. It could not be established with certainty from which levels of vitamin D certain abnormalities take place, like an elevation of PTH. The present study was aimed at determining below what vitamin D levels we will find abnormally high levels of PTH, carrying out the vitamin D determination in the laboratory with a standardized, reliable technique.

Methods: This descriptive, retrospective study was conducted with patients over 18 years in which determinations were made simultaneously with PTH, 25 (OH) vitamin D (25OHD) and which also have normal values of calcium, glomerular filtration rate and phosphorus.

For determining vitamin D, standardized electrochemiluminescence method was used with gas chromatography-mass spectrometry method. Using the Stava version 11 statistical program, the 25OHD was calculated where PTH value was above 70 pg/ml with greater sensitivity and specificity.

Results: In all, 4,083 patients were included, of whom 2,858 were women (70%) and 1,225 (30%) males. The mean age of the study population was 60.60 years (standard deviation, 15.29). 74% of the population had a serum PTH under 70 pg/ml (normal values) and 26% had a serum PTH higher than 70 ng/ml. By constructing the ROC curve levels of 25OHD, depending on PTH values below or above 70 pg/ml, the area under the curve was 0.5962 ($p < 0.0001$). The cut having jointly account the sensitivity and specificity that determined vitamin D levels to predict PTH values above 70 pg/ml was 24 ng/ml. Of the patients with normal PTH, 71% presented normal vitamin D values, while patients with elevated PTH (Greater than 70 pg/ml), almost half had a vitamin D below 24 ng / ml, which increased as the PTH percentage was elevated.

Conclusions: The 25OHD value that presents better specificity and sensitivity to predict abnormally high PTH is 24 ng/ml, which is higher than the level reported in previous work, (about 18 ng/ml) value. The results of this study, carried out with an appropriately calibrated method, showed that 44.9% of patients with vitamin D values of less than 24 ng/ml PTH had abnormally high levels, with a normal value of calcium and phosphorus and normal renal function. This percentage is less in those individuals between 18 and 40 years (24%) and reaches 49% beyond 60 years. These patients could be treated with vitamin D to prevent possible secondary hyperparathyroidism due to vitamin deficiency. It is noteworthy that the method of determining vitamin D used must be properly standardized with respect to gas chromatography-tandem mass spectrometry method.

Key words: *secondary hyperparathyroidism, vitamin D deficiency, vitamin D standardization program, tandem-mass spectrometry, 25 (OH) vitamin D.*

Introducción

La vitamina D interviene en el metabolismo del fósforo y del calcio. La deficiencia de vitamina D está asociada a osteoporosis y osteomalacia en adultos y a raquitismo en niños. Recientes estudios también han demostrado su papel en enfermedades autoinmunes, cáncer, enfermedades cardiovasculares, etc.¹⁻⁴.

La PTH es una hormona secretada por la glándula paratiroidea, que interviene en el metabolismo del calcio, obteniéndolo del hueso si hay hipocalcemia, y aumentando la producción de 1,25(OH)₂ vitamina D en el riñón, para favorecer la absorción del calcio. Por otra parte, también aumenta la reabsorción tubular de calcio.

En el laboratorio clínico con frecuencia encontramos cifras de PTH más elevadas que el límite superior de la normalidad, aunque con valores normales de creatinina o filtración glomerular, calcio y fósforo y que, por tanto, no se corresponden con un hiperparatiroidismo primario o secundario, dato que desconcierta al clínico. En muchos de

estos casos, el aumento de PTH va asociado a déficit de vitamina D, hecho cada vez más constatado en nuestra población y al que no se le ha prestado demasiada atención⁵⁻¹⁰. Los niveles de vitamina D se miden a través de los niveles del metabolito 25(OH) vitamina D (25OHD), que expresan el estatus de dicha vitamina en los pacientes¹¹. Hasta fecha reciente, la mayoría de las determinaciones de 25OHD no estaban convenientemente estandarizadas y los valores variaban mucho con los distintos métodos¹².

