

Vitamina D: risultati di uno studio osservazionale in età geriatrica*

Annalisa Timpini¹, Stefania Cossi¹, Giovanna Bugari², Carmelo Iacobello², Luigi Caimi³

¹Unità di Geriatria per Acuti, Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Università degli Studi, Brescia

²Dipartimento di Diagnostica di Laboratorio, Azienda Ospedaliera Spedali Civili, Brescia

³Cattedra di Biochimica Clinica, Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologie, Università degli Studi, Brescia

ABSTRACT

Vitamin D: an observational study in elderly. Vitamin D has gained a great interest over the last few years for two main reasons: 1) many epidemiological studies have shown a widespread deficit of vitamin D at every age; 2) many organs and tissues have vitamin D receptors. In the present study, we evaluated concentrations of vitamin D in 225 elderly subjects admitted to a rehabilitation unit in the North of Italy; we also assessed nutritional status (including body composition measured by bioelectrical impedance analysis) and inflammatory status (fibrinogen and C-reactive protein). Analysis was carried out by age, gender, timing of blood sample (summer vs. winter), nutritional and inflammatory status. We found a high rate (77.3%) of vitamin D deficit (in many cases of severe deficit) in our elderly population; a slight inverse correlation between fibrinogen and vitamin D was also found.

INTRODUZIONE

Raramente capita di osservare una persistente esplosione di interesse quale quella offerta dalla vitamina D nell'ultimo quinquennio sulle più qualificate riviste internazionali (2-11). Vitamina D non più solo correlata alla "salute dell'osso", ma anche a malattie cardiovascolari (12-14), pneumopatie acute e croniche (15, 16), fino al deficit cognitivo (17, 18), passando attraverso neoplasie (19-21), malattie autoimmuni (22-24) e tubercolosi polmonare (25). Per finire con i dati relativi alla mortalità generale e cardiovascolare, per le quali la vitamina D sembrerebbe essere un fattore di rischio indipendente (26).

Come sempre, necessitano adeguati tempi di sedimentazione; tuttavia, un dato appare certo: il panorama (l'antico mondo) della vitamina D risulta definitivamente trasformato. La vitamina D ha assunto una nuova dimensione clinico-biologica. Di ciò sono principalmente responsabili le numerose indagini epidemiologiche (negli USA e in Europa) che hanno documentato una diffusa carenza di vitamina D a tutte le età – particolarmente in età geriatrica e la scoperta (negli ultimi 30 anni) di recettori per la vitamina D (VDR) in numerosi organi e tessuti che testimoniano l'esistenza di molteplici funzioni extra-osssee di questa vitamina.

La vitamina D esiste in due forme distinte:

- vitamina D₂ (ergocalciferolo), molecola a 28 atomi di carbonio, che si forma per azione dei raggi UV sulla sua forma pro-vitaminica di origine vegetale (ergosterolo);
- vitamina D₃ (colecalciferolo), molecola a 27 atomi di carbonio, derivata dal 7-deidrocolesterolo e prodotta nella cute per azione dei raggi UV.

La vitamina D₂ differisce dalla D₃ perché contiene un extra-gruppo metilico ed un doppio legame tra gli atomi di carbonio in posizione 22-23. Entrambe sono estremamente stabili nel plasma ed è stato definitivamente chiarito che, nell'uomo, la vitamina D₂ è molto meno attiva della D₃ (27).

Il dosaggio della vitamina D ha alle spalle una lunga e difficile storia (28): dal "competitive protein binding assay" al metodo radioimmunologico, fino agli attuali metodi di valutazione diretta [HPLC e cromatografia liquida-spettrometria di massa (LC-MS)].

