

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

Juliana Ebling Brondani

NUTRIÇÃO E METABOLISMO ÓSSEO

Santa Maria, RS
2019

Juliana Ebling Brondani

NUTRIÇÃO E METABOLISMO ÓSSEO

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Linha de Pesquisa Farmacologia dos Processos Oxidativos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do **Título de Doutora em Farmacologia**

Orientadora: Prof. Dra. Melissa Orlandin Premaor

Santa Maria, RS
2019

Brondani, Juliana Ebling
Nutrição e Metabolismo Ósseo / Juliana Ebling Brondani.
2019.
157 p.; 30 cm

Orientadora: Melissa Orlandin Premaor
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós
Graduação em Farmacologia, RS, 2019

1. Frutas e Hortalícias 2. Fraturas Ósseas 3. Vitamina D
4. Qualidade de Vida 5. Humanos I. Orlandin Premaor,
Melissa II. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo
autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca
Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

© 2019

Todos os direitos autorais reservados a Juliana Ebling Brondani. A reprodução de partes ou do
todo deste trabalho só poderá ser realizada mediante a citação da fonte.

Endereço: Restinga Seca, nº 159, Apto. 403, Bairro Camobi, Santa Maria, RS, CEP: 97105-330
Fone: (55) 9 9913-1646; E-mail: juebrondani@gmail.com

Juliana Ebling Brondani

NUTRIÇÃO E METABOLISMO ÓSSEO

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Linha de Pesquisa Farmacologia dos Processos Oxidativos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do **Título de Doutora em Farmacologia**

Aprovado em 12 de Julho de 2019:

Melissa Orlandin Premaor, Dra. (UFMG)
(Presidente/Orientadora)

Natielen Jacques Schuch, Dra. (UFN)

Elisângela Colpo, Dra. (UFN)

Loiva Beatriz Dallepiane, Dra. (UFSM)

Guilherme Vargas Bochi, Dr. (UFSM)

Santa Maria, RS
2019

DEDICATÓRIA

Aos meus pais José e Marisa
Meus irmãos André e Gilvano
Minhas cunhadas Francisca e Amanda
Meu sobrinho Miguel

AGRADECIMENTOS

A minha família, por toda confiança, incentivo, amor e honestidade, características que sustentam os pilares da nossa vida.

À minha orientadora, Prof. Dra. Melissa Orlandin Premaor, pelos ensinamentos, amizade, respeito, e por ter me guiado nesses quatro anos.

Ao Prof. Dr. Fábio Vasconcellos Comim, pela amizade, respeito, sugestões e ensinamentos.

A Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) pela oportunidade de aprendizado e complementação da minha formação.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos, a qual possibilitou a realização do curso e dedicação exclusiva aos trabalhos desenvolvidos.

A todos os professores do Curso de Pós-graduação em Farmacologia, pelos ensinamentos, sugestões, críticas e amizade.

A secretaria do Curso de Pós-graduação em Farmacologia, Zeli de Maria Carvalho, pela amizade, orientações e auxílio quando necessário.

Aos componentes da Banca Examinadora, por aceitarem fazer parte desse trabalho e contribuir com os seus conhecimentos.

As amigas Denise Teresinha Antonelli da Veiga, Rafaela Martinez Copes e Lia Mara Zamberlan Montagner pela amizade e apoio.

A todos os integrantes do Grupo de Pesquisa Doenças Endócrino-metabólicas Prevalentes, em especial, Tamires Tolazzi Martins e Ana Elize Barin, pela amizade, aprendizagem, sugestões e ajuda na condução desse trabalho.

As demais pessoas que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização desse trabalho.

EPÍGRAFE

“O que vale na vida não é o ponto de partida, e sim a caminhada.
Caminhando e semeando, no fim terás o que colher.”

Cora Coralina

RESUMO

NUTRIÇÃO E METABOLISMO ÓSSEO

AUTORA: Juliana Ebling Brondani
ORIENTADORA: Melissa Orlandin Premaor

Embora a ingestão de frutas e hortaliças pareça ter um efeito protetor no metabolismo ósseo, seu efeito nas fraturas permanece incerto. Alguns estudos descreveram uma diminuição na qualidade de vida de indivíduos com deficiência de vitamina D. No entanto, pouco se sabe sobre essa associação na atenção primária. Objetivou-se avaliar a influência da ingestão de frutas e hortaliças na saúde óssea; e avaliar a associação entre a deficiência de vitamina D e a qualidade de vida em mulheres na pós-menopausa atendidas na atenção primária. Primeiramente, realizou-se uma revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados (ECR) e estudos de coorte (PROSPERO: CRD42016041462). Incluíram-se ECR e estudos de coorte que avaliaram a ingestão de frutas e hortaliças em homens e mulheres com 50 anos ou mais. Fraturas foram consideradas como desfechos primários, e alterações nos marcadores ósseos, como secundários. A estratégia de busca incluiu os seguintes descritores: frutas, hortaliças, osso, fraturas ósseas, osteoporose pós-menopausa, e osteoporose. PubMed, Embase, e Cochrane Library foram as bases de dados utilizadas. As análises dos estudos foram realizadas por dois revisores de forma independente, discutidas e acordadas entre ambos. Os dados extraídos dos ECR e estudos de coorte foram resumidos separadamente. O risco de fraturas nos estudos foram combinados utilizando modelos aleatórios. CTx foi resumido pela diferença das médias padronizadas. O método GRADE foi utilizado para avaliar a força de recomendação. Dos 1192 estudos encontrados, 13 foram incluídos na revisão sistemática, e 10 na análise combinada (6 estudos de coorte e 4 ECR). Os seis estudos de coorte incluídos na metanálise, somaram uma população de 225 062. O HR (IC95%) para quadril em cinco estudos foi 0,92 (0,87 a 0,98), e heterogeneidade moderada ($I^2 = 55,7\%$, $p=0,060$), GRADE ($\oplus\oplus\oplus\ominus$). Dois estudos de coorte avaliaram o risco de qualquer fratura, o HR foi 0,90 (IC95%: 0,86 a 0,96), com heterogeneidade de 24,9% ($p=0,249$, GRADE ($\oplus\oplus\oplus\ominus$)). Não houve associação entre CTx e 3 meses de ingestão de frutas e hortaliças avaliado por quatro ECRs, GRADE ($\oplus\oplus\ominus\ominus$). Houve associação entre o aumento na ingestão de, pelo menos, uma porção de frutas e hortaliças por dia e a diminuição do risco de fraturas (nível de evidência moderado). No segundo estudo, realizou-se um estudo transversal com mulheres na pós-menopausa com mais de 55 anos, atendidas na atenção primária, no período de março a agosto de 2014. Essas mulheres foram selecionadas aleatoriamente entre os participantes de um estudo de coorte no município de Santa Maria, RS. Os dados foram coletados por meio de um questionário padronizado, a qualidade de vida foi avaliada por meio do *Short Form 36 Health Survey* (SF-36), e a 25(OH)D pelo método ALPCO® ELISA. Das 78 mulheres, 11,54% tinham deficiência de vitamina D. Mulheres com deficiência de vitamina D tiveram pior qualidade de vida avaliada pelo SF-36. Na análise de regressão, tanto a deficiência de vitamina D, quanto quedas no último ano foram independentemente associados a um menor componente físico do SF-36. A deficiência de vitamina D foi associada a pior qualidade de vida nas mulheres pós-menopausadas estudadas.

Palavras-chaves: Frutas. Hortaliças. Ossos. Fraturas Ósseas. Metanálise. Vitamina D. Pós-menopausa. Qualidade de vida. SF-36. Atenção Primária. Humanos.

ABSTRACT

NUTRITION AND BONE METABOLISM

AUTHOR: Brondani Juliana Ebling
ADVISER: Dra. Premaor Melissa Orlandin

Although intake of fruits and vegetables seemed to have a protective effect on bone metabolism, its effect on fractures remains uncertain. Some studies have described an impairment in quality of life of vitamin-deficient subjects D. However, little is known about this association in primary care. This study aimed to assess whether the regular intake of fruits and vegetables has significant effects on bone health, and evaluate the association between vitamin D deficiency and quality of life in postmenopausal women attending primary care. First, a systematic review of randomized controlled trials (RCTs) and cohort studies (PROSPERO: CRD42016041462) was performed. RCTs and cohort studies that evaluated the combined intake of fruits and vegetables in men and women aged over 50 years were included. We considered fractures as a primary outcome measure. Changes in bone markers were considered as secondary outcomes. The search strategy included the following descriptors: fruit, vegetables, vegetable products, bone and bones, bone fractures, postmenopausal osteoporosis, and osteoporosis. PubMed, Embase, and Cochrane Library were the databases used. The appraisal of the studies was performed by two independent reviewers, and discussed and agreed upon by both examiners. The data extracted from the RCTs and cohort studies were summarized separately. The risks of fractures were combined across studies using random models. Bone resorption marker (CTX) was summarized with standardized mean differences. The Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation (GRADE) method was used to evaluate the strength of recommendations. Of the 1,192 studies screened, 13 articles were included in the systematic review and 10 were included in the pooled analysis (6 cohort studies and 4 RCTs). The six cohort studies included in the meta-analysis included a population of 225,062. The pooled hazard ratio (HR) (95% confidence interval (CI)) of the hip in five studies was 0.92 (0.87, 0.98). Its heterogeneity was moderate ($I^2 = 55.7\%$, $p = 0.060$), GRADE ($\oplus\oplus\oplus O$). Two cohort studies evaluated the risk of any fracture; the HR was 0.90 (95% CI: 0.86–0.96), with aheterogeneity of 24.9% ($p = 0.249$, GRADE ($\oplus\oplus\oplus O$)). There was no association between the bone resorption marker CTx and 3 months of fruit and vegetable intake evaluated by four RCTs, GRADE ($\oplus\oplus O O$). There was an association between the increase intake of at least one serving of fruits and vegetables per day and decreases in the risk of fractures. The level of evidence for this association is moderate. In the second study, a cross-sectional study was carried out with postmenopausal women over 55 years of age, accompanied in primary care, from March to August 2014. These women were randomly selected among the participants of an ongoing cohort study in the municipality of Santa Maria - Brazil. Data were collected through a standardized questionnaire, quality of life was assessed using the Short Form-36 Health Survey (SF-36), and 25-hydroxyvitamin D were measured using the ALPCO® ELISA method. Of the total of 78 studied women, 11.54% had vitamin D deficiency. Women with vitamin D deficiency had a poorer quality of life assessed by SF-36. In the regression analysis, both vitamin D deficiency and falls were independently associated with a lower physical component of the SF-36. Vitamin D deficiency is associated with poorer quality of life in the studied postmenopausal women.

Keywords: Fruit. Vegetables. Bone. Fractures, Bone. Meta-analysis. Vitamin D. Postmenopausal. Quality of life. SF-36. Primary Care. Humans.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

APRESENTAÇÃO

Figura 1	Osso normal e um osteoporótico.....	32
Figura 2	Vias do Metabolismo do Cálcio no corpo humano.....	37
Figura 3	Homeostase do cálcio em situação de diminuição do cálcio sérico no corpo humano.....	38
Figura 4	Metabolismo do Fósforo no corpo humano.....	49
Figura 5	Balanço de Magnésio no corpo humano.....	52
Quadro 1	Principais fontes alimentares de cálcio.....	40
Quadro 2	Fontes alimentares de Vitamina D.....	44
Quadro 3	Fontes alimentares de Fósforo.....	47
Quadro 4	Fontes alimentares de Magnésio.....	52

ARTIGO 1

Fig 1	PRISMA 2009 flow diagram of the selection of studies included in the review.....	91
Fig 2	Forest plot of the hazard ratio and 95% confidence interval of the risk of hip fractures with combined fruit and vegetable intake in men and women in cohort studies.....	92
Fig 3	Forest plot of the standard means difference and 95% confidence interval of the C-terminal telopeptide after 3 months combined with fruit and vegetable intake in randomized clinical trials.....	93
S1 Fig 1	Funnel plot of the cohort studies. The Harbord-Egger test p-value is 0.147.....	94
S2 Fig 2	Forest plot of the Hazard Ratio and 95% confidence interval (95% CI) for the risk of any fracture with combined fruit and vegetable intake in men and women in cohort studies.....	95
S3 Fig 3	Title Funnel plot of the standard means difference of the C-terminal telopeptide (CTx) after three months combined fruit and vegetable intake in randomized trials.....	96

ARTIGO 2

Figure 1	Summary of the physical and mental components of quality of life in the studied women.....	121
----------	--	-----

LISTA DE TABELAS

APRESENTAÇÃO

Tabela 1	Diagnóstico de Osteoporose segundo a classificação da OMS.....	33
Tabela 2	Ingestão Dietética de Referência para Cálcio.....	39
Tabela 3	Ingestão Dietética de Referência para Vitamina D.....	44
Tabela 4	Ingestão Dietética de Referência para Fósforo.....	48
Tabela 5	Ingestão Dietética de Referência para Magnésio.....	53
Tabela 6	Ingestão Dietética de Referência para Proteínas.....	55

ARTIGO 1

Table 1	Characteristics of the Cohort studies included in the systematic review.....	74
Table 2	Characteristics of Randomized Clinical Trial included in the systematic review.....	76
Table 3	Grading of Recommendations Assessment, Developing and Evaluation used to assess the systematic review outcomes.....	78
S1 Table1	Summary of the performed searches.....	97
S2 Table 2	Description of the main results of cohort studies.....	98
S3 Table 3	Description of the main results of Randomized Clinical Trials.....	99
S4 Table 4	Evaluation of cohort studies quality according to Newcastle-Ottawa Scale....	100
S5 Table 5	Evalution of the Randomized Trials Bias Risk according to the Cochrane Collaboration tool.....	101

ARTIGO 2

Table 1	Characteristics of the studied women	119
Table 2	Health-Related Quality of life of the studied women.....	120
Table 3	Univariate analysis of factors associated with the physical component summary of health-related quality of life in the studied women.....	120
Table 4	Multivariate analysis of the factors associated with the physical component summary of health-related quality of life in the studied women.....	121
Table 5	Univariate analysis of factors associated with the mental component of health-related quality of life in the studied women.....	122

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BMD	<i>Bone Mineral Density</i>
CTx	<i>C-terminal Telopeptide</i>
Ca	Cálcio
DMO	Densidade Mineral Óssea
DRIs	<i>Dietary Reference Intakes</i>
DeCS	Descritores em Ciências da Saúde
ECR	Ensaio Clínico Randomizado
ESCEO	<i>European Society for Clinical and Economical Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis, and Musculoskeletal Diseases</i>
EQ-5D	<i>Euro Quality of Life Instrument-5D</i>
EQ-5D-5L	<i>Euro Qol 5D-5L</i>
ES	<i>Endocrinology Society</i>
EMBASE	<i>Excerpta Medical DataBase</i>
ESPEN	<i>European Society for Clinical Nutrition and Metabolism</i>
FFQ	<i>Food Frequency Questionnaire</i>
FGF-23	Fator de Crescimento de Fibroblasto-23
HR	<i>Hazard Ratio</i>
HPLC	Cromatografia de Alta Performance
IGF-I	Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1
IOF	<i>International Osteoporosis Foundation</i>
IOM	<i>Institute of Medicine</i>
KNHANES	<i>Korean National Health and Nutrition Examination Survey</i>
MS	Ministério da Saúde
Mg	Magnésio
Mg ²⁺	Íon Magnésio
NIH	<i>National Institutes of Health</i>
NHANES	<i>National Health and Nutrition Examination Survey</i>
NOF	<i>National Osteoporosis Foundation</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
P1NP	<i>Pro-peptide Aminoterminal Procollagen Type I</i>
Pi	Fósforo Inorgânico
P	Fósforo
PNS	Pesquisa Nacional de Saúde
PROSPERO	<i>International Prospective Register of Systematic Reviews</i>
PubMed	<i>National Library of Medicine</i>
PTH	Paratormônio
QVRS/HRQoL	Qualidade de Vida Relacionada à Saúde
QV	Qualidade de Vida
QUALEFFO	<i>Quality of Life Questionnaire issued by the European Foundation for Osteoporosis</i>
RCTs	<i>Randomized Controlled Trials</i>
SBEM	Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia
SAPOS	<i>The São Paulo Osteoporosis Study</i>
SF-36	<i>Medical Outcomes Study 36 Short-From Health Survey</i>
SF-12	<i>12-Item Heath Survey</i>
VITAL	Pesquisa de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças crônicas por Inquérito Telefônico
	<i>VITamin D and OmegA-3 Trial</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	25
1.1 OBJETIVOS	28
1.1.1 OBJETIVO GERAL.....	28
1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
1.3 JUSTIFICATIVA	29
2 DESENVOLVIMENTO.....	30
2.1 ENVELHECIMENTO POPULACIONAL	30
2.2 MENOPAUSA.....	31
2.3 OSTEOPOROSE E FRATURAS ÓSSEAS	31
2.4 NUTRIENTES E METABOLISMO ÓSSEO	36
2.4.1 Cálcio	36
2.4.2 Vitamina D	41
2.4.3 Fósforo.....	47
2.4.4 Magnésio	51
2.4.5 Proteínas.....	54
2.5 FRUTAS E HORTALIÇAS	57
2.6 QUALIDADE DE VIDA RELACIONADA À SAÚDE.....	62
3 ARTIGO 1 - FRUIT AND VEGETABLE INTAKE AND BONES: A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS	65
4 ARTIGO 2 – VITAMIN D IS ASSOCIATED WITH A LOW QUALITY OF LIFE: A PRIMARY CARE STUDY	106
5 DISCUSSÃO	123
6 CONCLUSÃO	131
REFERÊNCIAS	132
ANEXOS	152

1 INTRODUÇÃO

A osteoporose é considerada uma doença crônica, assintomática e multifatorial, caracterizada pela perda progressiva de massa óssea com consequente fragilidade, seguida de fraturas (COSMAN et al., 2014; IOF, 2018a). Mundialmente, estima-se que mais de 200 milhões de indivíduos sejam acometidos pela doença, já no Brasil, esse número passa de 10 milhões (PINHEIRO, EIS, 2010; IOF, 2018b). Esses indicativos, e as previsões no aumento na incidência da doença (IOF, 2018a), fazem com que a osteoporose seja reconhecida como um problema de saúde pública mundial (WHO, 2004).