Por otra parte, resulta de gran interés conocer a partir de qué niveles de 25OHD se produce una elevación anormal de la PTH, pudiendo descartar otras causas probables de ese hiperparatiroidismo¹³.

Diversos estudios muestran una variación considerable entre los resultados de 25OHD obtenidos en el laboratorio por métodos diferentes: radio-inmunoensayo, electroquimioluminiscencia, HPLC y espectrometría tándem-masas^{9,10,14-16}. La variabilidad entre los métodos de los laboratorios

conduce a una mala asignación de los pacientes¹⁷, así como a una falta de estándares a la hora de aplicar una política sanitaria¹⁸. Todo esto dificulta establecer los niveles de vitamina D considerados normales y a partir de los que es probable que se produzca una subida anormal de PTH.

Debido a esto se ha puesto en marcha un programa de estandarización internacional (*Vitamin D Standardization Program*), en colaboración entre el NIH-ODS (*National Institutes of Health, Office of Dietary Supplements*), los centros de Control de las Enfermedades y Prevención (CDP) y el Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST). Esto ha dado lugar a la aparición de unos calibradores de referencia a disposición de los fabricantes de modo que los valores obtenidos sean los mismos para todos los métodos^{12,18}. Los calibradores de referencia están validados frente a la técnica de cromatografía líquido/tándem-masas, que sin duda es la más exacta de las existentes.

El objetivo de este estudio es determinar el valor de 25OHD por debajo del cual se produce un aumento anormal de valores de PTH. Resulta importante utilizar un método de determinación de 25OHD debidamente estandarizado con respecto al método gases masas, que es el patrón oro, dado que la mayor parte de los trabajos publicados hasta ahora en la literatura están hechos con métodos de determinación de 25OHD no debidamente estandarizados.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio descriptivo transversal retrospectivo llevado a cabo en el laboratorio de Bioquímica del Hospital Fundación Jiménez Díaz (Madrid).

Se analizaron de manera consecutiva todos los análisis de los pacientes a los que se les había pedido PTH, 25OHD, Ca y filtrado glomerular (FG) simultáneamente, durante el periodo de mayo del 2012 a noviembre de 2012 en dicho hospital.

En el estudio se incluyeron, de todos los pacientes analizados, sólo aquellos mayores de 18 años con FG mayor de 60 y valores séricos de calcio entre 8,4 mg/dl y 10,5 mg/dl simultáneamente. Por lo tanto, quedaron excluidos todos los pacientes con insuficiencia renal y valores anormales de calcio, para descartar un hiperparatiroidismo primario o secundario a insuficiencia renal.

Se creó una base de datos que contenía a todos los pacientes codificados en la que se recogían sus diferentes variables en estudio (edad, sexo, y parámetros analíticos), obtenidos de manera manual a través de los datos del laboratorio clínico del Hospital Fundación Jiménez Díaz.

Este estudio fue autorizado por el Comité Ético del Instituto de Investigación Sanitaria de la Fundación Jiménez Díaz. Dado que los datos fueron extraídos de una base de datos general del laboratorio de Bioquímica, sin tener nunca en cuenta el nombre de los pacientes, no ha sido

necesario obtener un consentimiento informado de los mismos.

La determinación de PTH se realizó por electroquimioluminiscencia en un aparato automático ADVIA CENTAUR (SIEMENS). Se consideraron anormales niveles de PTH mayores de 70 pg/ml. El rango de referencia proporcionado por la casa comercial es de 14-70 pg/ml. Al igual que los restantes métodos de segunda generación, éste mide la hormona intacta 1-84, con la interferencia cruzada de la PTH truncada a nivel amino-terminal. La sensibilidad del método es de 5 pmol/ml y los coeficientes de variación intra e inter-análisis son <7% y <10%, respectivamente.