Generale è oggi il consenso che la 25-idrossivitamina D₃ [25(OH)D₃], correntemente determinata nel siero, indica lo stato della vitamina D nell'organismo. Il composto, metabolicamente inattivo, viene trasformato dal rene nella sua forma attiva finale: 1-25-diidrossivitamina D₃ [1,25(OH)₂D₃]. Un problema molto dibattuto, ed ora avviato a soluzione con larghi consensi, è quello relativo alla definizione degli intervalli di riferimento della vitamina D plasmatica. La consistente esperienza accumulata in questo settore ha modificato il preesistente scenario. Se non esistono dubbi sul fatto che il dosaggio della 25(OH)D₃ nel siero costituisca la stima più valida per definire lo stato della vitamina D, in studi di popolazione questa misura non è priva di limitazioni. Infatti, una sola misura nel corso dell'anno non riflette lo stato della vitamina D del soggetto (a motivo delle importanti variazioni estate-inverno); i valori di cut-off possono variare in base agli obiettivi che si scelgono; questi possono essere:

- fisiologici: livelli plasmatici di paratormone (PTH), ottimale assorbimento intestinale di calcio, salute dell'osso ("bone mineral density");
- clinici: definizione dei livelli di vitamina D dai quali ci si possano ragionevolmente attendere misurabili

*"Biomarkers currently available show that vitamin D deficiency is a major public health problem in any part of the world that requires urgent attention" (1).

benefici clinici, quali prevenzione delle cadute/fratture, ottimizzazione della funzione muscolare (arti inferiori in particolare), prevenzione del carcinoma colon-rettile (elevate concentrazioni di vitamina D possono contribuire a ridurre il rischio di questa patologia).

Inoltre, si va sempre più acquisendo coscienza che le concentrazioni plasmatiche di 25(OH)D3 andrebbero considerate nel contesto del genotipo. Non è ancora del tutto chiarito in che misura le variazioni geneticamente indotte delle proteine coinvolte nel trasporto e nella funzione della vitamina D [(“vitamin D binding protein” (DPB) e VDR)] concorrono alla definizione dello stato della vitamina D nel singolo soggetto.

Si può tuttavia affermare, sulla base di numerosi studi condotti in questi ultimi anni, che la fisiologia si stia riconciliando con la clinica (29-31). Infatti, le concentrazioni di PTH risultano stabili fino a concentrazioni di vitamina D attorno ai 30 $\mu\text{g/L}$ (al di sotto cominciano ad aumentare: iperparatiroidismo secondario); l'assorbimento intestinale di calcio (notoriamente vitamina D-dipendente) è massimo per valori di vitamina D attorno a 80 nmol/L (32 $\mu\text{g/L}$); per il raggiungimento dei principali obiettivi clinici, i valori ottimali di vitamina D si aggirano attorno ai 40 $\mu\text{g/L}$. In conseguenza di tutto questo, il vecchio limite inferiore di riferimento (LIR) (20 $\mu\text{g/L}$) è stato innalzato ed hanno preso consistenza le “nuove dimensioni” della vitamina D con ovvi riflessi terapeutici: per raggiungere gli effetti sopra indicati siamo passati dalla somministrazione media di 400 UI al giorno alle 1000-1200 UI attualmente consigliate (32). Nella Figura 1 sono schematizzati gli attuali livelli decisionali della misura della 25(OH)D3.

Il presente studio si colloca nell'ambito di un proget-

to più vasto (Progetto Anziano: Gussago-Brescia, settembre 2007 – dicembre 2008) finalizzato a fotografare la realtà clinico-funzionale di una riabilitazione geriatrica, con particolare attenzione alla valutazione dello stato nutrizionale, della composizione corporea, dello stato infiammatorio e della funzione cardio-respiratoria nel soggetto anziano. Lo studio è stato condotto nell'area geografica di Gussago, situata a 45,4° di latitudine Nord.

MATERIALI E METODI

Nell'ambito di pazienti ammessi in riabilitazione geriatrica (per instabilità posturale e della marcia, sindromi ipocinetiche da allettamento, atrofia muscolare da non uso) è stata dosata la concentrazione sierica di 25(OH)D3 nei pazienti che rispondevano ai seguenti criteri: assenza di malattie sistemiche in fase acuta, assenza di grave decadimento cognitivo, normalità della funzione epatica e renale.

La 25(OH)D3 è stata dosata con metodica HPLC (Agilent Technologies, reagenti Bio-Rad), con imprecisione totale (CV) <4% e limite di rivelabilità pari a 5 $\mu\text{g/L}$.