Consideradas como principais consequências clínicas, as fraturas ósseas, são importantes causas de morbimortalidade e de elevados custos sociais e econômicos (MARINHO et al., 2014). No Brasil, em 2012, o custo aproximado de uma fratura de quadril foi entre US\$ 3.900 a 12.000 (ZANCHETTA, 2012). Conforme resultados de estudo realizado por Zerbini et al. (2015), observou-se que a incidência de fraturas aumentou em ambos os gêneros, sendo maior nas mulheres idosas. Neste mesmo estudo, em 2015, foram estimados 80.640 casos de fraturas de quadril (57.218 em mulheres, e 23.422 em homens), e com uma projeção, para os próximos 25 anos, de um aumento dessas fraturas de 248% (141.925 casos) para as mulheres, e de 238% (55.844 casos) para os homens.

Considerada como alternativa de tratamento não farmacológico, a nutrição representa um importante papel para a formação e manutenção da massa óssea, sendo essa um possível fator de proteção para as principais consequências da osteoporose. Uma alimentação variada em qualidade e quantidade muito provavelmente fornecerá os nutrientes necessários para manter, pelo menos em parte, uma saúde óssea regular durante o envelhecimento, como cálcio, proteínas, magnésio, fósforo, vitamina D dentre outros.

Em revisão sistemática realizada em 2011, sobre a ingestão de frutas e hortaliças e saúde óssea de mulheres com mais de 45 anos, não ficou elucidado se o consumo regular deste grupo de alimentos apresenta benefícios na prevenção de fraturas, alterações na densidade mineral óssea, e diminuição nos marcadores de reabsorção óssea (HAMIDI et al., 2011). A importância de se conhecer os hábitos alimentares de indivíduos ou populações auxilia na prevenção e tratamento de várias doenças, assim como na formulação de políticas públicas de alimentação e nutrição, as quais são fundamentais para prevenir e reduzir a incidência de doenças crônicas não transmissíveis (BLÜMKE, 2014), como a osteoporose.

Sabe-se que, para um bom desenvolvimento ósseo e manutenção do esqueleto, é necessário uma ingestão adequada de cálcio em todas as fases da vida, associado à uma

adequada ingestão e/ou suplementação de vitamina D, para que a homeostase do cálcio e do metabolismo ósseo sejam preservadas (MAEDA et al., 2014). Assim, não podemos desconsiderar o importante papel que a vitamina D representa no metabolismo ósseo. Segundo o *National Institutes of Health* (NIH), a deficiência de vitamina D pode levar ao hiperparatireoidismo secundário que provoca perda de massa óssea e consequente desenvolvimento de osteopenia e osteoporose em adultos (NIH, 2018).

O melhor indicador do status de vitamina D são os níveis séricos de 25(OH)D. Segundo recomendações da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM), a avaliação da 25(OH)D somente é recomendada para populações de risco ou para indivíduos que apresentem condições clínicas relevantes, não sendo necessário a dosagem dos níveis séricos para a população em geral (MAEDA et al., 2014). Estas recomendações se baseiam principalmente na falta de estudos sobre a prevalência de deficiência de vitamina D em nosso meio.

Em relação às funções da vitamina D no organismo humano, outros desfechos podem estar associados, além dos já tradicionais descritos no metabolismo ósseo. Estudos realizados na última década descrevem associações entre a deficiência da vitamina D e certas doenças, tais como: câncer, doenças cardiovasculares, alteração da imunidade, síndrome metabólica (PITTAS et al., 2007; FISCELLA et al., 2010; ELANIM et al., 2011; SWANI et al., 2012); e outros, descrevem uma associação entre os baixos níveis séricos de 25(OH)D com pior qualidade de vida geral (BRUNNER et al., 2008; HAGINO et al., 2013; ANAND et al., 2011; HOFFMAN, SENIOR, MAGER, 2015; SAMPAIO-BARROS et al., 2016; OH et al., 2017). Além disso, investigações avaliam a presença de doenças crônicas e sua associação com a qualidade de vida relacionada à saúde (QVRS), como a Osteoporose. Estudo realizado por Lima et al. (2009) com 1958 idosos observou que, dentre as doenças crônicas analisadas, a osteoporose foi uma das condição que mais afetou a QVRS. Em recente estudo, Copês et al. (2017) avaliaram a QVRS de 981 mulheres obesas, pós-menopausadas e com fraturas, e observaram que a presença de fraturas pode estar relacionada à um comprometimento na qualidade de vida das mulheres investigadas.

Diante deste contexto, e dos estudos que estão sendo conduzidos para melhor esclarecer os benefícios que uma alimentação saudável e equilibrada em nutrientes pode proporcionar para a saúde óssea, especialmente em idades mais avançadas, e também pela hipovitaminose D ser considerada como um problema de saúde pública mundial, e muito prevalente na população adulta e idosa brasileira (PREMAOR et al. 2004; SARAIVA et al. 2005, 2007; SCALCO et al. 2008; MAEDA et al. 2007; PREMAOR et. al 2006, 2008; SILVA et al. 2008; RUSSO et al.

2009; LOPES et al. 2009; NEVES et al. 2012; CABRAL et al. 2013), este estudo apresenta dois objetivos: estudar, a partir de uma revisão sistemática e metanálise, se a ingestão de frutas e hortaliças apresentam influência nas fraturas ósseas, nos marcadores de formação e reabsorção óssea, e na densidade mineral óssea (DMO) em homens e mulheres com 50 anos ou mais; e avaliar a associação entre a deficiência de vitamina D e a qualidade de vida em mulheres na pós-menopausa atendidas na atenção primária do município de Santa Maria/RS.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência da Nutrição e da Qualidade de Vida com o Metabolismo Ósseo em Humanos.

1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estudar se a ingestão regular de frutas e hortaliças apresentam influência nas fraturas ósseas, nos marcadores de formação e reabsorção óssea (P1NP, CTx e outros), e na densidade mineral óssea em homens e mulheres com 50 anos ou mais.

Avaliar a associação entre a deficiência de vitamina D e a qualidade de vida em mulheres na pós-menopausa atendidas na atenção primária do município de Santa Maria – RS.

1.3 JUSTIFICATIVA

A saúde óssea depende não somente de fatores fisiológicos e específicos do processo de envelhecimento do organismo, mas também de hábitos alimentares saudáveis em todas as fases da vida. O conjunto de vários nutrientes, quando ingeridos em harmonia (quantidades adequadas), irão resultar em benefícios para a saúde óssea em geral. Além disso, outra questão importante relacionada à saúde óssea é a deficiência de vitamina D, a qual está associada com um risco aumentado de fraturas e fraqueza, além de outras alterações musculares e extraósseas. Tanto as ações fisiológicas da vitamina D, quanto seu envolvimento em síndromes como a osteoporose e a síndrome da fragilidade, podem influenciar a qualidade de vida (QV) das pessoas acometidas por deficiência de vitamina D.

Portanto, nosso estudo dividiu-se em duas questões norteadoras: “A ingestão de frutas e hortaliças está associada a uma melhor saúde óssea? ”, e “O estado nutricional de Vitamina D está associada à qualidade de vida relacionada à saúde? ”. Para responder a primeira pergunta foi realizada uma metanálise que se encontra descrita no artigo 1. E, para a segunda questão foi realizado um estudo transversal, que está descrito no artigo 2.

2 DESENVOLVIMENTO

Neste tópico será realizada uma revisão da literatura abrangendo temas como o envelhecimento populacional, menopausa, osteoporose e fraturas, nutrientes e metabolismo ósseo e Qualidade de Vida Relacionada à Saúde.

2.1 ENVELHECIMENTO POPULACIONAL

O atual crescimento da população de idosos é um fenômeno mundial e, conforme as projeções para o ano de 2050, essa população chegará a somar 1,5 bilhões de pessoas acima de 65 anos nos países em desenvolvimento (WHO, 2011). Uma das explicações para isso é o aumento da expectativa de vida, que acontece em todo o mundo desde 1950 (IBGE, 2018a).

Em relatório anual da Organização Mundial da Saúde (OMS) sobre a expectativa de vida no mundo, foi apresentado que entre 1990 a 2012, a expectativa de vida da população mundial aumentou 6 anos (WHO, 2011). No Brasil, em 2010, esta chegou aos 73,9 anos (IBGE, 2010a). Em 2012, a expectativa média de vida ao nascer era de 74,6 anos (IBGE, 2012). Já em 2017, essa média aumentou para 76 anos para ambos os sexos. Vale salientar que as mulheres vivem, em média, mais que os homens, com 79,6 anos (IBGE, 2018b).

No Estado do Rio Grande do Sul, a expectativa de vida atinge os 78 anos, para ambos os gêneros. Atualmente, o Rio Grande do Sul se encontra na quinta posição entre os 27 estados brasileiros com as maiores expectativas de vida ao nascer, permanecendo atrás apenas de Santa Catarina, Espírito Santo, Distrito Federal e São Paulo. Além disso, o estado se destaca com uma maior população de mulheres, as quais apresentam uma expectativa de vida maior, chegando aos 81,3 anos (IBGE, 2018b).

Ademais, o último censo brasileiro, realizado em 2010, mostrou que dos 14 milhões de idosos existentes, 55,8% são mulheres e, um terço destas, encontra-se na faixa etária de 35 a 65 anos. Ainda, vale salientar que, entre os idosos, o segmento que mais cresce são os octogenários, representando 14% da população idosa brasileira (IBGE, 2010b).

Observa-se, portanto, que o Brasil e, inclusive, o Estado do Rio Grande do Sul, apresentam uma população predominantemente feminina e com uma expectativa de vida maior, porém isso não significa que estas desfrutem de melhores condições de saúde. Fato este que reflete no surgimento e agravo das condições crônicas, dentre elas a osteoporose.

2.2 MENOPAUSA

A menopausa, que acontece em mulheres com idade média de 52 anos (NAMS, 2018), é marcada por uma fase onde há um aumento na reabsorção óssea relacionada à ação hormonal sobre a densidade óssea. Isso é consequência, principalmente, da queda na produção de estrogênio no período pós-menopausa, que pode ser de origem natural ou artificial (NAMS, 2010; AMB/ANSS, 2011). Para algumas mulheres essa queda pode ser rápida e grave (NOF, 2018).

A acelerada perda óssea nos cinco a dez anos iniciais dessa fase varia de 2% a 3% ao ano e após, apresenta uma redução gradual para 0,5% a 1% ao ano (ANDERSON, 2010). Durante os cinco a sete anos após a menopausa, uma mulher pode perder 20% de sua densidade mineral óssea e, para algumas, isso pode acontecer mais rapidamente do que para outras (NOF, 2018). Silva, Pires e Cozzolino (2012), salientam que essa condição pode ser menos grave em mulheres que iniciam a menopausa com maior massa óssea.

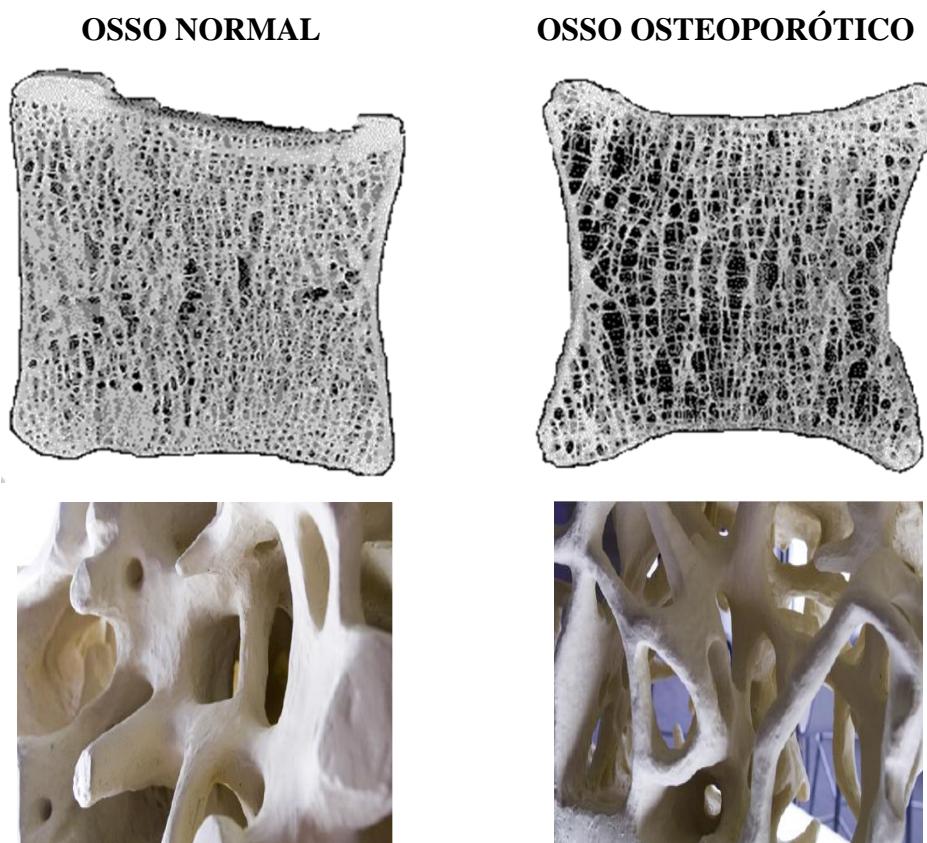
Ademais, esta perda óssea é equivalente a 300mg de cálcio por dia, os quais são eliminados pela urina e fezes e, se o equilíbrio de cálcio for mantido, essa quantidade pode ser repostada por meio do cálcio proveniente de uma alimentação contendo as quantidades adequadas do mineral nessa fase (ANDERSON, 2010), as quais não diferem das recomendações nas demais idades (SILVA, COZZOLINO, 2012).

Conforme a *The North American Menopause Society*, até o ano de 2025 são estimados que o número de mulheres na pós-menopausa aumentem para 1,1 bilhão em todo o mundo (NAMS, 2018). Assim é importante que as mulheres, nesse período da vida, adotem um estilo de vida saudável, especialmente no que se refere à alimentação, visto que a saúde do organismo é muito influenciada por nutrientes presentes naturalmente nos alimentos, os quais podem amenizar e/ou reduzir as complicações advindas da menopausa.

2.3 OSTEOPOROSE E FRATURAS ÓSSEAS

Considerada uma doença crônica multifatorial e sistêmica do esqueleto, a osteoporose está intimamente relacionada ao envelhecimento. Caracteriza-se pela redução da força óssea, que é dependente da qualidade e da massa óssea, sendo acompanhada de deterioração da microarquitetura dos ossos, levando a um aumento da fragilidade esquelética, o que predispõe as fraturas, com trauma mínimo e dor (FONTES, ARAÚJO, SOARES, 2012; COSMAN et al., 2014; TELLA, GALLAGHER, 2014). A figura 1 ilustra um osso normal e um osteoporótico.

Figura 1 – Osso normal e um osteoporótico



Fonte: Cosman et al., 2014 (adaptado).

A doença pode acometer, especialmente, mulheres na pós-menopausa. Nessa fase há um aumento na perda de massa óssea, devido à redução na produção do hormônio estrogênio. Ainda, pode estar relacionada à idade, ocorrendo em torno de 70 anos, afetando ambos os gêneros e, também, ser secundária a um fármaco ou doença, que conduzem a perda de tecido ósseo (ANDERSON, 2010; COSMAN et al., 2014).

Em relação ao seu desenvolvimento, podemos considerar vários fatores de risco, modificáveis e não modificáveis. Dentre os primeiros podemos citar a baixa ingestão de cálcio e vitamina D, tabagismo, alcoolismo, baixo peso (baixo índice de massa corporal), além da inatividade física e o uso de alguns fármacos como corticoides. Já para os fatores não modificáveis, destaca-se a idade, o sexo, a história familiar de fraturas e a etnia (especialmente caucasianas) (COSMAN et al., 2014; NICE, 2012; TELLA, GALLAGHER, 2014).

No estudo brasileiro SAPOS (*The Sao Paulo Osteoporosis Study*), realizado com 7533 mulheres na pré e pós-menopausa, foram observados como importantes fatores de risco associados com baixa densidade óssea e risco de fratura de baixo impacto o baixo peso, idade

avançada, etnia caucasiana, história familiar de risco de fratura de quadril, tabagismo atual e uso crônico de corticoides. Já a terapia de reposição hormonal e a atividade física regular apresentaram efeitos protetores para DMO e risco de fraturas (PINHEIRO et al., 2012).

Segundo a *National Osteoporosis Foundation* (NOF), o diagnóstico da osteoporose pode ser clínico, quando o indivíduo adulto apresentar uma fratura de quadril ou vertebral devido à queda da própria altura (trauma mínimo), assim como, por meio da medida da densidade mineral óssea (COSMAN et al., 2014), que segue a classificação de diagnóstico da OMS na tabela 1.