La determinación de 25OHD se realizó por electroquimioluminiscencia en un autoanalizador Isys (IDS, UK), método de determinación de la vitamina debidamente estandarizado con respecto al método de gases-masas. La sensibilidad del método es de 4 ng/ml y los coeficientes de variación intra e inter-análisis son <5% y <7%, respectivamente.

Por el programa estadístico Stava versión 11 se calculó el valor de 25OHD por el que la PTH se elevaba más de 70 pg/ml con una sensibilidad y especificidad mayor, calculando el área bajo la curva ROC y comprobando que fuera estadísticamente significativa.

Se realizó también un análisis descriptivo de la muestra calculando el porcentaje de hombres y mujeres, la edad media y mediana. También se calcularon los porcentajes de pacientes con PTH por encima y por debajo de 70 pg/ml y los porcentajes de pacientes con 25OHD con diferentes valores (pacientes con vitamina D menores de 10, de 10 a menor de 24, de 24 a menor de 30 y pacientes con valores mayores de 30).

Se describieron las diferencias entre la población con PTH mayor y menor de 70 pg/ml mediante las pruebas de t de Student, Mann-Whitney y Chi-cuadrado.

Resultados

Se estudiaron un total de 9.225 pacientes, de los cuales 5.142 quedaron excluidos por ser menores de edad, tener insuficiencia renal o presentar valores anormales de calcio. Por lo tanto, sólo se incluyeron en el estudio un total de 4.083 pacientes, 2.858 mujeres (70%) y 1.225 (30%) varones, todos de edad superior a 18 años.

La edad media de la población fue 60,60 años con una desviación estándar de 15,29, y la mediana de la edad fue 62 años. La edad mínima fue de 18 años y la edad máxima de 100 años. El 74% de la población tenía una PTH por debajo o igual a 70 pg/ml (valores considerados normales) y el 26% mayor de 70 pg/ml. Los datos demográficos de los pacientes se encuentran reflejados en la tabla 1.

Con respecto a los niveles de 25OHD de nuestra población, sólo el 46,4% de la misma presentaba niveles de este metabolito superiores a 30 ng/ml, un 20,9% presentaba niveles entre 24 y 30 ng/ml, un 30% entre 10 y 23 ng/ml, y un 2,7% niveles ≤ 10 ng/ml (Figura 2).

Tabla 1. Datos demográficos y valores medios y mediana de PTH y 25(OH) vitamina D en una población de 4.083 pacientes, 2.858 mujeres y 1.225 varones, todos de edad ≥ 18 años

	Media	DS	P25	P75	Mediana
Edad (años)	60,69	15,29	51	72	62
PTH (pg/ml)	57,36	38,11	35,50	71,05	50,30
Vit D (ng/ml)	30,70	14,52	21	37	29

Tabla 2. Comparación de las medias de edad, calcio, 25-OH vitamina D, PTH y número de mujeres y varones según tengan valores de PTH mayores de 70 pg/ml, o menores o iguales a 70 pg/ml en una población de 4.083 pacientes, 2.848 mujeres y 1.225 varones

Variable	PTH ≤ 70		PTH > 70		Valor P
	Media	DS	Media	DS	
Edad (años)	59,3	15,5	64,6	12,9	<0,0001
Calcio (mg/dl)	9,57	3,80	9,52	4,10	0,7231
Vit D25 (ng/ml)	31,8	14,3	27,6	14,6	<0,0001
PTH (pg/ml)	42,5	15,3	99,8	50,0	<0,0001

	N	N
Mujer	2,123	735
Varón	900	325

En la descripción basal de la muestra no había diferencias clínicamente significativas en cuanto a valores de PTH dependiendo del sexo (Tabla 2). Sin embargo, sí hay diferencia significativa de edad entre los pacientes con valores normales y anormales de PTH (59,3 \pm 15,5 años *vs.* 64,6 \pm 13,9 años, $p < 0,001$), siendo de más edad los pacientes con PTH anormal y presentando, además, valores de 25OHD significativamente menores que los del grupo con PTH normal (Tabla 2).