Per valutare lo stato nutrizionale della popolazione oggetto di studio, abbiamo preso in considerazione, quale indice antropometrico, il “body mass index” (BMI), risultato del rapporto tra il peso in kg e il quadrato dell'altezza espressa in metri (kg/m^2). La composizione corporea è stata valutata attraverso la “bioimpedance analysis” (BIA) (Akern RJL System), una metodica che ha avuto una progressiva, crescente diffusione negli ultimi anni anche in età geriatrica (33-35). La BIA è una metodica semplice, non invasiva, poco costosa, indipendente dalla cooperazione del paziente, in grado di fornire stime

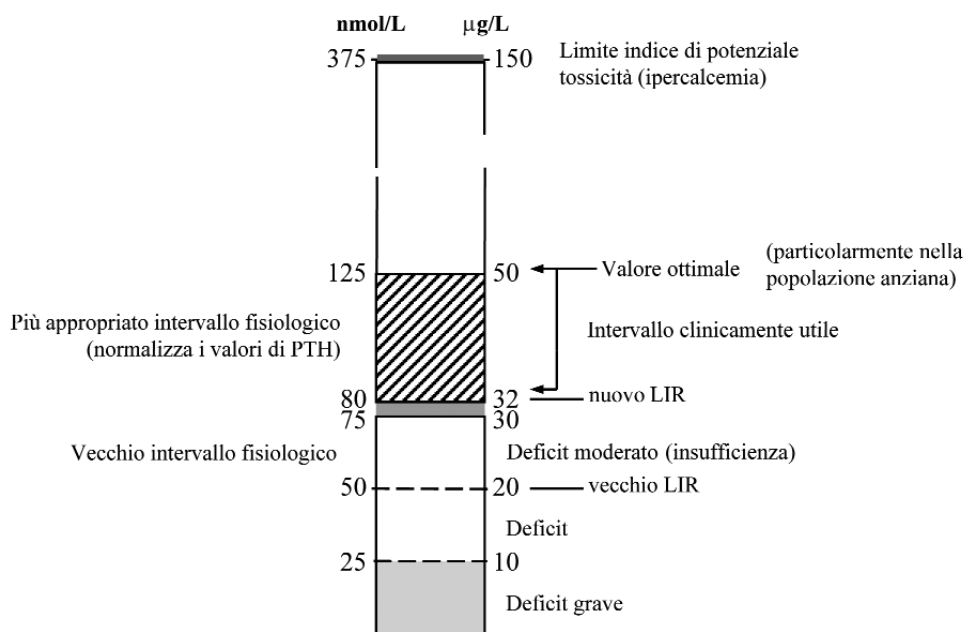


Figura 1

Livelli decisionali per l'impiego clinico della determinazione della 25-idrossivitamina D3. PTH, ormone paratiroideo; LIR, limite inferiore di riferimento.

attendibili e clinicamente utili della composizione corporea: massa grassa, massa magra, acqua corporea (intra ed extra cellulare). La tecnica bioimpedenziometrica si basa sul principio per cui i tessuti biologici si comportano come conduttori, semiconduttori o dielettrici (isolanti). Viene misurata l'impedenza dell'organismo in toto, ossia l'opposizione che esso offre al passaggio di una corrente alternata ad una frequenza fissa (50 kHz). Nel nostro studio tra i vari parametri BIA, abbiamo utilizzato il "fat-free mass index" (F-FMI). La "fat-free mass" (massa magra + tessuto osseo) rappresenta la quota di tessuti biologicamente attivi e per ottenere il F-FMI viene normalizzata per l'altezza espressa in metri (kg/m^2). In base ai valori di F-FMI e BMI abbiamo suddiviso la popolazione in 6 sottogruppi; i valori di riferimento sono stati ottenuti dal gruppo di Maastricht (36, 37).

Nei pazienti arruolati è stata anche eseguita la determinazione delle concentrazioni plasmatiche dei seguenti indici infiammatori: proteina C-reattiva (PCR) e fibrinogeno. Per il dosaggio della PCR è stata utilizzata una metodica immunoturbidimetrica (Modular P - Roche); il fibrinogeno è stato valutato mediante il metodo funzionale di Clauss modificato (strumentazione BCF - Siemens).