Tabela 1 – Diagnóstico de Osteoporose segundo a classificação da OMS

Classificação	DMO (DP)	T-score
Normal	Dentro de 1 DP do nível médio para a população de referência para jovens adultos	≥ -1.0
Baixa massa óssea (Osteopenia)	Entre 1,0 e 2,5 DP abaixo do nível médio para a população de referência para jovens adultos	Entre -1,0 e -2,5
Osteoporose	2,5 DP ou mais abaixo do nível médio para a população de referência para jovens adultos	$\leq -2,5$
Osteoporose severa ou estabelecida	2,5 DP ou mais abaixo do nível médio para a população de referência para jovens adultos	$\leq -2,5$, com uma ou mais fraturas

Fonte: COSMAN et al., 2014 (adaptado).

Em recente diretriz clínica do Reino Unido, foi recomendado que na avaliação para diagnosticar indivíduos com osteoporose seja incluída, além da análise da DMO quando recomendada, a investigação de outras doenças que ocultem a osteoporose, assim como os fatores causais da osteoporose, e o correto tratamento de qualquer morbidade associada (COMPSTON et al., 2017).

Por ser uma doença silenciosa, muitas vezes, o seu diagnóstico só fica conhecido após a ocorrência de fraturas (WARRINER et al., 2011). Estas são muito dolorosas e resultam em perda de altura e deformações, além de promover pior qualidade de vida, e levar à morte (PINHEIRO, EIS, 2010). As fraturas acometem predominantemente a coluna, o antebraço e o quadril (WARRINER et al., 2011), sendo que as primeiras manifestações clínicas ocorrem quando já houve perda de 30% a 40% da massa óssea (PINHEIRO, SZEJNFELD, 2018). Assim, pode-se considerar que as pessoas acometidas pela doença apresentam importantes

limitações para exercer normalmente suas atividades diárias, sociais e de lazer, o que impacta diretamente no bem-estar e na QVRS (COOK et al., 1999).

Estudo realizado por Muszkat et al. (2015), com 188 mulheres, identificou que 17% dessas mulheres apresentaram fraturas de coluna moderadas ou graves, e 87,5% destas fraturas eram desconhecidas tanto pelas pacientes como por seus médicos. Isso pode levar à conclusão de que uma em cada 100 mulheres com mais de 45 anos com osteoporose apresenta fraturas na coluna sem saber.

Assim, a osteoporose pode ser considerada uma doença assintomática com alta prevalência, especialmente entre os idosos, podendo acarretar um maior risco de fraturas, sendo a de quadril (fêmur) a mais comum. Isso gera um aumento dos custos durante o tratamento clínico-cirúrgico, e maior mortalidade no período de um ano pós-fratura (BRANDÃO et al., 2013; LOURES et al., 2015).

Estudo prospectivo longitudinal sobre os fatores de risco para a mortalidade durante a internação hospitalar, realizado em hospitais do Rio de Janeiro, verificou que, dos 246 pacientes acima de 60 anos internados nesses hospitais com fraturas de quadril, 35% morreram no hospital ou após a alta (PEREIRA et al., 2010). Já em outro estudo realizado em um hospital terciário no sul do Brasil com idosos com 65 anos ou mais com fraturas de quadril, observou-se que o tempo de espera para a realização de cirurgia foi considerado um fator de risco preocupante para mortalidade nessa população (RIBEIRO et al., 2014).

Segundo Pinheiro (2008), no geral, após o primeiro ano de fratura de quadril, cerca de 10% a 20% dos pacientes se tornam incapacitados, 15% a 40% são institucionalizados e 20% a 35% morrem. Em relação à prevalência, previsões indicam, para o ano de 2050, um crescimento de 400% nas fraturas de quadril, para ambos os gêneros, entre 50 e 60 anos, e, aproximadamente, 700% para as pessoas com mais de 65 anos (AMB/ANSS, 2011).

Ademais, conforme projeções da OMS, estima-se que o número anual de fraturas de quadril no mundo passará de 1,7 milhões em 1990 para 6,3 milhões em 2050. Vale destacar que as mulheres apresentam 80% de fraturas de quadril, e durante a sua vida, têm um risco de 30% a 40% de sofrerem fraturas osteoporóticas (WHO, 2018).

Mundialmente, a osteoporose acomete um número estimado de 200 milhões de mulheres, e uma em cada três mulheres com mais de cinquenta anos terá uma fratura osteoporótica (IOF, 2018b). Nos Estados Unidos, dentre os 10 milhões de americanos com osteoporose, 8 milhões são mulheres (cerca de 80%) (NOF, 2018). Para Vavrusova e Skibsted (2014), esta epidemia oculta tem uma incidência predominante no noroeste da Europa e está se tornando cada vez mais importante, à medida que a população está envelhecendo.

No Brasil, estima-se que a doença acometa 10 milhões de pessoas, com prevalência de 11% a 23,8% para todos os tipos de fratura por fragilidade óssea (PINHEIRO e EIS, 2010). Em estudo realizado por Pinheiro et al. (2010) na cidade de São Paulo com 4.332 mulheres acima de 40 anos, observou-se uma prevalência de 33% de osteoporose e 11,5% de fraturas por fragilidade. Para Ström e colaboradores (2011), a osteoporose representa uma das principais doenças não transmissíveis com tendência significativa no seu aumento em anos futuros, e que requer uma atenção especial para melhorar sua prevenção e tratamento.

Outrossim, o impacto das fraturas na saúde pública envolve questões importantes sobre a elevação significativa das deficiências funcionais com redução na qualidade de vida, aumento dos custos nos serviços de saúde, além de mortalidade. Por isso, é necessário que sejam realizadas avaliações de riscos individuais, identificando aquelas pessoas com baixa densidade mineral óssea e com um risco maior de sofrer fraturas, o que poderá amenizar os custos com o tratamento, tanto público como privado (CAULEY, 2013). Em recente revisão sobre os custos com osteoporose em quatro Países da América Latina (Brasil, Argentina, Colômbia e México), foi observado mais de 840 mil casos de fraturas relacionadas à osteoporose e um gasto anual de, aproximadamente, \$ 1,17 bilhões de dólares em 2018. No Brasil, estes custos, em 2018, somaram \$310 milhões de dólares, e destes, 61% (\$188,144,113) foram associado à perda de produtividade, 19% (\$188,144,113) com despesas hospitalares, e 13% (\$41,656,869) com custos cirúrgicos (AZIZIYEH et al., 2019).

Conforme Caroli e colaboradores (2011) é possível que o número de fraturas osteoporóticas aumente ainda mais. Isso se deve ao aumento da expectativa de vida no mundo, que apresenta uma tendência crescente, além de outros fatores de risco importantes que podem ser considerados como: a industrialização dos alimentos e redução da atividade física. Bonjour e colaboradores (2013) salientam que, nos idosos, o risco de fratura por fragilidade pode ser potencialmente atenuado por meio de medidas nutricionais adequadas aliadas à prática de atividade física regular. Ainda, as recomendações das Diretrizes Brasileiras para o diagnóstico e tratamento da osteoporose na pós-menopausa, reforçam que, além de um diagnóstico minucioso dos fatores de risco para a osteoporose e fraturas, deve-se intervir nos fatores de risco modificáveis, dentre eles, a nutrição (RADOMINSKI et al., 2017).

Consideradas como medidas de prevenção, a alimentação saudável, a atividade física regular, a redução do tabagismo e do alcoolismo, e a prevenção de quedas formam um conjunto que auxiliam para amenizar a incidência da doença ou até mesmo, preveni-la. Segundo Pinto Neto et al. (2002), a densidade mineral óssea pode ser afetada por fatores relacionados ao estilo de vida em 38% a 54%, considerando a nutrição um destes fatores.

É importante ressaltar que o osso é um tecido vivo e, como tal, requer todos os nutrientes essenciais para o crescimento e manutenção. O tecido mineral ósseo é constituído de hidroxiapatita, um composto de fosfato de cálcio, com magnésio e traços de outros minerais. O tecido conjuntivo é formado principalmente de proteína e colágeno. O papel de muitos micronutrientes no osso é ajudar na síntese e maturação do tecido conjuntivo. Ferro, zinco, magnésio, cobre, manganês e vitamina K são cofatores em enzimas responsáveis pelo metabolismo ósseo, síntese de colágeno e ligações cruzadas (WEAVER et al., 2016).

Os nutrientes são essenciais para a viabilidade de todas as células, incluindo às dos ossos. É a dieta que determina vários fatores que influenciam o osso, incluindo uma alimentação adequada composta por todos os nutrientes essenciais, a presença ou ausência de inibidores de absorção e utilização de nutrientes individuais, a energia disponível para o crescimento e manutenção do osso, além da adiposidade e o equilíbrio ácido-básico. Além disso, o tipo de dieta e o estilo de vida podem conduzir a falta de alguns nutrientes que são particularmente importantes para o esqueleto, como o cálcio, as proteínas e a vitamina D (WEAVER, HEANEY, 2008). Portanto, uma alimentação adequada e regular contendo os nutrientes necessários para o desenvolvimento ósseo, incluindo os grupos das frutas e hortaliças, poderá contribuir para prevenir ou amenizar a osteoporose, proporcionando uma melhor qualidade de vida para as pessoas acometidas pela doença.

2.4 NUTRIENTES E METABOLISMO ÓSSEO

2.4.1 Cálcio

Considerado o mineral mais abundante do organismo, o cálcio (Ca) é responsável por 1% a 2% do peso corporal. Cerca de 99% estão presentes nos ossos e dentes, sendo responsável pela manutenção da concentração de cálcio sérico. O restante do mineral se encontra no sangue, fluido extracelular e tecidos moles na proporção de 1%, dos quais 50% desse está na forma biologicamente ativa (forma ionizada), 40% ligado a proteínas não difusíveis, especialmente à albumina, e 10% complexado com íons fosfato e citrato. Além disso, é essencial para a mineralização óssea, dentes e para a regulação de eventos intracelulares em diversos tecidos (SILVA, PIRES, COZZOLINO, 2012; FRANÇA, MARTINI, 2014).

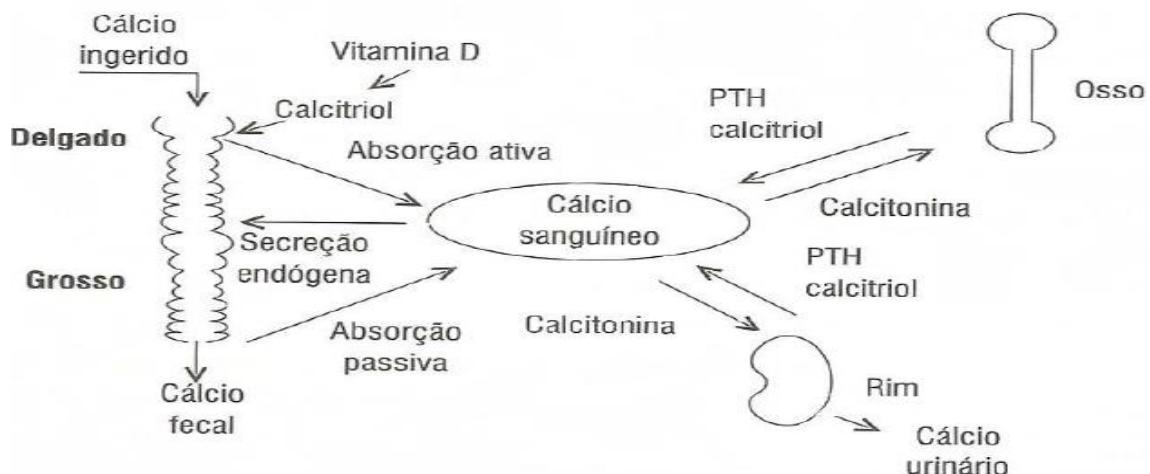
O cálcio presente no esqueleto serve como uma reserva funcional para compensar em momentos em que há baixa ingestão dietética do mineral, e também quando há necessidade de manter a sua homeostase. Além disso, a sua reserva nos ossos é muito grande quando

comparada às reservas extracelulares, dessa forma, na falta de cálcio dietético, as funções bioquímicas do organismo humano dependentes de cálcio raramente são prejudicadas. Por outro lado, a deficiência do nutriente em longo prazo pode esgotar as reservas ósseas, e consequentemente, levar à redução da massa óssea e resistência óssea (WEAVER et al., 2016).

Vale destacar que o cálcio presente na fração mineral dos ossos e dentes se encontra sob a forma de cristais de hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$, o que garante a sustentação do esqueleto (FRANÇA, MARTINI, 2014).

No organismo, as vias percorridas pelo cálcio compreendem a ingestão, digestão, tempo de trânsito intestinal e excreção (SILVA, PIRES, COZZOLINO, 2012). Sua necessidade corporal é dependente do estado do metabolismo do cálcio, regulado por três principais mecanismos: absorção intestinal, reabsorção renal e remodelação óssea. Estes, por sua vez, são controlados por um conjunto de interações hormonais, incluindo o paratormônio (PTH), 1,25-di-hidroxivitamina D [1,25(OH)₂D], cálcio ionizado e os seus receptores correspondentes no intestino, rim e osso (PEACOCK, 2010). Isso pode ser observado na figura 2.

Figura 2 – Vias do Metabolismo do Cálcio no corpo humano

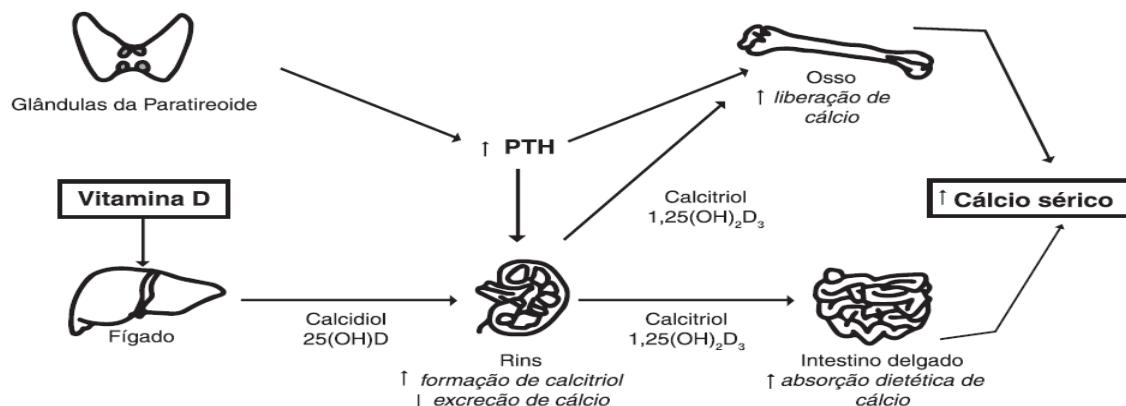


Fonte: Silva, Pires, Cozzolino, 2012.

Dessa forma, quando os níveis séricos de cálcio estão baixos há estímulo na síntese do PTH. Este, por sua vez, aumenta a reabsorção de cálcio no osso e eleva a sua concentração na circulação e garante a diminuição em sua excreção nos rins. De modo adicional, o paratormônio estimula a conversão da vitamina D em sua forma ativa, o calcitriol [1,25(OH)₂D₃] e, isso faz com que a absorção intestinal de cálcio seja estimulada. Esse conjunto todo mantém

normalizadas as concentrações de cálcio ionizável nos fluídos celulares (SILVA, PIRES, COZZOLINO, 2012). Esse processo pode ser visualizado na figura 3.

Figura 3 – Homeostase do cálcio em situação de diminuição do cálcio sérico no corpo humano



Fonte: França, Martini (2014).

Outro hormônio relacionado na homeostase do cálcio é a calcitonina. Esta apresenta efeito hipocalcêmico, impossibilitando a atuação dos osteoclastos e isso faz com que ocorra redução da reabsorção do cálcio no osso, o que confere proteção contra a perda excessiva durante períodos de alta demanda (DAVEY; FINDLAY, 2013).

Ademais, para a manutenção da massa óssea é importante uma boa absorção intestinal de cálcio, onde os hormônios envolvidos nesse processo exerçam adequadamente suas funções. Qualquer fator, dietético ou não, que interfira neste sistema, comprometerá a massa óssea (FRANÇA, MARTINI, 2014).

A absorção do cálcio no organismo acontece por meio de dois mecanismos distintos: uma via transcelular (por meio de células intestinais), que é ativa e saturável, e a via paracelular (entre as células intestinais), a qual é passiva e não saturável (SILVA, PIRES, COZZOLINO, 2012). Ainda, a eficiência de absorção intestinal é inversamente relacionada ao consumo de cálcio dietético, ao passo que uma alimentação pobre no nutriente induz a uma elevação compensatória na absorção fracional, ocasionada, em parte, pela ativação da vitamina D. Essa resposta diminui significativamente com o passar dos anos (CAROLI et al., 2011).

Assim, em todas as fases da vida, o cálcio representa um papel fundamental na saúde óssea, especialmente durante o crescimento ósseo na infância e adolescência e, na manutenção da resistência óssea e prevenção da osteoporose (RIZZOLI, 2014), por isso, a nutrição é parte fundamental desse processo.

Considerada uma fonte importante de cálcio, o leite e seus derivados contêm outros nutrientes como proteínas, potássio, fósforo e magnésio, que apresentam funções importantes para a saúde dos ossos. Dessa forma, a ingestão diária de cálcio por meio de produtos lácteos pode contribuir para melhorar e manter a saúde óssea, além de proteger contra fraturas (RIZZOLI, 2014).

Conforme as atuais recomendações da *Dietary Reference Intake* (DRIs), mulheres com idade igual ou superior a 51 anos necessitam 1200 mg/dia do mineral para suprir suas demandas diárias. Vale ressaltar que os valores estabelecidos pelas DRIs se baseiam nas necessidades para a população norte-americana e que não deveriam ser estendidos a toda a população (ROSS et al., 2011a; 2011b). As recomendações encontram-se na tabela 2.