Con los datos de los pacientes construimos la curva ROC de los niveles de 25OHD en función de tener valores de PTH por debajo o por encima de 70 pg/ml. Se obtuvo un área bajo la curva de 0,5962 ($p < 0,0001$), que nos demuestra que existe una relación entre 25OHD y PTH (Figura 1).

Al utilizar los valores de vitamina D para predecir valores de PTH por encima de 70 pg/ml, el mejor punto de corte teniendo en cuenta conjuntamente sensibilidad y especificidad fue 24 ng/ml (Figura 1).

En nuestra población, se halló que un 32,7% de la muestra presentaba unos valores de vitamina D menores de 24 ng/ml, de los cuales un 44,9% tenían valores de PTH mayores de 70 pmol/ml. Al dividir a los pacientes en 3 grupos de edad: de 18 a 40 años, entre 40 y 60 años y mayores de 60, se observó un hecho notable. En el grupo entre 18 y 24 años, de los pacientes con 25OHD menor de 24 ng/ml, sólo un 24% presentaban valores de PTH > 70 pg/ml. Entre los pacientes de 40-60 años,

el 33,7% de los pacientes con niveles bajos de 25OHD presentaban un valor elevado de PTH. Y en el grupo de pacientes de más edad (mayores de 60 años), llega a ser un 49% el grupo de pacientes con PTH > 70 pg/ml y 25OHD < 25 ng/ml. Es decir, que a medida que va siendo más avanzada la edad, la probabilidad de que un nivel de 25OHD bajo produzca una cifra elevada de PTH es mayor. No existe el mismo riesgo en todas las edades. Es también interesante destacar que, en nuestro trabajo, el porcentaje de pacientes con 25OHD < 24 ng/ml es el 32,7%, y son similares los porcentajes en los distintos rangos de edad: 33,2%, 31,7% y 32%, respectivamente. Es decir, en nuestra población no encontramos que exista un mayor porcentaje de pacientes con niveles de 25OHD bajos entre los mayores de 60 años.

Discusión

Nuestro trabajo muestra una asociación inversa entre niveles séricos de 25OHD y PTH. Otros autores han observado esta correlación¹⁹⁻²¹.

El valor de 25OHD que maximiza especificidad y sensibilidad, en cuanto a producir un aumento anormal de PTH, es de 24 ng/ml, valor superior al presentado en trabajos anteriores, que se encontraba alrededor de 18 ng/ml²².

Dado que este estudio corrobora el hecho de que un déficit de vitamina D puede producir una elevación anormal de los valores de PTH, consideramos importante, en la práctica clínica, determi-

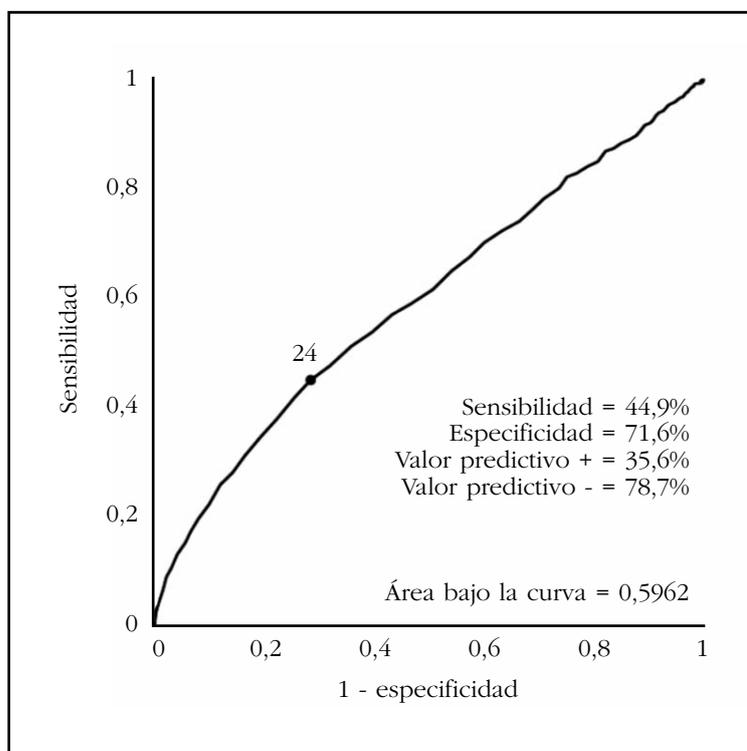
nar los niveles de 25OHD en aquellos pacientes en que se hallen valores de PTH anormalmente altos sin causa aparente, para descartar un hiperparatiroidismo secundario a un déficit de vitamina D. Este hecho podría corregirse suplementando a los pacientes con la vitamina de D necesaria, evitando así el agravamiento de enfermedades producidas por la elevación de la PTH, como es el caso de la osteoporosis¹⁹.