Per l'analisi statistica sono stati utilizzati il test *t* di Student, l'analisi univariata della varianza (ANOVA), il test χ^2 ed un modello di regressione lineare. I dati sono presentati come $\text{media} \pm \text{DS}$; sono stati considerati statisticamente significativi valori di $P < 0,05$. L'analisi è stata condotta con l'utilizzo del "software" statistico STATA10.

RISULTATI

Sono stati selezionati 225 pazienti, 51 (22,7%) uomini e 174 (77,3%) donne; l'età media è risultata pari a $79,5 \pm 5,8$ anni. Le fasce d'età maggiormente rappresentate erano quelle dai 75 agli 80 anni (36,9%) e dagli 80 agli 85 anni (24%).

Nel campione, il valore medio di 25(OH)D3 è risultato pari a $22,8 \pm 20,9$ $\mu\text{g}/\text{L}$, con un intervallo compreso tra 5 $\mu\text{g}/\text{L}$ e 102 $\mu\text{g}/\text{L}$. La concentrazione sierica media di 25(OH)D3 è risultata sovrapponibile tra i due sessi ($22,4 \pm 20,4$ nei maschi vs. $23,0 \pm 21,1$ $\mu\text{g}/\text{L}$ nelle femmine; $P=0,855$). La distribuzione dei valori di 25(OH)D3 nell'intero campione è riportata nella Figura 2.

Abbiamo riscontrato una tendenza a concentrazioni decrescenti di vitamina D con l'aumentare dell'età. Si passava infatti da valori di $25,1 \pm 22,1$ $\mu\text{g}/\text{L}$ al di sotto dei 70 anni a valori di $19,0 \pm 15,6$ $\mu\text{g}/\text{L}$ in soggetti di età superiore agli 85 anni, anche se tale tendenza non era statisticamente significativa ($P=0,782$).

I pazienti con concentrazioni di 25(OH)D3 >30 $\mu\text{g}/\text{L}$ sono risultati pari al 22,7% del totale, con sostanziale sovrapponibilità nei due sessi (21,6% nei maschi, 23% nelle femmine).

La differenza stagionale nelle concentrazioni di 25(OH)D3 dei soggetti giunti in osservazione nel periodo maggio-ottobre ($n=103$) rispetto a quelli osservati in novembre-aprile ($n=122$) risultava particolarmente marcata ($34,4 \pm 25,3$ vs. $13,1 \pm 7,8$; $P < 0,001$). Di conseguenza, la percentuale di casi con 25(OH)D3 >30 $\mu\text{g}/\text{L}$ risul-

tava più elevata nel periodo estivo (44,7%) che in quello invernale (4,1%). La maggior parte dei soggetti con valori >80 $\mu\text{g}/\text{L}$ assumeva supplementi di calcio-vitamina D.

La Figura 3 mostra la suddivisione della popolazione in base allo stato nutrizionale e la Tabella 1 riporta i valori di 25(OH)D3 nei diversi sottogruppi nutrizionali in funzione della stagione di prelievo.

Nei soggetti studiati era ottenuto un valore di PCR pari a $1,0 \pm 1,5$ mg/L . Il fibrinogeno risultava pari a $4,82 \pm 1,29$ g/L . I valori di 25(OH)D3 sono risultati statisticamente più bassi nei soggetti con valori di fibrinogeno $\geq 3,40$ g/L ($21,8 \pm 20,3$ vs. $30,2 \pm 23,7$ $\mu\text{g}/\text{L}$; $P < 0,05$). In un modello di regressione lineare la correlazione tra fibrinogeno e 25(OH)D3 è risultata statisticamente significativa ($P < 0,001$).