Tabela 2 – Ingestão Dietética de Referência para Cálcio

Fase da vida	EAR (mg/d)	RDA (mg/d)	UL (mg/d)
51 – 70 anos	1000	1200	2000
> 70 anos	1000	1200	2000

Fonte: ROSS et al., 2011a; 2011b. EAR= necessidade média estimada; RDA= ingestão dietética recomendada; UL= limite superior tolerável de ingestão.

A formação e reabsorção óssea permanecem estáveis na idade adulta, assim, a ingestão de cálcio deve ser mantida em torno de 1000 mg/dia em ambos os sexos. Em fases da vida, onde a absorção intestinal do mineral se encontra reduzida e a taxa de reabsorção óssea aumentada, como nos idosos, as necessidades diárias de cálcio são maiores (FRANÇA, MARTINI, 2014).

No Brasil, a média de ingestão de cálcio dietético varia entre 300 a 500 mg por dia, mostrando que o consumo do nutriente se encontra muito aquém das atuais recomendações internacionais para sexo e faixa etária (PIRES, SILVA, COZZOLINO, 2012). Em recente revisão sistemática sobre a ingestão dietética de cálcio no mundo, Balk et al. (2017), observaram que entre os dados de 74 países, a média de ingestão de cálcio variou de 175 mg à 1233 mg/dia. Os países da América do Sul apresentaram uma baixa ingestão do mineral, cerca de 400 mg a 700 mg/dia. Além disso, a média de ingestão de cálcio foi menor nas mulheres quando comparadas aos homens.

A eficiência da absorção de cálcio após a meia idade, diminui cerca de 0,2% ao ano, com uma redução adicional de 2% na menopausa (WEAVER, HEANEY, 2003). Durante a

primeira fase da menopausa, a perda óssea se encontra em um marcante desequilíbrio negativo de cálcio. Estima-se que a perda média do mineral nos primeiros 3 a 4 anos de menopausa atinja 200 mg/dia e, 5 a 10 anos pós-menopausa, essa perda diminui gradualmente para 45 mg/dia (TELLA, GALLAGHER, 2014).

O cálcio pode ser encontrado em vários grupos alimentares, porém as principais fontes do nutriente estão presentes nos laticínios, os quais que contêm a maior proporção do mineral biodisponível, ou seja, que o organismo melhor absorve (CAROLI, et al., 2011). Além disso, leite e derivados são importantes fontes de proteínas, lipídios, sódio, potássio, fósforo, zinco, vitaminas e componentes funcionais, como a proteína básica do leite (PBL) (MORAIS, BURGOS, 2007), que interagem positivamente sobre vários mecanismos fisiológicos envolvidos na manutenção da saúde dos ossos e na prevenção da osteoporose (BONJOUR et al., 2013).

Os produtos lácteos contribuem com cerca de 2/3 do cálcio alimentar e o restante é suprido por meio das hortaliças, frutas e grãos (CAROLI et al., 2011; SILVA, PIRES, COZZOLINO, 2012). No quadro 1 estão descritas algumas fontes de Ca e suas respectivas quantidades nos alimentos.

Quadro 1 – Principais fontes alimentares de cálcio

Alimento	Porção	Peso (g ou ml)	Cálcio (mg)
Sardinha em lata	3 unidades	72	396
Iogurte natural, desnatado	1 pote	170	266,90
Queijo mozarela	1 fatia média	30	262,50
Leite vaca integral	1 copo	200	246
Iogurte natural	1 pote	170	243,10
Queijo prato	1 fatia média	30	219,30
Couve refogada	5 CS*	100	177
Queijo minas frescal	1 fatia média	30	173,70
Queijo parmesão	1 CS* cheia	15	148,80
Leite vaca desnatado em pó	1 CS* cheia	10	136,30
Gergelim	1 CS*	15	124
Leite vaca integral em pó	1 CS* cheia	10	89
Queijo requeijão cremoso	1 CS* cheia	30	77,70
Queijo ricota	1 CS cheia	30	75,90
Leite condensado	1 CS*	15	36,90
Leite vaca desnatado em pó, UHT	1 CS* cheia	10	13,40

CS* – colher de sopa. Fonte: TACO, 2011 (adaptado).

A atual recomendação de ingestão de leite e derivados, para adultos, é de três porções por dia. Na pirâmide alimentar brasileira, estas fontes alimentares ganham destaque por serem consideradas as principais fontes de cálcio (PHILIPPI, 2013).

Bonjour et al. (2013) destacam que as fontes alimentares lácteas podem contribuir positivamente para a saúde óssea. Salientam que há evidências de que alguns nutrientes presentes nesses alimentos, como as proteínas e o fósforo inorgânico (Pi) podem promover um estímulo na absorção intestinal de cálcio e na reabsorção tubular renal, melhorando, dessa forma, o equilíbrio de cálcio sérico.

Vale salientar que, em relação à biodisponibilidade do cálcio, o mais importante a ser considerado é a quantidade do mineral presente nos alimentos. Alguns componentes alimentares podem influenciar na sua absorção como o ácido oxálico, presente no espinafre, batata doce e feijões, e ácido fítico encontrado em feijões crus, sementes, castanhas, cereais e isolados de soja (SILVA, PIRES, COZZOLINO, 2012). Ainda, a biodisponibilidade do cálcio também é influenciada por fatores endógenos como idade, condições fisiológicas e regulação hormonal (PEREIRA et al., 2009).

Segundo as recomendações para a prevenção e tratamento da osteoporose no Reino Unido, é indicado que a ingestão diária de cálcio deva estar entre 700 mg a 1200 mg, provenientes de fontes alimentares. Também salientam, que o uso de suplementos somente sejam utilizados em casos onde a ingestão alimentar do mineral não foi suficiente para atingir as necessidades diárias (COMPSTON et al., 2017).

Por fim, algumas pesquisas indicam que a suplementação de cálcio pode estar associada ao aumento no risco de doenças cardiovasculares, especialmente o infarto agudo do miocárdio (BOLLAND et al., 2010, 2011; LI et al., 2012). Por outro lado, existem dados que mostram não existir tal relação (REJNMARK et al. 2012; ROJAS-FERNANDEZ et al. 2012; SAMELSON et al. 2012). Em vista disso, atualmente se tem evitado a suplementação via oral desse mineral em todas as pessoas com deficiência, o que torna o cálcio proveniente da dieta ainda mais importante. Também, é importante salientar que ainda não existe um consenso preciso sobre o real risco do uso de suplementos de cálcio sobre o sistema cardiovascular, ao passo que faltam estudos controlados que avaliem tal desfecho.

2.4.2 Vitamina D

A descoberta da vitamina D ocorreu em meados do século XVIII, após a revolução industrial na Inglaterra, quando os casos de raquitismo se tornaram uma epidemia, e também

quando a cura desta doença foi descoberta por meio da administração de um “remédio caseiro”, mais conhecido como óleo de fígado de bacalhau. Assim, a vitamina D foi considerada um micronutriente tradicional até meados da década de 60 quando as investigações começaram a identificar que essa vitamina apresentava não somente função como micronutriente, mas também como um hormônio esteroide (PREMAOR, FURLANETTO 2006; PETERS, MARTINI, 2014).

A vitamina D pode ser encontrada sob duas formas: como vitamina D3 (colecalciferol) e como vitamina D2 (ergocalciferol). A primeira é sintetizada no tecido animal por meio da conversão de 7-dehidrocolesterol na epiderme e derme em humanos. Já, a segunda é produzida em certas plantas, como cogumelos e leveduras. O que distingue quimicamente esses dois tipos de vitamina é a cadeia lateral, onde a vitamina D2 apresenta uma dupla ligação entre os carbonos 22 e 23 e um grupo metila no carbono 24 (NEWBERRY et al., 2014; IOF, 2018c).

No organismo humano, o metabolismo da vitamina D é complexo. Para ela se tornar ativa, esta deve passar por várias hidroxilações. Primeiramente, no fígado formando o calcidiol ou a 25-hidroxivitamina D3 (25OHD3); e após, nos rins, formando os seus principais metabólitos: a sua forma ativa conhecida como calcitriol ou 25(OH)D, e a 24-hidroxicalcidiol ou 24R,25-dihidroxivitamina D3 [24,25(OH)2D3] (PREMAOR, FURLANETTO, 2006; GALLAGHER, 2010; UCRiversidade, 2018).

O calcitriol, forma ativa da vitamina D, tem como principal ação: contribuir para a manutenção da homeostase do cálcio e do fósforo, além de uma adequada mineralização óssea (PREMAOR, FURLANETTO, 2006; GALLAGHER, 2010; LEFEVRE, 2015; PETERS, MARTINI, 2014), ou seja, a vitamina D na sua forma ativa aumenta a absorção de cálcio dietético pelo duodeno por meio de uma via de difusão facilitada e saturável, além de mobilizar o cálcio do osso para a circulação, permitindo, dessa forma, uma mineralização óssea adequada (PREMAOR, FURNALETTI, 2006; WEAVER et al., 2016; NIH, 2018).

Além das principais funções da vitamina D no organismo humano descritas anteriormente, esta parece apresentar outras ações, tais como: na resposta imunológica, ações na liberação de osteocalcina e insulina, ações na manutenção da musculatura esquelética, na secreção de prolactina pela hipófise, alguma participação na depuração da creatinina endógena, na modulação do crescimento celular e na redução da inflamação (PREMAOR, FURLANETTO, 2006; NIH, 2018). Ainda, alterações na expressão gênica do receptor da 25(OH)D foram implicadas na inibição da carcinogênese, e outras foram relacionadas à ações hormonais e parácrinas descritas em vários tumores (mama, melanoma, próstata, intestino, etc.). As funções não endócrinas da vitamina D parecem somente ser afetadas em estados de carência

extrema dessa vitamina (PREMAOR, FURLANETTO, 2006). Salienta-se que, apesar de várias alegações sobre os benefícios da vitamina D além da saúde óssea, as evidências atuais não sustentam uma base para relação causal entre vitamina D e desfechos extra esqueléticos, e que, a principal função no organismo humano deste nutriente continua ser a de assegurar uma adequada saúde óssea (IOM, 2011).

O marcador mais adequado do status de vitamina D no organismo humano é a concentração sérica de 25(OH)D, que reflete a vitamina D sintetizada por meio da pele e à obtida pela alimentação e/ou suplementos (PREMAOR, FURNALETTTO, 2006; IOM, 2011). Além disso, a 25(OH)D tem uma meia-vida sérica de três semanas (PREMAOR, FURNALETTTO, 2006; JONES, 2008). Em relação à sua aferição, apesar de existirem muitas técnicas, ainda não há padronização na sua medida, e a cromatografia de alta performance (HPLC) é considerada, nos dias de hoje, o padrão ouro para sua medida (MAEDA et al., 2014). Entretanto, outras formas mais acessíveis de aferição de vitamina D tem sido utilizadas, com bons resultados (FRASER, MILAN, 2013).

Igualmente ao tipo de aferição da 25OHD, há uma controvérsia entre o *Institute of Medicine* (IOM) e a *Endocrine Society* (ES) sobre o ponto de corte para suficiência de vitamina D. O IOM adota um ponto de corte mais conservador, definindo como suficiência valores iguais ou acima de 20 ng/mL (50nMol/L) (IOM, 2011; ROSS et al., 2011). Por outro lado, a *Endocrine Society*, e a Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia consideram como suficiência valores de 25(OH)D acima de 30 ng/mL (75nMol/L) (MAEDA et al., 2014; LEFEVRE, 2015).

Dawson-Hughes e colaboradores (2005) referem que ainda não há definição para níveis séricos adequados de 25(OH)D, apesar de estudos observarem que os níveis mínimos de vitamina D entre 70 a 80 nmol/L seriam ideias para prevenir fraturas. Ainda, o *International Osteoporosis Foundation* (2018c) salienta que para prevenir fraturas ósseas, um adulto deveria ingerir, aproximadamente, 800 a 1000 UI/dia de vitamina D, o dobro da ingestão recomendada na maioria dos países.

Em relação às recomendações dietéticas diárias para vitamina D, as atuais *Dietary Reference Intakes* sugerem uma ingestão diária suficiente para manter a saúde óssea e o metabolismo normal de cálcio em indivíduos saudáveis. Deve-se salientar que as atuais recomendações são baseadas na população norte americana, e além disso, apesar da luz solar ser considerada a principal fonte desta vitamina, as DRIs foram estabelecidas com base na exposição solar mínima (IOM, 2011; ROSS et al. 2011; LEFEVRE, 2015). As recomendações atuais de vitamina D, conforme as DRIs estão listadas na tabela 3.

Tabela 3 – Ingestão Dietética de Referência para vitamina D

Fase da vida	EAR (UI/dia)	RDA (UI/dia)	UL (UI/dia)
51 – 70 anos	400	600*	4000
> 70 anos	400	800	4000

Fonte: IOM, 2011; ROSS et al., 2011. EAR= necessidade média estimada; RDA= ingestão dietética recomendada; UL= limite superior tolerável de ingestão.

*Recomendações diárias para idosos com 60 anos ou mais são de 800 a 1000 UI/dia para prevenção de quedas e fraturas (IOF, 2018c).

As fontes alimentares de vitamina D são muito limitadas e podem ser encontradas em peixes marinhos (salmão, cavala, sardinha, atum, arenque), camarão, ovos (gema), fígado, além de alimentos fortificados (lácteos, margarinas, cereais, sucos) (GALLAGHER, 2010; LEFEVRE, 2015). Alguns exemplos de fontes alimentares de vitamina D e suas concentrações podem ser observadas no quadro 2.

Quadro 2 – Fontes alimentares de Vitamina D

Alimento	Peso (g)	Vitamina D (UI)
Cogumelos secos ao sol	100	1600 D ₂
Óleo de fígado de bacalhau	100	924 D ₃
Cavala grelhada	100	352 D ₃
Salmão grelhado	100	284 D ₃
Sardinha enlatada	100	184 D ₃
Atum enlatado	100	144 D ₃
Cogumelos frescos	100	100 D ₂
Cereal matinal	30	52 D ₃
Fígado de cordeiro	100	36 D ₃
Gema de ovo	1 unidade média	20 D ₃

Fonte: GALLAGHER, 2010; MAEDA et al., 2014; PETERS, MARTINI, 2014; IOF, 2018c (adaptada).

Além das fontes alimentares, a vitamina D pode ser sintetizada a partir da pele por meio da exposição à luz ultravioleta B (raios UVB) do sol. A quantidade de vitamina D que é produzida irá depender da hora do dia, da estação do ano, da latitude, da cor da pele, além de outros fatores, como o uso de filtro solar e de roupas, pessoas institucionalizadas e/ou que não ficam expostas ao sol (NOF, 2013; LEFEVRE, 2015; IOF, 2018c). Vale destacar, que as limitações relacionadas à exposição ao sol não podem ser ignoradas, pois a vitamina D é o único

nutriente que funciona como um hormônio e o organismo humano tem a capacidade de sintetizar este nutriente se a exposição ao sol for realizada de forma correta. Assim, em decorrência do risco de câncer de pele, as recomendações sobre a exposição solar são limitadas, pois existem divergências em relação aos efeitos da exposição ao sol na síntese de vitamina D, e até o momento, é difícil de medir a quantidade de vitamina D que a pele pode produzir. Por isso, atualmente as recomendações para atingir as necessidades diárias de vitamina D devem ser realizadas por meio de fontes alimentares e/ou por meio de suplementos, aliados à uma exposição solar mínima (IOM, 2011).

Estima-se que na população em geral da América Latina a prevalência de deficiência de vitamina D seja de, aproximadamente, 20% a 59%; nos Estados Unidos de 36%, e no Canadá de 61%. Já na Europa, essa prevalência pode chegar até 92%, dependendo da localização, e no Oriente Médio em 100%. Uma explicação para essa alta prevalência de deficiência de vitamina D pode estar relacionada à exposição solar inadequada pela população, às baixas temperaturas, e também pelos hábitos culturais, ou seja, ao tipo de vestimentas que impedem a absorção dos raios solares (HOSSEIN-NEZHAD, HOLICK, 2013). Em recente ensaio clínico, mais conhecido como *VITamin D and OmegA-3 TriaL – VITAL*, realizado com 26 871 indivíduos, foi observado que 12,7% dos participantes apresentavam deficiência de vitamina D ($25(\text{OH})\text{D} < 20\text{ng/ml}$) (MANSON et al., 2018). Já no Brasil, existem poucos estudos que comprovem essa prevalência. Em estudo realizado com 81 indivíduos adultos internados em enfermarias de medicina interna em um hospital geral do Rio Grande do Sul, observou-se que a média de $25(\text{OH})\text{D}$ foi de $12 \pm 8,57\text{ng/mL}$, e 77,8% dos pacientes apresentaram níveis séricos de $25(\text{OH})\text{D} < 20\text{ng/mL}$ (PREMAOR et al., 2004). Por outro lado, Maeda et. al. (2007; 2010) encontraram níveis adequados em 121 jovens saudáveis na cidade de São Paulo e 99 adultos e idosos, também saudáveis. Nesses estudos, as médias dos níveis séricos de $25(\text{OH})\text{D}$ foi de $78,7 \pm 33,1\text{nmol/L}$ nos jovens, e de $78,9 \pm 30,9\text{nmol/L}$ nos adultos e idosos (estes últimos valores são a média do inverno). Esses dados tanto podem refletir uma diferença de prevalência nas diferentes regiões brasileiras, quanto uma diferença na presença ou ausência de fatores de risco para deficiência de vitamina D.