El problema de los estudios realizados hasta la actualidad es que se han utilizado diferentes métodos de determinación de 25OHD no debidamente estandarizados, por lo que había una gran variación entre los resultados de 25(OH)D obtenidos, y era difícil establecer los niveles de vitamina D considerados normales y a partir de los cuales era probable que se produjera un aumento anormal de PTH. Las diferentes técnicas de laboratorio utilizadas para determinar la vitamina D son: radio-inmunoensayo, electroquimioluminiscencia, HPLC o cromografía lipídica y espectrometría tándem-masas. Actualmente la técnica que se considera más correcta es la de cromatografía líquido/tándem-masas, que sin dudas es la más exacta de las existentes¹¹ y hay calibradores de referencia validados frente a esta técnica. En este estudio se ha utilizado electroquimioluminiscencia en un autoanalizador Isys (IDS, UK), debidamente estandarizado con respecto gases-masas, por lo que los resultados obtenidos se consideran válidos, y comparables a los estudios realizados con otros métodos que estén bien calibrados.

En la mayoría de los estudios realizados sobre la vitamina D hasta la fecha no se discute el método utilizado, ni se especifica si el método está calibrado con respecto a la técnica de gases-masas, lo que no permite saber si los resultados de los valores de vitamina D hallados en los estudios son correctos y si se podrían extrapolar a la población general y podrían ser aplicados a la práctica clínica una vez que el clínico encuentra unos determinados valores en los análisis clínicos de sus pacientes.

En un grupo de mujeres postmenopáusicas, Capatina *et al.*²³ observaron que el 27,2% de los casos con deficiencia de vitamina D presentaban hiperparatiroidismo secundario, porcentaje menor que el encontrado por nosotros, el 44,9%. Laroche *et al.*²⁴ observaron que el 13% de pacientes con 25OHD <30 ng/ml presentaban hiperparatiroidismo secundario. Sin embargo, Sadat Ali *et al.*²⁵

Figura 1. Curva ROC obtenida al relacionar los valores de PTH y 25(OH) vitamina D en una población de 4.083 pacientes, 2.858 mujeres y 1.225 hombres, de edad ≥18 años, con calcio y fósforo normales y sin insuficiencia renal. En la parte inferior se muestra el número de pacientes con niveles de 25(OH) vitamina D mayores o iguales a 24 ng/ml y menores de 24 ng/ml, y con PTH mayor y menor o igual a 70 pg/ml