DISCUSSIONE

I risultati di questo studio dimostrano un'elevata percentuale di carenza (spesso di deficit grave) di vitamina D in età geriatrica: utilizzando i criteri presentati nella Figura 1 ed indipendentemente dal sesso, il 77% della popolazione studiata risultava carente in vitamina D. Questo è in sostanziale accordo con quanto riportato dalla letteratura relativamente allo stato della vitamina D in età geriatrica (38-44). La popolazione anziana è particolarmente a rischio di sviluppare ipovitaminosi D (e le relative complicanze cliniche, principalmente a livello osteo-muscolare). Con l'avanzare dell'età si riduce sia il numero di VDR che l'attività dell'enzima 1- α idrossilasi renale (45); inoltre, la cute di un soggetto anziano, più sottile, contiene meno 7-deidrocolesterolo. L'esposizione al sole (principale fonte di produzione di questa vitamina) comporta una ridotta produzione di vitamina D (circa il 25%) rispetto al giovane (46). A ciò si aggiunge nell'anziano, il modificato stile di vita (ridotta attività fisica all'aperto), che ulteriormente aggrava il deficit di questa vitamina. Le conseguenze clinico-funzionali della ipovitaminosi D nell'anziano riguardano principalmente l'apparato osteo-muscolare: riduzione di massa ossea e di prestazione muscolare (rischio di cadute e relative fratture). Il

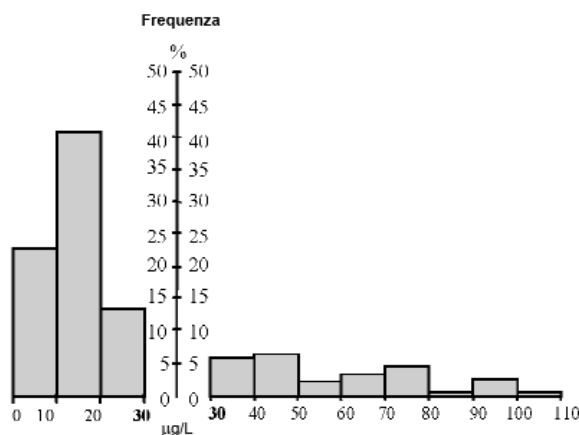


Figura 2
Distribuzione delle concentrazioni di 25-idrossivitamina D3 nell'intero campione studiato ($n=225$).

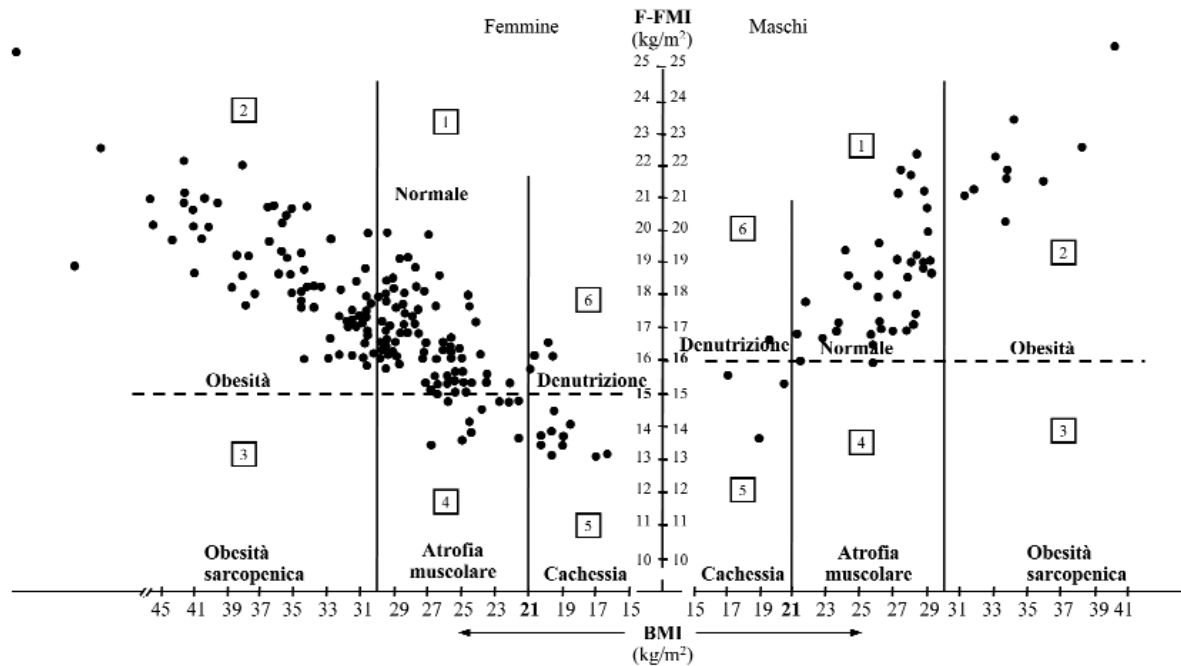


Figura 3

Valutazione dello stato nutrizionale nei soggetti studiati. I criteri di classificazione adottati sono tratti dal rif. 36. BMI, body mass index; F-FMI, fat-free mass index.