Em relação aos fatores de risco mais comumente citados para deficiência de vitamina D destacam-se a pouca exposição ao sol, seja por meio do uso de roupas, altitude, regiões com pouca luz solar, uso de protetor solar, pessoas institucionalizadas. Além disso, a redução da capacidade de sintetizar vitamina D pela pele e de absorver a vitamina D, e doenças que influenciam no metabolismo da vitamina D também podem estar relacionados na deficiência desta vitamina (PREMAOR, FURLANETTO, 2006). Além disso, a SBEM considera como

grupos de risco para deficiência de vitamina D: os idosos, indivíduos obesos, crianças com até cinco anos de idade, gestantes e lactantes, pessoas de risco para osteoporose, uso de medicações como anticonvulsivantes, pessoas com doença renal crônica, doenças inflamatórias intestinais (má absorção), pós cirurgia bariátrica, pessoas com contraindicação a exposição solar (lúpus eritematoso sistêmico, e câncer de pele), além de indivíduos com baixa exposição solar efetiva (uso de filtro solar, vestimentas religiosas, confinados, pele negra) (MAEDA et al., 2014)

Durante a deficiência de vitamina D, a matriz óssea depositada pelos osteoblastos não é mineralizada, e os osteoclastos mantém a reabsorção óssea, o que ocasiona maior desmineralização e, consequentemente, fragilidade óssea. Em adultos, não existe a presença do raquitismo, pois a parte mineralizada do osso cortical se torna mais fina, e as deformidades ósseas somente irão surgir em estágios mais avançados da doença. Neste caso, a consequência mais frequente é a diminuição da absorção intestinal de cálcio, o que leva à hipocalcemia temporária devido ao aumento compensatório do PTH. Ainda, os níveis de cálcio no sangue geralmente se encontram normais ou próximos dos valores de referência, há hipofosfatemia e redução nos níveis séricos de calcitriol. Além disso, poderá ocorrer uma carência de 25(OH)D associada à deficiência de vitamina D devido à falta de substrato, e um aumento da fosfatase alcalina, levando à uma perda de massa óssea com risco maior de fraturas. Outras consequências comumente observadas na deficiência de vitamina D são a dor e a fraqueza muscular, decorrentes do relaxamento e contração muscular prejudicados, e isso pode levar ao aumento do risco de quedas, e consequentemente, o risco de fraturas ósseas (PREMAOR, FURLANETTO, 2006).

Considerados como grupos de risco, a população de idosos tendem a apresentar níveis mais baixos de vitamina D, especialmente quando associados à fatores de risco. Ainda, tanto em adultos jovens quanto em idosos, as concentrações séricas de 25(OH)D podem variar conforme a região geográfica e a latitude, sendo mais adequadas próximo da linha do Equador, conforme a estação do ano, com picos durante o verão e o nadir no inverno, além dos hábitos culturais dos povos que podem interferir na exposição ao sol. Como exemplo, na Arábia Saudita é observado uma prevalência de hipovitaminose D de 40%, especialmente no inverno. Já na Alemanha, imigrantes turcos possuem níveis séricos de vitamina D mais baixos quando comparados à população em geral (PREMAOR, FURLANETTO, 2006).

Como descrito anteriormente, a relação entre os níveis séricos de 25(OH)D e determinadas doenças osteometabólicas como quedas, fraturas, redução da massa óssea, osteomalácia e raquitismo, está melhor definida na literatura (BISCHOFF-FERRARI, 2009). No entanto, a associação entre a deficiência de vitamina D e condições extra esqueléticas, como

exemplo, a qualidade de vida relacionada à saúde avaliada por meio de questionários validados, ainda necessita ser melhor elucidada.

2.4.3 Fósforo

No organismo humano, a maior parte do fósforo (P) que não está mineralizado nos tecidos, encontra-se na forma de fosfato inorgânico, também chamado de fosfato livre. Esta forma é altamente ionizável e facilmente difusível por meio das membranas celulares. Já a forma orgânica é ligada a açúcares, proteínas e demais compostos celulares (MONTEIRO, VANNUCCHI, 2010a). No corpo adulto, o fósforo totaliza 600g a 900g o que corresponde a 0,8% a 1,1% e, aproximadamente, 85% está na forma de fosfato orgânico e estocado como hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ nos ossos e dentes, juntamente com o cálcio. No osso desmineralizado, o fósforo é transformado em matriz óssea dura, que compõem a matriz inorgânica do osso. O restante se encontra distribuído em tecidos moles e no fluido extracelular (MONTEIRO, VANNUCCHI, 2010a; SILVA, CALLOU, COZZOLINO, 2012).

O mineral apresenta um importante papel estrutural no organismo, constituindo o principal componente dos ossos e dentes. Também faz parte da estrutura química dos fosfolipídios, fosfoglicídios, fosfoproteínas, ácidos nucleicos e nucleotídeos (SILVA, CALLOU, COZZOLINO, 2012).

Em relação às fontes alimentares, este pode ser encontrado em: carnes, aves, pescados, ovos, vísceras, leite e derivados, leguminosas, oleaginosas e cereais integrais. É importante destacar que o ácido fítico, presente externamente em grãos de cereais e leguminosas, pode se unir a alguns minerais formando compostos insolúveis e impedindo a absorção de fósforo e demais nutrientes. Ainda, vale salientar que há um aumento na ingestão excessiva de fósforo por meio dos aditivos de polifosfatos, que são utilizados no processamento industrial, elevando a quantidade de fósforo de alguns alimentos industrializados, principalmente em bebidas carbonatadas (GALLAGHER, 2010). Algumas fontes de P e suas quantidades nos alimentos estão descritas no quadro 3.

Quadro 3 – Fontes alimentares de Fósforo

Alimento	Peso (g ou ml)	Fósforo (mg)
Castanha-do-brasil	100	853
Semente de gergelim	100	741
Semente de linhaça	100	615

Quadro 3 – Fontes alimentares de Fósforo

(continuação)

Amêndoas torradas salgadas	100	493
Amendoim	100	407
Aveia flocos cruas	100	119
Leite vaca desnatado Pó	100	109
Lentilha cozida	100	104
Arroz integral cozido	100	59
Feijão preto cozido	100	40
Couve manteiga crua	100	35
Banana prata	100	26
Broto feijão cru	100	25
Beterraba cozida	100	17
Brócolis cozido	100	15
Cenoura cozida	100	14
Iogurte natural desnatado	100	12
Ovo cozido	100	11
Leite vaca integral	100	10
Arroz branco cozido	100	2,0

Fonte: TACO, 2011.

As atuais recomendações dietéticas de fósforo para mulheres com 51 anos ou mais podem ser observadas na tabela 4.

Tabela 4 – Ingestão Dietética de Referência para Fósforo

Fase da vida	EAR (mg/d)	RDA (mg/d)	UL (g/d)
51 – 70 anos	580	700	4
> 71 anos	580	700	3

Fonte: IOM, 1997. EAR= necessidade média estimada; RDA= ingestão dietética recomendada; UL= limite superior tolerável de ingestão; AI = ingestão adequada.

No organismo, sua absorção é dependente do meio ácido, ou seja, do pH intestinal, que mantém a sua solubilidade, aumentando assim, a biodisponibilidade do mineral. Do total de fósforo consumido por meio da alimentação, 55% a 70% são absorvidos, sendo a maior parte na forma inorgânica (MONTEIRO, VANNUCCHI, 2010a).

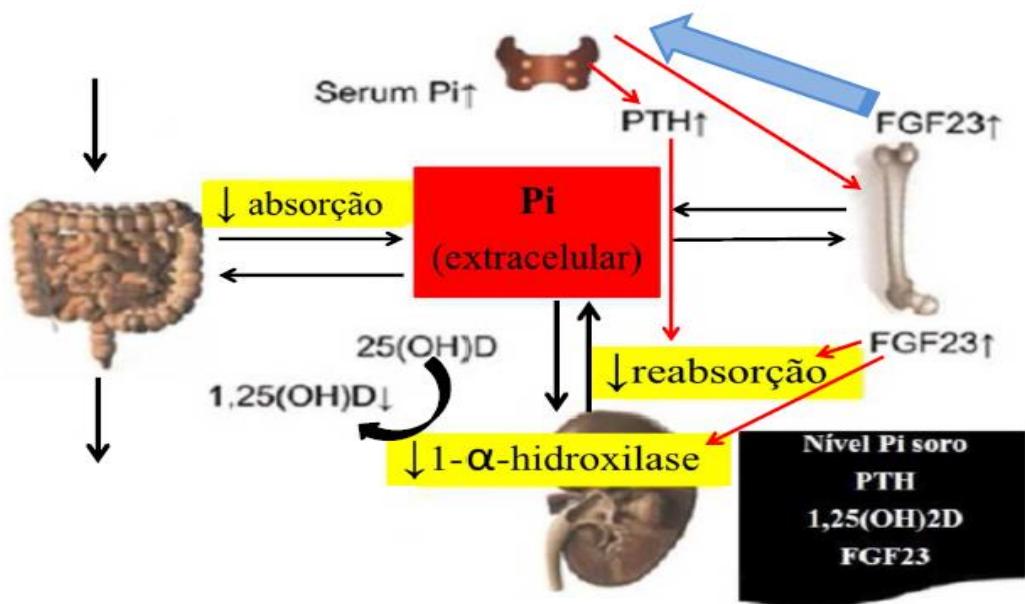
Contrariamente ao cálcio, a baixa ingestão de fósforo não induz um mecanismo de adaptação que estimule sua absorção. Este é absorvido em todo o intestino delgado, por meio de um sistema de cotransporte com o íon sódio. Já no plasma, este é transportado ligado ao cálcio, magnésio, sódio e proteínas. Assim como o cálcio, o fósforo possui um mecanismo de

regulação da sua concentração sanguínea, visto que em casos de hipofosfatemia, ocorre liberação do fosfato do osso para normalizar as suas concentrações séricas (onde o osso representa uma fonte de reservatório do mineral) (GALLAGHER, 2010).

Em adultos, o balanço diário de fósforo depende da comunicação de vários tecidos, como intestino, rins, ossos e tecidos moles, com o líquido extracelular, por meio dos mecanismos de absorção, excreção, mineralização, desmineralização e transporte, e isso assegura que as concentrações do mineral no meio sérico sejam mantidas (MONTEIRO, VANNUCCHI, 2010a).

Assim, o metabolismo do fósforo em humanos acontece da seguinte maneira: elevada ingestão de fósforo dietético acarreta um aumento nas concentrações séricas de fósforo, que promove estímulo da secreção do hormônio paratireoide e do fator de crescimento de fibroblasto-23 (FGF-23), que provocam a fosfatúria. PTH e FGF-23 ativam e inibem a produção de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, fazendo com que ocorra um aumento e redução na absorção de fósforo intestinal, respectivamente. Ainda, o PTH promove a secreção de FGF-23, ao passo que este inibe a secreção de PTH (TAKEDA et al., 2014), o que pode ser observado na figura 4.

Figura 4 – Metabolismo do Fósforo no corpo humano



Fonte: Takeda et al., 2014 (adaptado). FGF23: fator de crescimento de fibroblastos 23; Pi: fosfato inorgânico; PTH: paratormônio; $1,25(\text{OH})_2\text{D}$: 1,25-di-hidroxivitamina D; $25(\text{OH})\text{D}$: 25-hidroxivitamina D.

Ademais, a ingestão de fósforo deve ser estimulada concomitantemente à ingestão de cálcio. Segundo Calvo e Tucker (2013) a reação fisiológica ao excesso de ingestão de fósforo é muito influenciada pela ingestão de cálcio. Anderson (2010) cita que um consumo em excesso de fósforo na forma de fosfatos pode influenciar a razão Ca/P, principalmente se a ingestão de cálcio for baixa, fazendo reduzir as concentrações de cálcio ionizável, consequentemente estimulando o PTH e, se isso se tornar um processo crônico, pode levar à perda óssea. Silva, Pires e Cozzolino (2012) descrevem que ainda não está esclarecida a relação Ca/P adequada, e que existem algumas controvérsias sobre qual seria a quantidade ótima de cálcio e fósforo em relação à manutenção da massa óssea por um longo período.

No entanto, existem evidências de que a ingestão elevada de fósforo não apresenta impacto negativo sobre o balanço de cálcio em indivíduos normais que possuem ingestão adequada de cálcio e fósforo (HEANEY et al., 2010).

Pesquisa realizada por Lee et al. (2014), com 2309 homens e 2626 mulheres para avaliar se o consumo alimentar de cálcio e fósforo e sua relação (Ca/P) estavam associados com a massa óssea, com dados do *Korean National Health and Nutrition Examination Survey* (KNHANES) V-1, observaram que o consumo de cálcio em mulheres na pré-menopausa, apresentou uma pequena associação significativa com a massa óssea no colo do fêmur ou no corpo todo, sugerindo, portanto, que um aumento na ingestão de cálcio e alta relação Ca/P podem apresentar efeitos benéficos sobre a massa óssea na população coreana.

Em pesquisa sobre a associação entre a ingestão de fósforo e parâmetros de saúde óssea em um estudo transversal do *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES 2005-2010), Lee e Cho (2015), observaram que a ingestão elevada de fósforo foi associada com uma melhora de 4,2% no conteúdo mineral ósseo e de 2,1% na densidade mineral óssea. Além disso, os achados mostraram que também houve uma redução na chance de osteoporose em 45% dos adultos cuja ingestão de cálcio e fósforo estava dentro das necessidades recomendadas.

Ainda que o fósforo seja considerado essencial ao organismo, existem evidências de que o seu consumo em excesso pode ser prejudicial à saúde óssea. Por exemplo, a ingestão crônica de uma dieta com alta quantidade de fósforo e reduzida em cálcio, provoca um aumento significativo na concentração de PTH, levando ao hiperparatireoidismo secundário nutricional. Além disso, pode estar relacionado à secreção e ação do fator de crescimento de fibroblastos-23. A regulação desordenada desses hormônios pode favorecer o aumento do turnover ósseo e da reabsorção, resultando em redução da massa e densidade ósseas (URIBARRI, CALVO, 2013).

Pinheiro et al. (2009) mostraram que uma ingestão de fósforo tem sido associada a fraturas por fragilidade óssea na população brasileira, em que para cada 100mg de fósforo, a chance de fraturas aumentou em 9%. Takeda et al. (2014), referem que estes achados sugerem que o elevado consumo de fósforo dietético em longo tempo, assim como a hiperfosfatemia crônica podem ser importantes fatores negativos para a saúde óssea.

Outra questão a ser destacada é a ingestão excessiva de fósforo por meio de bebidas carbonatadas e seu efeito na saúde óssea. Em uma pesquisa de coorte de base populacional, observou-se uma forte associação consistente entre o consumo de bebidas a base de cola e baixa densidade mineral óssea em mulheres (TUCKER et al., 2006).

Também, existem evidências que sugerem que a formação de cinza ácida pelo fosfato pode contribuir para liberação de cálcio do osso e levar à osteoporose. Em metanálise realizada por Fenton et al. (2009), não foi encontrada comprovações de que a ingestão de fosfato seja um fator contribuinte para a desmineralização óssea ou para a excreção de cálcio na urina.

2.4.4 Magnésio

No organismo, a quantidade de magnésio (Mg) é, aproximadamente, 25g, dos quais 60% a 65% se encontram nos ossos, 26% nos músculos e o restante nos tecidos moles (GALLAGHER, 2010). Considerado o segundo cátion mais abundante no meio intracelular, este pode estar localizado em tecidos moles e no interior das células e, em menor proporção (1%), no plasma na sua forma livre ionizada (Mg^{2+}), 20% a 30% ligado a proteínas e 1% a 2% complexado aos demais ânions (MONTEIRO, VANNUCCHI, 2010b).

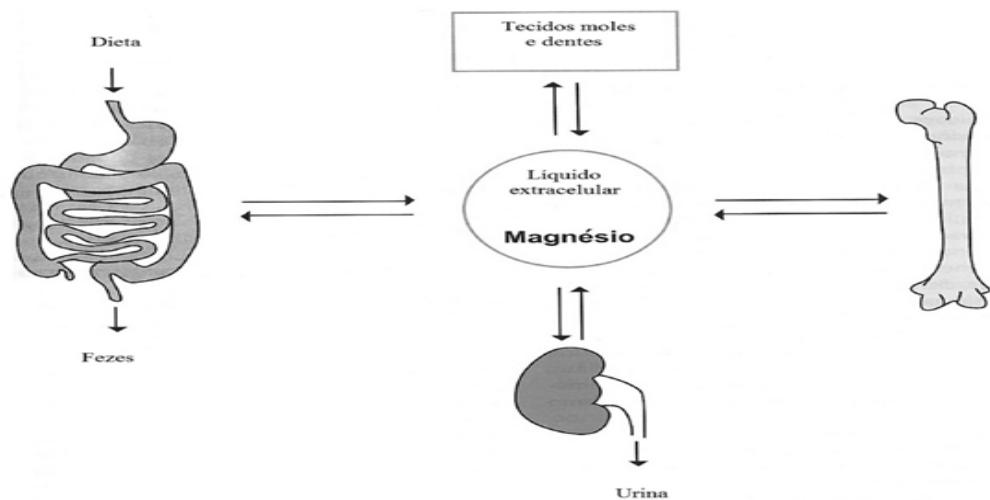
O equilíbrio fisiológico do magnésio é mantido pelo intestino, ossos e rins (JAHNEN-DECENT, KETTELER, 2012). Cerca de 45% a 50% do mineral ingerido por meio da alimentação é absorvido no intestino delgado, cólon e, em pequena proporção no estômago e, aproximadamente, 55% é excretado pelas fezes (MONTEIRO, VANNUCCHI, 2010b; MAFRA, COZZOLINO, 2012).