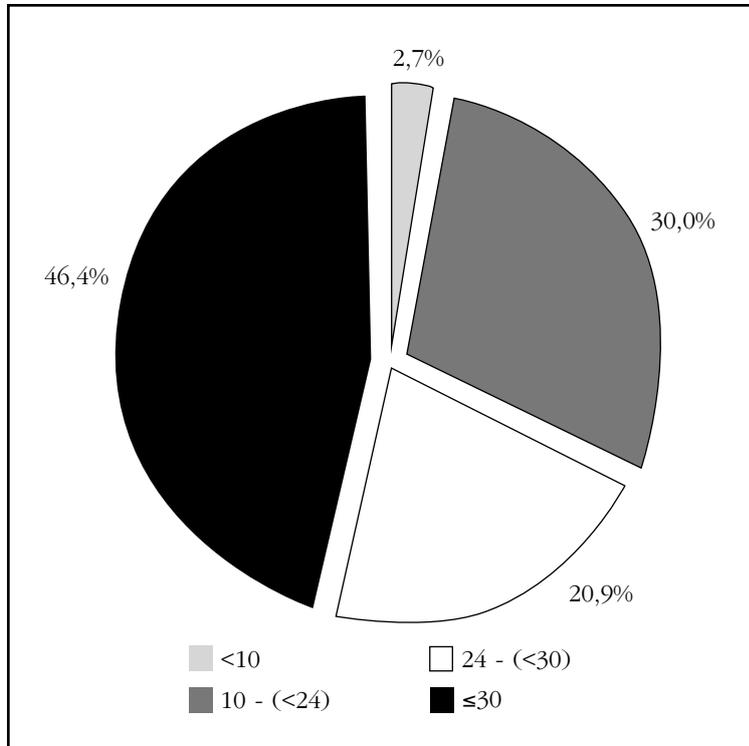


Vit D (ng/ml)	PTH (pg/ml)	
	≤70	>70
<24	860	476
≥24	2.163	584

encontraron en 200 pacientes (150 mujeres y 50 hombres entre 18 y 69 años) que todos los pacientes con deficiencia de vitamina D, cuya determinación se había realizado por gases-masas, presentaban hiperparatiroidismo secundario.

Como hemos mencionado anteriormente, los resultados de este estudio, realizado con un método debidamente calibrado, muestran que un 44,9% de pacientes con niveles de 25OHD <24 ng/ml presentaban valores de PTH en suero >70 pg/ml, sin otras causas que lo justifiquen. Este porcentaje es menor en la población entre 18 y 40 años, y mayor en la población >60 años. Parece, por tanto, importante que el clínico trate con suplementos de vitamina D a aquellos pacientes con niveles de 25OHD <24 ng/ml en orden a evitar un posible hiperparatiroidismo secundario al déficit de vitamina D. Para poder establecer un punto de corte, es importante que los métodos de determinación de 25OHD estén debidamente estandarizados con respecto a la técnica de gases-masas.

Figura 2. Grupos de pacientes con valores de 25(OH) vitamina D menores de 10 ng/ml, entre 10 y 24 ng/ml, entre 24 y 30 ng/ml y mayores de 30 ng/ml, de una población de 4.083 pacientes, 2.858 mujeres y 1.225 hombres, de edad ≥ 18 años, con calcio y fósforo normales y sin insuficiencia renal



Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener conflictos de intereses