Tabella 1

Concentrazioni (media \pm DS) della 25-idrossivitamina D3 (μ g/L) nei soggetti suddivisi in funzione dello stato nutrizionale

Stato nutrizionale	n	Estate	n	Inverno
Normale	40	34,9 \pm 28,2	51	13,5 \pm 8,3
Obesità	36	34,3 \pm 25,7	44	12,3 \pm 7,9
Obesità sarcopenica	-	-	-	-
Atrofia muscolare	13	29,7 \pm 18,6	10	14,2 \pm 7,9
Cachessia	5	45,0 \pm 31,5	7	9,9 \pm 3,1
Denutrizione	2	46,0 \pm 21,2	2	15,0 \pm 5,6

Nota: per 15 pazienti non erano disponibili i dati nutrizionali necessari per inquadrarli in uno dei 6 gruppi.

rischio aumenta con l'avanzare dell'età: nei centenari le concentrazioni plasmatiche di vitamina D sono spesso indosabili (47).

Nella nostra popolazione molto marcate appaiono le differenze stagionali. In un precedente studio italiano, il rapporto tra le concentrazioni di vitamina D in estate e in inverno era pari a 2:1 in entrambi i sessi, risultato un poco inferiore rispetto a quello da noi osservato (48). Per assicurare un livello fisiologico di vitamina D durante tutto l'anno, i valori invernali dovrebbero essere inferiori di non più di un terzo rispetto a quelli estivi.

Nella casistica studiata lo stato nutrizionale non pare influenzare le concentrazioni plasmatiche di vitamina D, ad ulteriore dimostrazione che l'apporto di questa vitamina con la dieta (supplementi a parte) scarsamente influen-

sce sullo stato della vitamina D nell'organismo. In particolare, nel nostro campione i soggetti obesi non mostrano concentrazioni di vitamina D differenti da quelli degli altri gruppi con BMI inferiore. Nel "Longitudinal Aging Study Amsterdam" è stato osservato che un aumento del grasso corporeo correla inversamente con i valori di vitamina (49). Appare ragionevole che l'obesità possa costituire un fattore di rischio per l'ipovitaminosi D: la vitamina D, liposolubile, tende ad immagazzinarsi nelle cellule adipose, diventando così inattiva. Più consistenti studi su casistiche di obesi appaiono necessarie per poter trarre conclusioni definitive.

Da questo studio emerge, infine, qualche influenza sulle concentrazioni di vitamina D da parte dello stato infiammatorio, sia pure limitatamente ai valori di fibrinogeno. Quello di un potenziale effetto anti-infiammatorio della vitamina D è un aspetto che merita di essere esplorato con mezzi idonei (tra questi, lo studio delle citochine, "tumor necrosis factor"- α ed interleuchina 6), stanti le possibili ricadute cliniche. In pazienti con scompenso cardiaco è stato recentemente dimostrato che la supplementazione con vitamina D induce un miglioramento del profilo delle citochine (50). Il possibile effetto anti-infiammatorio della vitamina riveste importanza clinica anche alla luce di possibili effetti sinergici, recentemente evidenziati, tra vitamina D e statine (51, 52).

Questo studio presenta alcuni limiti che è doveroso segnalare: innanzitutto il campione di pazienti ricoverati in riabilitazione geriatrica è solo parzialmente rappresentativo della popolazione anziana generale; in secondo luogo, lo stato infiammatorio è stato solo parzialmente valutato (fibrinogeno e PCR) e meriterebbe sicuramente

ulteriori approfondimenti.

In conclusione, il nostro studio ribadisce l'importanza della valutazione dello stato della vitamina D in età geriatrica e suggerisce la necessità di somministrare nell'anziano idonei supplementi di vitamina D per ottenere misurabili benefici clinici. La vitamina D può essere infatti somministrata (senza rischio di effetti collaterali) fino a 10.000 UI/die (53).