A regulação do magnésio sérico é constante e, ainda não foi identificado um sistema homeostático que mantenha em equilíbrio essa concentração plasmática. Esse sistema depende, na maior parte, da absorção gastrointestinal e excreção renal do que pela regulação hormonal. Nas células, o mineral se une, especialmente, às proteínas e aos fosfatos ricos em energia (GALLAGHER, 2010).

Durante o envelhecimento, a quantidade total de magnésio no organismo apresenta uma tendência a reduzir gradualmente. Na fase adulta, seu balanço diário depende de um conjunto de

interações entre intestino, rins, ossos e tecidos moles com o líquido extracelular, por meio de mecanismos de absorção, excreção, mineralização, desmineralização e transporte. Assim, as concentrações séricas do mineral são sempre mantidas dentro de uma faixa de normalidade (MONTEIRO, VANNUCCHI, 2010b). O balanço diário de magnésio pode ser visualizado na figura 5.

Figura 5 – Balanço de Magnésio no corpo humano



Fonte: Monteiro, Vannucchi, 2010b (adaptado).

Vale salientar que o consumo alimentar de magnésio é inversamente proporcional à sua absorção. Alguns compostos presentes nos alimentos e/ou certos nutrientes podem facilitar ou dificultar o processo de absorção no organismo. Fosfato, álcalis, fitatos, além do álcool e excesso de lipídios são considerados como dificultadores na sua absorção, ao passo que a lactose e demais carboidratos, o hormônio da paratireoide e a vitamina D são facilitadores nesse processo (GALLAGHER, 2010).

O magnésio está presente em alimentos vegetais verde-escuros, sendo constituinte da clorofila, em legumes, peixes, oleaginosas, leite e derivados e cereais integrais (MAFRA, COZZOLINO, 2012; CASTIGLIONI et al. 2013). Algumas fontes alimentares de Mg e suas concentrações podem ser observadas no quadro 4.

Quadro 4 – Fontes alimentares de Magnésio

Alimento	Peso (g ou ml)	Magnésio (mg)
----------	----------------	---------------

Quadro 4 – Fontes alimentares de Magnésio

(continuação)

Castanha-do-brasil	100	365
Semente de gergelim	100	361
Semente de linhaça	100	347
Amêndoas torradas salgadas	100	222
Aveia flocos cruas	100	119
Melado	100	115
Leite vaca desnatado pó	100	109
Arroz integral cozido	100	59
Feijão preto cozido	100	40
Couve manteiga crua	100	35
Banana prata	100	26
Broto feijão cru	100	25
Beterraba cozida	100	17
Brócolis cozido	100	15
Cenoura cozida	100	14
Iogurte natural desnatado	100	12
Ovo cozido	100	11
Leite vaca integral	100	10
Arroz branco cozido	100	2,0

Fonte: TACO, 2011.

As recomendações de ingestão de magnésio, propostas pelos Estados Unidos e Canadá, para mulheres com idade ≥ 51 anos são demonstradas na tabela 5.

Tabela 5 – Ingestão Dietética de Referência para Magnésio

Fase da vida	EAR (mg/d)	AI/RDA (mg/d)	*UL (mg/d)
51 – 70 anos	265	320	350
> 71 anos	265	320	350

Fonte: IOM, 1999. EAR= necessidade média estimada; RDA= ingestão dietética recomendada; *UL= limite superior tolerável de ingestão (referente à ingestão via suplementos); AI = ingestão adequada.

O magnésio também é necessário para a formação e manutenção do osso e pode ser referido como um antagonista natural do cálcio (JAHNEN-DECENT, KETTELER, 2012). Isso porque está metabolicamente relacionado ao cálcio, podendo atuar tanto em sinergismo quanto em antagonismo. Ainda, faz parte da estrutura óssea mineral juntamente com o cálcio e o fosfato e atua nos processos onde acontece a troca desses minerais entre o osso e os tecidos (MONTEIRO, VANNUCCHI, 2010b).

Além dos efeitos diretos sobre a estrutura e as células do esqueleto, a deficiência de magnésio apresenta também impactos indiretos sobre o osso, pois afeta a homeostase de dois reguladores do cálcio: o PTH e 25(OH)D (calcitriol), levando a hipocalcemia (PIRONI et al., 2009).

Segundo Mafra e Cozzolino (2012), o dispositivo pelo qual a deficiência de magnésio agrava ou leva à osteoporose até o momento é duvidoso, porém existem explicações que descrevem ser consequente a redução do pH na hipomagnesemia por alterar a bomba H-K-ATPase, provocando uma maior instabilidade óssea. Além disso, Gallagher (2010) descreve que o resultado de uma perda de magnésio no metabolismo ósseo se relaciona a diminuição na síntese de PTH e, consequentemente, concentrações séricas baixas desse hormônio, baixos níveis sanguíneos de 25(OH)D e resistência à vitamina D. Isso, somado a outros fatores poderia levar ao surgimento da osteoporose.

Nieves (2005) salienta a importância que uma dieta saudável, com uma ingestão de cinco ou mais porções de frutas e hortaliças por dia, pode garantir as necessidades dos micronutrientes importantes para os ossos, dentre eles o magnésio. Ainda, refere que existem dados inconclusivos e pesquisas pouco consistentes sobre o magnésio e a prevenção da osteoporose e fraturas em indivíduos.

2.4.5 Proteínas

Considerada o primeiro nutriente essencial do organismo, as proteínas, comparadas aos carboidratos e gorduras, são as únicas que possuem o nitrogênio, enxofre e demais minerais, dentre eles o fósforo, ferro e cobalto. Ainda, são constituídas por um conjunto de vinte aminoácidos, responsáveis por várias funções, dentre elas estruturais, reguladoras, defesa e transporte nos fluidos celulares (TIRAPEGUI, CASTRO, ROSSI, 2012).

Nutricionalmente, podem ser classificadas em completas (origem animal), parcialmente completas (vegetais) e incompletas, em consequência dos aminoácidos essenciais que as compõe, ou seja, aqueles que o organismo não consegue produzir por meio de outros compostos orgânicos. Dessa forma, estes devem ser fornecidos por meio de fontes alimentares, pois sua falta pode causar modificações nos processos bioquímicos, fisiológicos e na síntese de proteínas. São considerados aminoácidos essenciais: fenilalanina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptofano e valina (TIRAPEGUI, CASTRO, ROSSI, 2012).

Em relação às fontes alimentares, as melhores são as de origem animal (carnes, aves, peixes, leite e derivados e ovos), porém o consumo de cereais, leguminosas (feijões, lentilha,

soja, ervilha, grão de bico), e oleaginosas (castanhas, nozes, amêndoas dentre outras) também fornecem os aminoácidos necessários para a síntese de proteínas (GALLAGHER, 2010; TIRAPEGUI, CASTRO, ROSSI, 2012).

As recomendações atuais de proteínas, conforme as DRIs estão listadas na tabela 6.

Tabela 6 – Ingestão Dietética de Referência para proteínas.

Fase da vida	RDA/AI* g/d¹	AMDR² (%)
50 – 70 anos	46	15 – 35
> 70 anos	46	15 – 35

Fonte: DRIs, 2002/2005. RDA= ingestão dietética recomendada; AI = ingestão adequada. g/d¹ - baseado em 0,8g/kg/dia para adultos. AMDR² - Intervalo Distribuição de macronutrientes aceitável é a faixa de consumo de uma fonte de energia especial, que está associado a um risco reduzido de doença crônica, proporcionando a ingestão de nutrientes essenciais. Se um indivíduo consome em excesso o AMDR, existe um potencial de aumentar o risco de doenças crônicas e ingestão insuficientes.

No entanto, pesquisas atuais sugerem ingestões diárias proteicas acima das recomendações das DRIs. Para idosos saudáveis é recomendado um consumo entre 1,0g a 1,2g/Kg de peso corporal/dia e, para aqueles que apresentam comorbidades agudas ou crônicas, no mínimo, 1,2g a 1,5g/Kg de peso corporal /dia. Ainda, este valor pode ser elevado até 2,0g/Kg/dia para idosos com condições de saúde mais graves (DEUTZ et al., 2014). Em recente diretriz da *European Society for Clinical Nutrition and Metabolism* (ESPEN) para idosos é recomendado uma ingestão mínima de 1 g/Kg/dia de proteínas (Grau de recomendação B) (VOLKERT et al., 2019).

Outrossim, autores referem que a distribuição das proteínas ao longo do dia pode ser importante. É sugerido um fracionamento entre 20g a 25g nas principais refeições do dia (desjejum, almoço e jantar), a fim de permitir uma estimulação adequada na síntese da proteína do músculo pós-prandial ao longo de um período de 24 horas (PADDON-JONES, RASMUSSEN, 2009; LOENNEKE, PUJOL, 2011; BREEN, PHILLIPS, 2011; RIZZOLI et al., 2014).

Considerada como importante componente estrutural dos ossos, além de sua função no crescimento e manutenção dos tecidos (CONIGRAVE, BROWN, RIZZOLI, 2008), as proteínas podem impactar positiva ou negativamente na saúde óssea. No esqueleto, estas compõem a parte da matriz orgânica, cuja função principal é manter a produção de hormônios

e do fator de crescimento (IGF-I) que modulam a síntese óssea (GUILHERME, COZZOLINO, 2012).

As proteínas parecem ter um papel fundamental não só para os ossos, mas também para manutenção da massa magra. Alguns estudos descrevem que durante a menopausa, há uma perda acelerada de massa magra e força muscular associada com uma redução na densidade mineral óssea, o que pode contribuir para o surgimento de fraturas ósseas (RIZZOLI et al., 2014).

Pode-se considerar que a proteína apresenta um efeito anabólico no osso (ANDERSON, 2010). Tanto o consumo em excesso quanto a baixa ingestão de proteína dietética, podem influenciar a saúde dos ossos. Sebastian (2005) refere que existem duas explicações diferentes sobre isso: um efeito anabólico e outro catabólico sobre o osso, os quais levam à produção de uma carga ácida e, a diferença entre um e outro pode resultar em ganho ou perda óssea. Em situações onde há abundância e/ou muita falta de proteínas, pode ocorrer uma ação metabólica que acaba prejudicando a densidade mineral óssea, assim como, o seu conteúdo mineral.

Em relação aos benefícios positivos e negativos de uma alta ingestão de proteínas para a saúde óssea, pode-se considerar como positivos: o fornecimento de aminoácidos essenciais, que são importantes para a síntese de colágeno da matriz óssea; também elevam os níveis séricos de IGF-I, que auxiliam no aumento da formação óssea; e reduzem os níveis séricos de PTH, o que promove uma diminuição da reabsorção óssea e um aumento da absorção de cálcio intestinal (CONIGRAVE, BROWN, RIZZOLI, 2008; CAO, 2017). Como negativos, pode-se considerar a produção de ácidos a partir de aminoácidos sulfurados, os quais irão influenciar na redução de absorção de cálcio pelos rins, na diminuição da atividade osteoblástica e aumento da atividade osteoclastica, e por fim, um aumento da excreção de cálcio pela urina (CAO, 2017).

Conforme Rizzoli et al. (2014), a proteína dietética pode influenciar positivamente a saúde do osso, por meio do aumento na absorção de cálcio, na supressão do PTH e maior síntese de IGF-I, considerado um potente estimulador do anabolismo ósseo. Além disso, salientam que não há nenhuma evidência para apoiar a teoria de que a alta ingestão de proteínas (de origem animal) leva ao aumento da reabsorção óssea, perda óssea e osteoporose. Cao (2017) descreve que estudos recentes sugerem que uma alta ingestão de proteína dietética não promove malefícios para a saúde óssea se existir um consumo adequado de outros nutrientes, como cálcio e vitamina D.

Ingestões muito baixas de proteínas dietéticas por períodos prolongados podem levar à diminuição nas concentrações de albumina no sangue e, ao mesmo tempo, reduzir o cálcio ionizável e o IGF-I (ANDERSON, 2010), evidenciando seu efeito direto sobre as proteínas

reguladoras e o fator de crescimento, os quais estão envolvidos no crescimento dos músculos e osso (RIZZOLI et al., 2014). Por exemplo, o consumo de proteínas abaixo das recomendações diárias de 0,8 a 1,0g/Kg peso corporal/dia, em mulheres idosas foi associada a uma redução nos níveis de IGF-I, além de atrofia da fibra muscular. Já aqueles com ingestão superior (1,1g/Kg de peso corporal/dia), apresentaram menor perda de massa muscular (RIZZOLI et al., 2014).

Conigrave, Brown e Rizzoli (2008) salientam que quando o consumo é moderado a alto, a proteína parece exercer um efeito positivo sobre o esqueleto no que se refere ao aumento da densidade mineral do osso e uma reduzida perda de massa óssea em adultos. Para a incidência de fraturas, os autores salientam que os dados são controversos. Em recente revisão de especialistas da *European Society for Clinical and Economical Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis, and Musculoskeletal Diseases* (ESCEO) e a *International Osteoporosis Foundation* (IOF) sobre os benefícios e a segurança da proteína dietética para a saúde óssea, foi observado que uma dieta rica em proteínas, pode ser benéfica para a saúde óssea em adultos e idosos, desde que a ingestão de cálcio seja adequada. Além disso, os autores descrevem que não há evidências de que a carga ácida, relacionada à ingestões mais elevadas de proteína na dieta, tanto de origem animal quanto vegetal, possa contribuir para o desenvolvimento de osteoporose e/ou aumentar o risco de fraturas (RIZZOLI et al., 2018).

2.5 FRUTAS E HORTALIÇAS

Dentre as diversas investigações sobre nutrição e saúde óssea, o consumo de frutas e hortaliças (vegetais folhosos e legumes) tem sido objetivo de diferentes delineamentos de estudos (observacionais, de coorte e Ensaios Clínicos Randomizados) nos últimos anos, tentando elucidar a relação entre o aumento da ingestão destes grupos de alimentos e sua relação com a densidade mineral óssea, os marcadores de reabsorção óssea, assim como na incidência de fraturas, dentre outras associações (TUCKER et al., 1999; TUCKER et al., 2002; PRYNNE et al., 2006; EBRAHIMOF et al., 2009; LANGSETMO et al., 2011; ZENG et al., 2013; LI et al., 2013; XIE et al., 2013; YANG, KIM, 2014; NEVILLE et al., 2014; LIU et al., 2015; BYBERG et al., 2015; FUNG, FESKANICH, 2015; GUNN et al., 2015; de FRANÇA et al., 2016).

A nutrição pode ser considerada uma medida auxiliar ao tratamento medicamentoso da osteoporose. A relação benéfica entre o consumo regular de frutas e hortaliças no metabolismo ósseo pode ser mediada pela ação de compostos bioativos, como flavonoides, carotenoides e polifenois que apresentam ação antioxidante e anti-inflamatória (SHEN et al., 2012), além de

micronutrientes, tais como vitaminas A, K, E, C, magnésio, potássio e demais componentes que influenciam beneficamente o esqueleto. Para Nieves (2005), uma dieta saudável, com ingestão de cinco ou mais porções de frutas e hortaliças por dia, pode garantir as necessidades dos micronutrientes importantes para os ossos.

Conforme recomendação da OMS, atualmente é preconizada uma ingestão de 400g de frutas e hortaliças por dia, o que equivale a cinco porções diárias, ou mais (3 de frutas e 3 de hortaliças). Ainda, em relação à saúde óssea, a OMS destaca que apesar da falta de evidências mais concretas sobre a ingestão de frutas e hortaliças e fraturas ósseas, uma dieta adequada, com aumento no consumo regular dessas fontes alimentares podem contribuir para redução no risco das fraturas (WHO, 2003).

Estudo de coorte realizado por Blekkenhorst et al. (2017) com 1468 mulheres hospitalizadas por fraturas, com idade média de 75,2 anos, observou que o consumo de hortaliças (> 3 porções/dia) foi associado com um risco 27% menor para todas as fraturas ($p=0,023$), e um risco 39% menor para as fraturas de quadril ($p=0,037$). Ainda, salientam que os mecanismos para tal associação benéfica entre o consumo de hortaliças e o risco de fraturas permanecem incertos.

Referente ao Brasil, e considerando o novo modelo da pirâmide alimentar brasileira para uma alimentação saudável, a recomendação de ingestão de frutas é de 3 porções por dia, e para vegetais e legumes, segue a mesma quantidade. Ainda, há referência que uma dieta adequada deve ser baseada em alimentos de todos os grupos alimentares da pirâmide, principalmente os alimentos na sua forma natural (*in natura*), com ênfase no consumo dos grupos das frutas e das hortaliças (PHILIPPI, 2013).

Conforme dados de uma investigação transversal descritiva sobre a Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) realizada em 2013 no Brasil, verificou-se alta prevalência de consumo alimentar que indica um padrão saudável de alimentação, incluindo as frutas e hortaliças (JAIME et al., 2015). Em recente pesquisa do Ministério da Saúde (MS), a Pesquisa de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel) de 2017, foram observadas algumas mudanças nos hábitos alimentares dos brasileiros. Dentre estas, um aumento no consumo de frutas e hortaliças que cresceu 4,8% entre 2008 a 2017. Além disso, a ingestão de refrigerantes e bebidas açucaradas caiu 52,8% (de 2007 a 2017) (BRASIL, 2018). Vale salientar que apesar do país ser heterogêneo em termos de hábitos alimentares, estilos de vida, diferenças étnicas e culturais, pode-se observar um padrão de alimentação comum entre as regiões, com preferência a alimentos na sua forma *in natura*, como preconiza o atual Guia Alimentar para a população brasileira.