Bibliografía

- Quesada Gómez JM, Navarro Valverde C. Niveles inadecuados de vitamina D: no es una D-liciosa perspectiva. *Rev Osteoporos Metab Miner.* 2013;5:65-6.
- Shoji T, Nishizawa Y. Chronic kidney disease (CKD) and bone. Pleiotropic actions of vitamin D and survival advantage. *Clin Calcium.* 2009;19:514-21.
- Rubert M, Montero M, De la Piedra C. Niveles muy descendidos de 25(OH) vit D en pacientes sometidos a cirugía bariátrica. *Rev Esp Enfer Metab Óseas.* 2007;16:103.
- Rojas Rivera J, De la Piedra C, Ramos A, Ortiz A, Egido J. The spanning spectrum of biological actions of vitamin D. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25:2850-65.
- Muñoz-Torres M, Sosa Henríquez M. Situación actual de los niveles de vitamina D en la población española. *Rev Esp Enfer Metab Óseas.* 2005;14 (Supl.1):17-20.
- Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007;357:266-81.
- Van Schoor NM, Lips P. Worldwide vitamin D status: Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2011;25:671-80.
- 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 for raloxifene evaluation clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:1212-21.
- Valcour A, Blocki F, Hawkins DM, Rao SD. Effect of age and serum 25-OH vitamin D on serum parathyroid hormone levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:3989-95.
- Garg MK, Tandon N, Marwaha RK, et al. The relationship between serum 25-hydroxy vitamin D, parathormone and bone mineral density in Indian population. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2014;80:41-6.
- Ofenloch-Haehnle B. Approaches to measurement of Vitamin D concentrations-immunoassays. *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 2012;243:50-3.
- Thienpont LM, Stepman CM, Vesper HW. Standardization measurements of 25-hydroxyvitamin D₃ and D₂. *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 2012;243:41-9.
- Ortigosa Gómez S, García-Algar O, Mur Sierra A, Ferrer Costa R, Carrascosa Lezcano A, Yeste Fernández D. Concentraciones plasmáticas de 25-OH vitamina D y parathormona en sangre de cordón umbilical. *Rev Esp Salud Pública.* 2015;89:75-83.
- Kushnir MM, Ray JA, Rockwood AL, Roberts WL, La'ulu SL, Whittington JE, et al. Rapid analysis of 25-Hydroxyvitamin D₂ and D₃ by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry and Association of Vitamin D and Parathyroid Hormone Concentrations in Healthy Adults. *Am J Clin Pathol.* 2010;134:148-56.
- Moon HW, Cho JH, Hur M, Song J, Oh GY, Park CM, et al. Comparison of four current 25-hydroxyvitamin D assays. *Clin Biochem.* 2012;45:326-30.
- Binkley N, Krueger DC, Morgan S, Wiebe D. Current status of clinical 25-Hydroxyvitamin D measurement: an assessment of between-laboratory agreement. *Clin Chim Acta.* 2010;411:1976-82.
- Binkley N, Krueger D, Cowgill CS, Plum L, Lake E, Hansen KE, et al. Assay variation confounds the diagnosis of hypovitaminosis D: a call for standardization. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:3152-7.
- Barake M, Daher RT, Salti I, Cortas NK, Al-Shaar L, Habib RH, et al. 25-Hydroxyvitamin D assay variations and impact on clinical decision making. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:835-43.
- Zhang Q, Shi L, Peng N, Xu S, Zhang M, Zhang S, et al. Serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D and its association with bone mineral density and serum parathyroid hormone levels during winter in urban males for Guiyan, Southwest China. *Br J Nutr.* 2016;4:1-7.
- Olmos JM, Hernández JL, García Velasco P, Martínez J, Llorca J, González-Macías J. Serum 25-hydroxyvitamin D, parathyroid hormone, calcium intake and bone mineral density in Spanish adults. *Osteoporosis Int.* 2016;27:105-13.
- El Badawy AA, Aboserea MM, El Seifi OS, Mortada EM, Bakry HM, Waly EH, et al. Vitamin D, parathormone and associated minerals among students in Zagazig district, Sharkia Governorate, Egypt. *Int J Vitam Nutr Res.* 2014;84:3-4.
- Hawkins F. La vitamina D y el hueso. *Rev Esp Enf Metab Óseas.* 2007;16:45-7.
- Capatina C, Carsote M, Caragheorgheopol A, Poiana C, Berteanu M. Vitamin D deficiency in postmenopausal women- biological correlates. *Maedica (Buchar).* 2014;9:316-22.
- Laroche M, Nigon D, Gennero I, Lassoued S, Pouilles JM, Trémolières F, et al. Vitamin D deficiency prediction by patient questionnaire and secondary hyperparathyroidism in a cohort of 526 healthy subjects in their fifties. *Presse Med.* 2015;44(7-8):e283-90.
- Sadat-Ali M, Al-Omran AS, Al-Turki HA. Parathyroid glands response to low vitamin D levels in healthy adults: a cross-sectional study. *Ulster Med J.* 2015;84:26-9.