RINGRAZIAMENTI

Un ringraziamento al Prof. Vittorio Grassi per il determinante contributo fornito alla realizzazione di questo studio ed alla Fondazione della Comunità Bresciana per il contributo fornito al Progetto Anziano nel cui ambito questo studio è stato realizzato.

BIBLIOGRAFIA

1. Brannon PM, Yetley EA, Bailey RL, et al. Overview of the conference "Vitamin D and health in the 21st century: an update". *Am J Clin Nutr* 2008;88:483S-90S.
2. Raiten DJ, Picciano MF. Vitamin D and health in the 21st century: bone and beyond. Executive summary. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1673S-7S.
3. Holick MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin Proc* 2006;81:353-73.
4. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-81.
5. Hathcock JN, Shao A, Vieth R, et al. Risk assessment for vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2007;85:6-18.
6. Coates PM, Dwyer JT, Thurn AL. Introduction to NIH State-of-the-science Conference Statement: Multivitamin/Mineral supplements and chronic disease prevention. *Am J Clin Nutr* 2007;85:255S-64S.
7. Souberbielle JC, Prié D, Courbebaisse M, et al. Update on vitamin D and evaluation of vitamin D status. *Ann Endocrinol* 2008;69:501-10.
8. Chun RF, Adams JS, Hewison M. Back to the future: a new look at "old" vitamin D. *J Endocrinol* 2008;198:261-9.
9. Giovannucci E. Expanding roles of vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:418-20.
10. Schleithoff SS, Zittermann A, Tenderich G, et al. Vitamin D supplementation improves cytokine profiles in patients with congestive heart failure: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2006;83:754-9.
11. Michos ED, Melamed ML. Vitamin D and cardiovascular disease risk. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2008;11:7-12.
12. Lee JH, O'Keefe JH, Bell D, et al. Vitamin D deficiency an important, common, and easily treatable cardiovascular risk factor? *J Am Coll Cardiol* 2008;52:1949-56.
13. Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, et al. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation* 2008;117:503-11.
14. Wallis DE, Penckofer S, Sizemore GW. The "sunshine deficit" and cardiovascular disease. *Circulation* 2008;118:1476-85.
15. Ginde AA, Mansbach JM, Camargo CA Jr. Association between serum 25-hydroxyvitamin D level and upper respiratory tract infection in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med* 2009;169:384-90.
16. Janssens W, Lehouck A, Carremans C, et al. Vitamin D beyond bones in chronic obstructive pulmonary disease. Time to act. *Am J Respir Crit Care Med* 2009;179:630-6.
17. McCann JC, Ames BN. Is there convincing biological or behavioral evidence linking vitamin D deficiency to brain dysfunction? *FASEB J* 2008;22:982-1001.
18. Lee DM, Tajar A, Ulubaev A, et al. Association between 25-hydroxy vitamin D levels and cognitive performance in middle-aged and older European men. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009;80:722-9.
19. Holick MF. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am J Clin Nutr* 2004;79:362-71.
20. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1678S-88S.
21. Lappe JM, Travers-Gustafson D, Davies KM, et al. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr* 2007;85:1586-91. Erratum in: *Am J Clin Nutr* 2008;87:794.
22. Cantorna MT, Zhu Y, Froicu M, et al. Vitamin D status, 1,25-dihydroxyvitamin D₃, and the immune system. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1717S-20S.
23. Cantorna MT. Vitamin D and multiple sclerosis: an update. *Nutr Rev* 2008;66:S135-8.
24. Liu E, Meigs JB, Pittas AG, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D is associated with markers of the insulin resistant phenotype in nondiabetic adults. *J Nutr* 2009;139:329-34.
25. Nnoaham KE, Clarke A. Low serum vitamin D levels and tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *Int J Epidemiol* 2008;37:113-9.
26. Dobnig H, Pilz S, Scharnagl H, et al. Independent association of low serum 1-25 dihydroxy vitamin D levels with all-cause and cardiovascular mortality. *Arch Intern Med* 2008;168:1340-9.
27. Armas LA, Hollis BW, Heaney RP. Vitamin D₂ is much less effective than vitamin D₃ in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:5387-91.
28. Hollis BW. Measuring 25-hydroxyvitamin D in a clinical environment: challenges and needs. *Am J Clin Nutr* 2008;88:507S-10.
29. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, et al. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr* 2006;84:18-28. Erratum in: *Am J Clin Nutr* 2006;84:1253.
30. Millen AE, Bodnar LM. Vitamin D assessment in population-based studies: a review of the issues. *Am J Clin Nutr* 2008;87:1102S-5S.
31. Zerwekh JE. Blood biomarkers of vitamin D status. *Am J Clin Nutr* 2008;87:1087S-91S.
32. Weaver CM, Fleet JC. Vitamin D requirements: current and future. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1735S-9S.
33. Ellis KJ. Human body composition: in vivo methods. *Physiol Rev* 2000;80:649-80.
34. Lupoli A, Sergi G, Coin A, et al. Body composition in underweight elderly subjects: reliability of bioelectrical impedance analysis. *Clin Nutr* 2004;23:1371-80.
35. Foster KR, Lukaski HC. Whole body impedance: what does it measure? *Am J Clin Nutr* 1996;64:388S-96S.
36. Schols AM, Broekhuizen R, Weling-Scheepers CA, et al. Body composition and mortality in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Clin Nutr* 2005;82:53-9.
37. Schols AM. Nutritional rehabilitation: from pulmonary cachexia to sarcoPD. *Eur Resp J* 2009;33:949-50.
38. Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocr Rev* 2001;22:477-501.
39. Dhesi JK, Jackson SH, Bearne LM, et al. Vitamin D supplementation improves neuromuscular function in older people who fall. *Age Ageing* 2004;33:589-95.