No estudo Brazos realizado com 2344 indivíduos com 40 anos ou mais em 150 cidades brasileiras, Pinheiro et al. (2011) observaram uma baixa ingestão de nutrientes presentes em frutas e hortaliças, como as vitaminas A, C, E, além dos minerais zinco e selênio, considerados importantes para a manutenção da integridade dos ossos. Em outro estudo transversal realizado com 156 mulheres brasileiras na pós-menopausa, com osteoporose e idade superior a 45 anos, verificou-se que o padrão alimentar composto por maior consumo de laticínios, frutas e vegetais mostrou uma função protetora em relação aos ossos (de FRANÇA et al. 2015). Apesar dos poucos estudos consistentes no Brasil relacionados à alimentação e saúde dos ossos, estas duas investigações sinalizam a importância de adequar a ingestão de nutrientes relacionados positivamente com o esqueleto, a fim de preservar a integridade dos ossos (massa óssea) e prevenir as fraturas por fragilidade.

Vale salientar que hábitos alimentares saudáveis, incluindo a ingestão de frutas e hortaliças, além de uma dieta adequada em cálcio são de fundamental importância para uma boa formação óssea (acúmulo de massa óssea), especialmente na fase de maior demanda, a adolescência. Isso poderá garantir a manutenção e/ou perda mínima da massa óssea em fases da vida onde inicia o processo de remodelação óssea (adulto).

Prynne et al. (2006) avaliaram a associação entre o estado mineral ósseo e a ingestão de frutas e hortaliças entre adolescentes de ambos os gêneros (15 a 18 anos), mulheres jovens (23 a 37 anos) e homens e mulheres idosos (60 a 83 anos), e observaram que a maior ingestão de frutas e hortaliças apresentou efeitos positivos sobre o estado mineral ósseo nos grupos etários mais jovens e mais velhos, especialmente na coluna para meninas e mulheres mais velhas, e no colo do fêmur para os meninos. Assim, descrevem que maior ingestão de frutas e hortaliças pode representar benefícios para o estado mineral ósseo em longo prazo. Já, Li et al. (2013) analisaram a associação entre consumo de frutas e hortaliças e a massa óssea em uma população de chineses composta por adolescentes, mulheres no pós-parto e mulheres na pós-menopausa. Após as análises, observaram que o consumo de frutas e hortaliças foi associado positivamente com a massa óssea nos adolescentes, mulheres jovens e mulheres pós-menopausa. Além disso, mais benefícios foram observados em meninos e mulheres pós-menopausa do que em meninas e mulheres jovens. Esses resultados evidenciam que o consumo de frutas e hortaliças podem apresentar efeitos protetores à saúde óssea.

Considerando que as frutas e hortaliças podem criar um ambiente mais alcalino, devido especialmente, ao seu maior teor de potássio orgânico, a perda óssea relacionada com a idade poderia ser evitada (HANLEY, WHITING, 2013).

A fim de investigar as associações entre o estado mineral ósseo e relato de ingestão de frutas e hortaliças em uma amostra representativa de Hong Kong (2000 homens e 2000 mulheres aparentemente saudáveis com 65 anos ou mais), Liu et al. (2015) observaram, nessa população, que maior ingestão de frutas foi associada com melhor estado mineral ósseo. Na análise multivariada, um aumento diário de 100 g/Kcal de ingestão de frutas foi associado com 4,5% e 6,4% no aumento de massa óssea em todo o corpo, e aumento de 3,9% e 4,8% no colo do fêmur em homens e mulheres, respectivamente. Embora represente um dado interessante nessa amostra representativa chinesa, os autores destacam que o mecanismo específico para esse achado ainda deve ser elucidado, porém uma das possíveis respostas seria que a vitamina C poderia desempenhar esse papel nos ossos.

Estudos que relacionam o consumo alimentar de certos grupos de alimentos e fraturas ósseas mostram resultados positivos entre essa associação. Em pesquisa de Xie et al. (2013), avaliou-se a relação entre o consumo de frutas e hortaliças e o risco de fraturas de quadril em 646 idosos chineses (646 casos e 646 indivíduos controle pareados, sendo 484 pares femininos). Os resultados, desta investigação, indicaram que a ingestão de frutas e hortaliças em homens, e de hortaliças em mulheres foi inversamente associado com o risco de fratura de quadril. Esse achado pode sugerir recomendações para aumentar a ingestão de frutas e hortaliças como parte de uma abordagem dietética para evitar fratura de quadril nessa população. Em outra pesquisa, Zeng et al. (2013) avaliaram a associação entre o padrão alimentar e o risco de fraturas de quadril em mulheres idosas chinesas, com mais de 70 anos. Ao final, verificaram que as idosas com padrão alimentar que incluiu alto consumo de frutas e hortaliças pôde proteger contra fratura de quadril.

Algumas investigações observaram associações negativas entre a ingestão desses grupos alimentares e saúde óssea. Estudo de coorte que avaliou a relação entre padrões alimentares predominantes e o risco de fraturas de quadril em 74.540 mulheres na pós-menopausa e 35.451 homens com mais de 50 anos e que foram seguidos por 30 anos, verificou que nem o padrão alimentar prudente, caracterizado por aumento no consumo de frutas e hortaliças, nem o ocidental foi associado com o risco de fraturas de quadril nessa população (YANG, KIM, 2014). Em outra coorte que acompanhou por 14,2 anos, 40.644 homens e 34.947 mulheres com idades entre 45 a 83 anos, observou que um consumo abaixo do recomendado de cinco porções/dia, de frutas e hortaliças, sinalizou maiores taxas de fratura de quadril, ao passo que uma ingestão acima desta recomendação não pareceu diminuir ainda mais o risco (BYBERG et al., 2015).

Ensaios clínicos randomizados apresentam resultados parecidos com os demais tipos de investigações. Ebrahimof et al. (2009) avaliaram os efeitos do aumento da ingestão de frutas e hortaliças no metabolismo ósseo em 45 mulheres na pós-menopausa com osteopenia com idade entre 50-60 anos, as quais foram divididas aleatoriamente em grupos de intervenção ou controle. Aquelas do grupo controle foram orientadas a manter os seus padrões alimentares e não realizar mudanças em seu estilo de vida. Já as mulheres do grupo intervenção, receberam seis porções extras de frutas e hortaliças diariamente, a fim de aumentar a ingestão desses alimentos. Ao final de 12 semanas, observaram que o consumo de 12 porções de frutas e hortaliças não reduziu os marcadores do metabolismo ósseo em todas as participantes do grupo de intervenção, porém apresentou efeito significativo sobre aquelas com remodelação óssea elevada. Os autores ainda destacam que aumentar a ingestão de frutas e hortaliças pode ser complementar ao que é atualmente recomendado para prevenir fraturas ósseas, principalmente para pessoas com elevada taxa de reabsorção óssea.

Outro estudo avaliou a relação entre o aumento do consumo de frutas e hortaliças e marcadores ósseos em 82 idosos saudáveis com idades entre 65 a 85 anos. Estes indivíduos consumiam habitualmente ≤ 2 porções de frutas/hortaliças por dia, foram randomizados para manter a sua dieta normal ou consumir ≥ 5 porções de frutas/hortaliças por dia durante 16 semanas. Ao final do acompanhamento, os resultados mostraram que o aumento do consumo de frutas e hortaliças, na quantidade de cinco ou mais porções por dia, não apresentou qualquer efeito sobre os marcadores ósseos nessa população (NEVILLE et al., 2014).

Gunn et al. (2015) compararam os marcadores de turnover ósseo e excreção urinária de cálcio em dois grupos randomizados ($n=50$) de mulheres na pós-menopausa, saudáveis, consumindo ≥ 9 porções de diferentes hortaliças/ervas/combinações de frutas por um período de três meses. As mulheres foram randomizadas no Grupo A, com predominância de uma variedade de hortaliças/ervas/frutas; no Grupo B, foi enfatizado o consumo de hortaliças/ervas/frutas específicos e com propriedades de inibição da reabsorção óssea (Scarborough Fair dieta); o Grupo C consumiu a sua dieta habitual. Os resultados demonstraram que o aumento da ingestão de hortaliças/ervas e frutas, reduziu os marcadores de formação (P1NP) e reabsorção (CTX) óssea em mulheres osteopênicas.

Em recente revisão sobre a associação entre os padrões alimentares e saúde óssea, Movassagh e Vatanparast (2017), observaram que o padrão dietético “saudável” com inclusão de frutas, hortaliças, grãos integrais, aves, peixes, nozes e lácteos desnatados, e com baixa ingestão de refrigerantes, alimentos gordurosos, carnes processadas e derivados, açúcares e grãos refinados, apresentou efeitos benéficos em relação a saúde óssea em geral.

Assim, a saúde óssea depende não somente de fatores fisiológicos e específicos do processo de envelhecimento do organismo, mas também de hábitos alimentares saudáveis em todas as fases da vida, ou seja, a ingestão adequada dos nutrientes somada à sua atuação sinérgica irá resultar em benefícios para a saúde óssea como um todo.

2.6 QUALIDADE DE VIDA RELACIONADA À SAÚDE

De forma genérica, a OMS define qualidade de vida como sendo “a percepção do indivíduo de sua inserção na vida no contexto da cultura e sistemas de valores nos quais ele vive e em relação aos seus objetivos, expectativas, padrões e preocupações” (THE WHOQOL GROUP, 1995). Pode-se dizer que a QV está fortemente relacionado ao estado de saúde de um indivíduo, ou seja, é uma definição que envolve a vida das pessoas como um todo (MINAYO, HARTZ, BUSS, 2000; ALMEIDA, GUTIERREZ, MARQUES, 2012). Considerada um termo amplo, dinâmico e polissêmico, existem várias denominações na literatura utilizadas para definir o seu conceito (FERRANS, 1996), como bem-estar (GUYATT, FEENY, PATRICK, 1993), a forma como as pessoas aproveitam as possibilidades de suas vidas (CAMELIER, 2004), e como as pessoas percebem a satisfação com a vida (FERRANS, 1996). Neste sentido, a ampla dimensão da saúde e sua relação com diversos aspectos positivos e negativos da vida, possibilitam várias formas de avaliar a QV, onde pessoas com as mesmas doenças crônicas podem manifestar distintos níveis de saúde e de bem-estar, físico e emocional (NORONHA et al., 2016). Baseado nestas premissas e somada à multidimensionalidade da QV é que surgiu o conceito de Qualidade de Vida Relacionada à Saúde, assim como vários instrumentos para aferi-la (GUYATT, FEENY, PATRICK, 1993).

Os questionários validados para a avaliação da QVRS se aplicam à várias condições de saúde e refletem diferentes aspectos da vida de um indivíduo. Estes instrumentos podem ser genéricos, avaliam o impacto da doença e do tratamento na vida diária das pessoas de uma forma global, e são organizados em conjuntos, denominados dimensões ou domínios, medidos de forma individual e ponderada. Ainda, são subdivididos em seis a oito domínios que envolvem aspectos físicos, funções cognitivas, comunicação, alimentação, presença de dor, comportamento emocional, atividades de lazer, de trabalho e domésticas, e relacionamentos sociais entre outros (NOBRE, 1995; MINAYO, HARTZ, BUSS, 2000).

Considerado como um instrumento genérico e muito utilizado em pesquisas, o *Medical Outcomes Study 36 Short-From Health Survey* (SF-36) (WARE, SHERBOURNE, 1992; McHORNEY, WARE, RACZEK, 1993; McHORNEY et al., 1994) mede oito dimensões que

estão fortemente relacionadas à saúde. Sua aplicabilidade engloba tanto pacientes específicos, como à população em geral, além de ser utilizado em pesquisas de cunho descritivo (VISSER et al., 1994). Conforme Pereira, Teixeira e Santos (2012), este instrumento de avaliação da qualidade de vida apresenta vantagem, pois já teve sua validade e qualidade testadas, e também por poder ser comparado com outros estudos. Apesar disso, este questionário apresenta algumas limitações que se referem à avaliações específicas de cada indivíduo em cada domínio avaliado.

Assim, há na literatura estudos que relacionam os níveis séricos de 25(OH)D e qualidade de vida em diferentes populações. Estudo transversal realizado por Feng et al. (2016) com 686 idosos, verificou que aqueles com insuficiência de vitamina D obtiveram menores escores tanto no componente físico quanto no componente mental da qualidade de vida. Além disso, a análise de regressão mostrou que a vitamina D apresentou uma associação positiva com os parâmetros do componente físico do SF-36. Já, Civelek et al. (2014) ao avaliarem 49 mulheres pós-menopausadas, não observaram associação entre a deficiência de vitamina D tanto para o domínio físico quanto para o mental da qualidade de vida avaliada pelo SF-36. Basaran et al. (2007) ao estudarem 259 mulheres, observaram que o grupo com deficiência de vitamina D apresentou pontuações mais baixas em todos os domínios da qualidade de vida medida pelo *Quality of Life Questionnaire issued by the European Foundation for Osteoporosis* (QUALEFFO). Nesse mesmo estudo, o nível de vitamina D, educação, presença de comorbidades, nível de atividade física e intensidade da dor mostraram-se significativamente associados à QVRS. O estudo coreano KNHANES V realizado com 2.165 adultos, observou que o grupo de indivíduos com deficiência de vitamina D eram mais propensos a relatar problemas com mobilidade, autocuidado e atividades habituais. Ainda, a deficiência de vitamina D foi significativamente associada à baixa qualidade de vida avaliada pelo *Euro Quality of Life Instrument-5D* (EQ-5D), independentemente de outras covariáveis e possíveis fatores de confusão (KIM et al., 2015). Apesar de utilizarem diferentes questionários para avaliar a QVRS, os resultados desses estudos observaram uma pior qualidade de vida em pessoas com deficiência de vitamina D. Além disso, por se tratarem de investigações observacionais, não podemos inferir que o tratamento dessa deficiência por meio de suplementação poderá melhorar a qualidade de vida.

Em outros tipos de investigações, também são observadas tais associações, independentemente do tipo de questionário utilizado para avaliar a QVRS. Em coorte com 1284 idosos holandeses, Rafiq e colaboradores (2014) verificaram que os participantes com níveis mais baixos de vitamina D apresentaram piores escores nos componentes físicos da qualidade de vida do *12-Item Heath Survey* (SF-12), quando comparados aos idosos com níveis mais altos

de vitamina D. Chao et al. (2014), analisaram dados de 1.493 canadenses participantes de um programa educativo relacionada à hábitos de vida saudáveis, e verificaram que os indivíduos com maiores níveis séricos de vitamina D foram significativamente menos propensos a relatar problemas com mobilidade, atividades habituais, depressão e ansiedade. Ainda, cada aumento de 100nmol/L nos níveis séricos de vitamina D foi associado a um aumento médio de 29% na QVRS avaliada pelo *Euro Qol 5D-5L* (EQ-5D-5L). Em 2016, Ekwaru, Ohinmaa e Veugelers, realizaram análises da linha de base e durante o acompanhamento de 6 meses e 1 ano de 2119 canadenses participantes do mesmo programa educativo, porém suplementados com vitamina D. Observaram que a QVRS global dos participantes melhorou com o aumento dos níveis sérios de vitamina D. Ainda, melhorias no status de vitamina D foram independentemente associadas com melhor QVRS. Os autores referem que, por ser um estudo de avaliação de um programa em vez de um ensaio clínico, não foi possível separar os benefícios da suplementação de vitamina D dos benefícios de outros fatores de confusão, como promoção de alimentação saudável, vida ativa, uso de multivitamínicos e exposição ao sol. Apesar de tais limitações e diferenças metodológicas, essas investigações observaram uma associação entre a deficiência de vitamina D e pior qualidade de vida relacionada à saúde.

3 ARTIGO 1 - FRUIT AND VEGETABLE INTAKE AND BONES: A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS

Artigo aceito para publicação na Revista Científica *Plos One*.



Critérios para publicação: <https://journals.plos.org/plosone/s/criteria-for-publication>

“Fruit and vegetable intake and bones: a systematic review and meta-analysis”

Juliana E Brondani¹, Fabio V Comim¹, Liziane M Flores², Lígia Araújo Martini³, and Melissa O Premaor^{1*}.

¹Pós-graduação em Farmacologia, Health Sciences Center, Federal University of Santa Maria, Santa Maria (Brazil).

²Departamento de Saúde Coletiva, Health Sciences Center, Federal University of Santa Maria, Santa Maria (Brazil).

³Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo (Brazil)

*Corresponding author

E-mail: mopremaor@bol.com.br

1 ABSTRACT

2
3 **Background:** Although intake of fruits and vegetables seemed to have a protective
4 effect on bone metabolism, its effect on fractures remains uncertain.

5 **Methods:** A systematic review of randomized controlled trials (RCTs) and cohort
6 studies (PROSPERO: CRD42016041462) was performed. RCTs and cohort studies that
7 evaluated the combined intake of fruits and vegetables in men and women aged over 50 years
8 were included. We considered fractures as a primary outcome measure. Changes in bone
9 markers were considered as secondary outcomes. The search strategy included the following
10 descriptors: fruit, vegetables, vegetable products, bone and bones, bone fractures,
11 postmenopausal osteoporosis, and osteoporosis. PubMed, Embase, and Cochrane Library were
12 the databases used. The appraisal of the studies was performed by two independent reviewers,
13 and discussed and agreed upon by both examiners. The data extracted from the RCTs and cohort
14 studies were summarized separately. The risks of fractures were combined across studies using
15 random models. Bone resorption marker (CTx) was summarized with standardized mean
16 differences. The Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation
17 (GRADE) method was used to evaluate the strength of recommendations.