40. Mosekilde L. Vitamin D and the elderly. *Clin Endocrinol* 2005;62:265-81.
41. Visser M, Deeg DJH, Puts MTE, et al. Low serum concentration of 25-hydroxyvitamin D in older persons and the risk of nursing home admission. *Am J Clin Nutr* 2006;84:616-22.
42. Lanske B, Razzaque MS. Vitamin D and aging: old concepts and new insights. *J Nutr Biochem* 2007;18:771-7.
43. Dawson-Hughes B. Serum 25-hydroxyvitamin D and functional outcomes in the elderly. *Am J Clin Nutr* 2008;88:537S-40S.
44. Bacon CJ, Gamble GD, Horne AM, et al. High-dose oral vitamin D(3) supplementation in the elderly. *Osteoporos Int* 2009;20:1407-15.
45. Malik R. Vitamin D and secondary hyperparathyroidism in the institutionalized elderly: a literature review. *J Nutr Elderly* 2007;26:119-38.
46. Holick MF, Matsuoka LY, Wortsman J. Age, vitamin D, and solar ultraviolet. *Lancet* 1989;2:1104-5.
47. Passeri G, Vescovini R, Sansoni P, et al. Italian Multicentric Study on Centenarians (IMUSCE) - Calcium metabolism and vitamin D in the extreme longevity. *Exp Gerontol* 2008;43:79-87.
48. Romagnoli E, Caravella P, Scarnecchia L, et al. Hypovitaminosis D in an Italian population of healthy subjects and hospitalized patients. *Brit J Nutr* 1999;81:133-7.
49. Snijder M, Visser M. Adiposity in relation to vitamin D status and parathyroid hormone levels: a population-based study in older men and women. *J Clin Endocrinol Metabol* 2005;90:4119-23.
50. Scheithoff SS, Zimmermann A, Tenderich G, et al. Vitamin D supplementation improves cytokines profiles in patients with congestive heart failure: a double-blind, randomized, placebo - controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2006;83:754-9.
51. Ahmed W, Khan N, Glueck CJ, et al. Low serum 25(OH) vitamin D levels (< 32 ng/mL) are associated with reversible myolysis-mialgia in statin - treated patients. *Transl Res* 2009;153:11-6.
52. Schwartz JB. Effects of vitamin D supplementation in atorvastatin-treated patients: a new drug interaction with an unexpected consequence. *Clin Pharmacol Ther* 2009;85:198-203.
53. Hatchcock JN, Shao A, Vieth R, et al. Risk assessment for vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2007;85:6-18.