18 **Results:** Of the 1,192 studies screened, 13 articles were included in the systematic
19 review and 10 were included in the pooled analysis (6 cohort studies and 4 RCTs). The six
20 cohort studies included in the meta-analysis included a population of 225,062. The pooled
21 hazard ratio (HR) (95% confidence interval (CI)) of the hip in five studies was 0.92 (0.87, 0.98).
22 Its heterogeneity was moderate ($I^2 = 55.7\%$, $p = 0.060$), GRADE ($\oplus\oplus\oplus O$). Two cohort studies
23 evaluated the risk of any fracture; the HR was 0.90 (95% CI: 0.86–0.96), with aheterogeneity
24 of 24.9% ($p = 0.249$, GRADE ($\oplus\oplus\oplus O$)). There was no association between the bone resorption
25 marker CTx and 3 months of fruit and vegetable intake evaluated by four RCTs, GRADE ($\oplus\oplus O$)
26 O).

27 **Conclusion:** There was an association between the increase of at least one serving of
28 fruits and vegetables per day and decreases in the risk of fractures. The level of evidence for
29 this association is moderate.

30

31 **Keywords:** fruit and vegetable, bone, bone fracture, meta-analysis

32 Introduction

33 Osteoporosis is considered a multifactorial and chronic systemic disease of the skeleton,
34 closely related to aging. It is characterized by a reduced bone strength, which may lead to
35 fractures [1, 2]. More than 200 million individuals worldwide are currently affected with
36 osteoporosis [3, 4]. The World Health Organization estimated that the annual number of hip
37 fractures would increase from 1.7 million in 1990 to 6.3 million in 2050 [3, 4]. According to
38 Caroli et al. (2011), it is possible that the incidence of osteoporotic fractures will increase
39 further [5]. This increase in incidence is due to the increased life expectancy and other important
40 risk factors such as industrialization and reduced physical activity

41 However, the risk of fragility fracture can potentially be mitigated by appropriate
42 nutritional measures combined with regular physical activity [6]. The nutrients are essential to
43 the viability of all cells. The nutrients are essential to the viability of all cells. Moreover, it is
44 believed that food provides several nutritional factors that may affect bone health. Poor diet and
45 unhealthy lifestyle can lead to lack of nutrients that are particularly important to the skeleton,
46 such as calcium, protein, and vitamin D [7].

47 Despite the fact that fruits and vegetables are excellent sources of several micronutrients
48 (calcium, vitamin K, folic acid, magnesium, potassium, among others) and bioactive
49 compounds, the role of fruit and vegetables on bone health remains unclear. The study design
50 (observational and clinical trials), the number of individuals included, the number of individuals
51 evaluated, and the different outcomes may have contributed to the various effect sizes described
52 in the different studies. A previous systematic review by Hamidi et al. [8] on the intake of fruits
53 and vegetables and bone health in women over 45 years did not find a clear association between
54 this group of foods and bone metabolism or fractures. By contrast, a more recent studies –
55 published after Hamidi's study – showed that increases in the intake of fruits and vegetables
56 had positive effects on bone density and might decrease fracture risk [9]. Nevertheless, the latter
57 have a considerable inconsistency that could be due to the design of the studies included. This
58 systematic review and meta-analysis of clinical trials and cohort studies aimed to assess whether
59 the regular intake of fruits and vegetables has significant effects on bone fractures, bone mineral
60 density (BMD), or bone markers [C-terminal telopeptide (CTX), pro-peptide aminoterminal
61 procollagen type I (P1NP), and others] in men and women aged 50 years and above.

62

63 Materials and methods

64 A systematic review of randomized clinical trials (RCTs) and cohort studies with meta-
65 analysis was performed. The study protocol was registered in the International Prospective
66 Register of Systematic Reviews on 2016 (CRD42016041462; available at
67 http://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/display_record.asp?ID=CRD42016041462). This
68 review was conducted in accordance with the Preferred Reporting Items for Systematic
69 Reviews and Meta-Analyses guidelines.

70

71 **Eligibility criteria for review**

72

73 Randomized controlled trials (RCT) and prospective cohort studies that evaluated the
74 intake of fruits and vegetables for at least 3 months in men and women aged over 50 years were
75 included. The primary outcome of this study was the risk of fractures in any site and hip fracture
76 within 1 year of follow-up. The change in BMD (hip, lumbar spine, forearm, and other sites)
77 and the variations in the markers of bone formation (P1NP and others) or bone resorption (CTx
78 and others) were considered as secondary outcomes. A 1-year follow-up was conducted to
79 evaluate BMD; however, the minimum follow-up period for the bone markers was 3 months.
80 The different follow-up periods were chosen because changes in BMD are usually observed
81 within at least 12 months [10] while changes in the bone markers are usually observed within
82 a shorter period [11].

83 Cross-sectional, case-control, animal, in-vitro, and other study designs were excluded.
84 These excluded studies were defined a priori to improve the quality of the observational
85 evidence. Case-control studies were excluded due to its inherent difficulty to select the ideal
86 control group.

87 Studies that evaluated only one type of fruit or vegetable (e.g., plums, apples, oranges,
88 tomatoes, among others) were excluded because that single fruit or vegetable could have a
89 specific set of nutrients, introducing a bias in our study. For the same reason, studies aimed at
90 evaluating the effect of a particular nutrient (e.g., bioactive compounds, potassium, vitamin C,
91 vegetable, and other proteins) were excluded. Additionally, studies that evaluated specific diets
92 such as Mediterranean and vegetarian were excluded as they could introduce a population
93 selection bias in the systematic review and meta-analysis. The differences in the consumption
94 of these diets could have intrinsic effects (both beneficial and malefic) that might not be due to
95 the intake of fruits and vegetables.

96

97 Information sources and search strategy

98

99 Article search was conducted in the electronic databases of the National Library of
 100 Medicine (PubMed), the Excerpta Medica database (Embase and Elsevier), and the Cochrane
 101 Database of Systematic Reviews (Cochrane Library and Cochrane Database of Systematic
 102 Reviews). Moreover, some studies were selected based on the bibliographic references of the
 103 included articles. Studies written in any language and with no time limit were considered.
 104 Studies in languages other than English, Portuguese, Italian, and Spanish were translated by the
 105 Language Center of the Federal University of Santa Maria. The last search was performed on
 106 October 24, 2018. The performed searches are displayed in S1 Table. The data were stored in
 107 the reference manager EndNote X7. The terms used included the Descriptors in Health
 108 Sciences, Medical Subject Headings terms, and Emtree (Embase), which were modified in each
 109 database.

110 The search terms used were as follows:'.PubMed – (((("Fruit"[Mesh]) OR
 111 ("Vegetables"[Mesh] OR "Vegetable Products"[Mesh]))) AND ((((("Bone and
 112 Bones"[Mesh]) OR "Bone Density"[Mesh]) OR "Bone Remodeling"[Mesh]) OR "Bone
 113 Resorption"[Mesh]) OR "Fractures, Bone"[Mesh]) OR ("Osteoporosis,
 114 Postmenopausal"[Mesh] OR "Osteoporosis"[Mesh])) AND ("Epidemiologic Methods"[Mesh]
 115 OR "Epidemiologic Study Characteristics as Topic"[Mesh] OR "Clinical Trials as
 116 Topic"[Mesh])

117 EMBASE (bone' OR 'bone'/exp OR bone OR 'bone demineralization'/exp OR 'bone
 118 demineralization' OR 'bone density'/exp OR 'bone density' OR 'bone densitometry'/exp OR
 119 'bone densitometry' OR 'fracture'/exp OR 'fracture' OR 'fragility fracture'/exp OR 'fragility
 120 fracture' OR 'bone mass'/exp OR 'bone mass' OR 'bone metabolism'/exp OR 'bone metabolism'
 121 OR 'bone remodeling'/exp OR 'bone remodeling' OR 'osteoporosis'/exp OR 'osteoporosis' OR
 122 'postmenopause osteoporosis'/exp OR 'postmenopause osteoporosis' OR 'primary
 123 osteoporosis'/exp OR 'primary osteoporosis' OR 'secondary osteoporosis'/exp OR 'secondary
 124 osteoporosis' OR 'densitometry'/exp OR 'densitometry) AND ('vegetable'/exp OR 'vegetable'
 125 OR 'fruit'/exp OR 'fruit' OR 'fruits' OR 'fruits and vegetables')

126 limits: human ; clinical trial

127 Cochrane - (Fruit or Vegetable) AND (Bone Density or Bone Remodeling or Bone
 128 Resorption or Fractures, Bone or bone and bones or bone formation or Bone turnover or
 129 Biological Markers or bone metabolism or Osteoporosis).

130 **Screening and selection of articles**

131

132 Two researchers performed the selection of the studies (JEB and MOP) independently.
133 Firstly, the studies were screened according to their title and abstract. The studies that could not
134 be ruled out in this procedure had their full texts evaluated. The full text was sought for all
135 selected items, and their eligibility was double checked. In cases where there was no agreement
136 between the two reviewers, a third (FVC) and a fourth reviewer (LMF) checked the eligibility
137 and inclusion criteria. The articles meeting the inclusion and exclusion criteria were included
138 in the review.

139

140 **Data collection process**

141

142 Two protocol members extracted the data (JEB and MOP) independently. The
143 agreement between the two extractors was 100%. The data were tabulated in an Excel
144 spreadsheet.

145 The following data were obtained from the clinical trials: author, study year, journal,
146 number of participants included per arm, losses per arm, gender, mean age, ethnicity,
147 intervention in each arm (type and quantity of fruits and vegetables consumed), inclusion
148 criteria, exclusion criteria, randomization, blinding, follow-up, adjustments for confounding
149 factors, primary outcomes (hazard ratio (HR) of fractures), and secondary outcomes (mean
150 BMD (standard deviation, SD) for each arm or linear regression, and mean bone markers (SD)
151 for each arm).

152 The following data were obtained from the cohort studies: author, study year, journal,
153 number of participants included, losses, gender, mean age, ethnicity, study factor (type and
154 quantity of fruits and vegetables consumed), inclusion criteria, exclusion criteria, follow-up,
155 adjustments for confounding factors, primary outcomes (HR of fracture), secondary outcomes
156 (mean BMD (SD) for each arm or linear regression; mean level of bone markers (SD) for
157 each arm). If it was not possible to retrieve the data from the full text, we contacted the
158 researchers by email. The researchers were contacted twice, but none of them responded.

159

160 **Risk of bias in individual studies**

161

162 The bias risk assessment of the included studies was independently performed by two
163 researchers (JEB and MOP) and was described as high, low, and uncertain. Possible differences
164 were resolved among the evaluators. The risk of bias in RCTs was assessed using the Cochrane
165 Collaboration tool [12], while that in cohort studies was evaluated using the Newcastle-Ottawa
166 scale [13, 14]. The Newcastle-Ottawa scale was used to assess the selection, comparability, and
167 exposure of a case-control study and selection, comparability, and outcome of a cohort study.
168 Nine stars represent a maximum score for a study, and the study with over six stars would be
169 regarded as relatively high quality.

170

171 **Data synthesis and statistical analysis**

172

173 The data extracted from the randomized trials (RCT) and cohort studies were
174 summarized separately. The HRs and relative risk (RR) of fractures were combined across
175 studies using random and fixed effects models. The inverse variance method, DerSimonian-
176 Laird estimator for tau², was used. A combined HR and 95% confidence interval (CI) was
177 calculated. The bone resorption marker (CTx) was summarized with standardized mean
178 differences (Hedges' g) and 95% CI. The heterogeneity of the studies and the measures of effect
179 were evaluated using both the Higgins I-squared (I^2) inconsistency test and chi-square (χ^2) test.
180 We conducted a sensitivity analysis based on the reported measure for the risk of fracture; that
181 is, we performed a repeat analysis excluding the studies that reported the outcomes as RR.
182 Additionally, we conducted an influence analysis with each study detected once. We also
183 assessed evidence of publication bias through a qualitative inspection of the funnel plot and the
184 Begg test as a statistical parameter for testing funnel plot asymmetry. All statistical analyses
185 were performed using software R (R version 3.2.4, 2016, The R Foundation for Statistical
186 Computing, Platform: x86_64-apple-darwin13.4.0 [64-bit] and RStudio [RStudio Team
187 (2015)]; RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL
188 <http://www.rstudio.com/>). For outcomes that cannot be assessed using a meta-analysis, we
189 provided a narrative synthesis of the findings from the included studies. To evaluate the body
190 of the evidence and strength of recommendations, the method “Grading of Recommendations
191 Assessment, Developing and Evaluation” (GRADE) was used [15]. The GRADE approach uses
192 the following dominions to rate the quality of evidence: risk of bias, inconsistency, indirectness,
193 imprecision, publication bias, large effect, dose response, and all plausible residual responses
194 [16]. It classifies the quality of evidence on four levels: high, moderate, low, or very low [16].

195 Results

196

197 Study selection

198 The screened studies are described in Fig 1. Overall, 13 systematic reviews, 8 cohort
199 studies, and 5 RCTs were included. Six cohort studies and four RCTs were summarized in the
200 meta-analysis.

201

202 **Fig 1. This is the Fig 1 Title:** PRISMA 2009 flow diagram of the selection of studies
203 included in the review

204

205 Characteristics of the studies

206

207 The characteristics of the cohort studies are presented in Table 1. They included 225,062
208 participants (134,365 women and 90,697 men) aged 50 years or older. The participants' follow-
209 up time ranged from 2.8 years to 20 years. Five cohort studies were conducted in Europe, while
210 three were conducted in the United States. With regard to the outcomes, the studies described
211 the risk of total fracture, the risk of hip fracture, and the changes in the hip BMD.

212 Validated food frequency questionnaires (FFQs), 24-hour food recall (24h-R), and 7-
213 day food record were used to evaluate fruit and vegetable intake. All measurements were
214 performed at baseline. Seven studies used FFQ alone, while two used FFQ plus 24h-R (Table
215 1). Samieri et al. 2013 [17] have applied the FFQ and the 24h-R in the same day. The 24h-R
216 was used a posteriori to validate the FFQ. In the study of Benetou et al. [18], the FFQ and the
217 24h-R were applied on the same day, and both were used to evaluate the fruit and vegetable
218 intake. Furthermore, four studies evaluated the dietary patterns, three studies evaluated the
219 number of fruit and vegetable servings, and one study [19] evaluated the tertiles of fruit and
220 vegetable servings (Table 1). In the latter, the mean fruit and vegetable intake per day was 236
221 g/d (5th and 95th percentiles: 63 g/d and 563 g/d) [19].

222

223 **Table 1. This is the Table 1 Title.** Characteristics of the Cohort studies included in the
224 systematic review

Author, year (location)	Subject number	Mean age*	Follow-up*	Dietary assessment	Dietary assessment validation	Fruits and vegetable intake	Study Quality**
De Jonge et al., 2017 (Netherlands)[20]	2323(F) 1705 (M)	66.0	14.8	FFQ (170 foods)	Yes	Dietary pattern rich in F/V ^a	8★
Byberg et al., 2015 (Sweden)[21]	34 947 (F) 40 644 (M)	≥59	14.2	FFQ (96 foods)	Yes	F/V serving ^b	8★
Fung et al., 2015 (USA)[22]	74 540 (F) 35 451 (M)	≥50	20	FFQ (130 foods)	Yes	Dietary pattern rich in F/V ^c	8★
Samieri et al., 2013 (France)[17]	932 (F) 550 (M)	76	8	FFQ (148 foods) 24h-R	Yes	Dietary pattern rich in F/V ^d	7★
Benetou et al., 2011 (Europe)[18]	18 584 (F) 10 538 (M)	64.3	8	FFQ*** 24h-R	Yes	F/V serving	8★
Langsetmo et al., 2011 (Canada)[23]	1849 (F) 891 (M)	66.6	6.7	FFQ (51 foods e 18 drinks)	Yes	Dietary pattern rich in F/V ^e	8★
Kaptoge et al., 2003 (UK)[19]	474 (F) 470 (M)	74.6	2.8	7d-FR	Yes	Tertile of F/V	8★
Tucker et al., 1999 (USA)[24]	716 (F) 448 (M)	75.2	4	FFQ (126 foods)	Yes	F/V serving	8★

225 This is table 1 legend:

226 *years

227 ** Newcastle-Ottawa Scale for cohort studies was obtained to assess the selection, comparability and outcome for the cohort study. ★□= 1 point

228 *** The food-frequency questionnaires were developed and validated within each country of the study (Italy, Netherlands, Greece, Germany, and Sweden)

229 F=female; M=male

230 FFQ=food frequency questionnaire; 24h-R=24-hour food recall; 7d-FR=7-day food record

231 F/V=fruit and vegetable

232 ^aThe patterns were calculated using data reduction technique. It adjusted for total calorie intake (kg/day). It not includes legumes and potatoes.

233 ^bThe mean size of the fruits and vegetable serving was 101g. It not includes legumes and potatoes.

234 ^cThe patterns were calculated using the orthogonal rotation procedure. It not includes legumes and potatoes.

235 ^dThe patterns were calculated using principal component analysis. . It adjusted for total calorie intake (kg/day). It includes legumes and potatoes.

236 ^eThe patterns were calculated using factor analysis. It not includes legumes and potatoes.

238 Two clinical trials included in the qualitative synthesis (Table 2) were conducted in the
239 United Kingdom, one in the United States, one in Iran, and one in New Zealand. The study
240 population consisted of 49,275 postmenopausal women, and the follow-up period from
241 randomization ranged from 12 weeks to 8.1 years. The food intake was assessed at baseline and
242 at the end of the studies using the FFQ, 24h-R, three-day 24h-R, and 7-day 24h-R (Table 2).
243 All FFQs were appropriately validated.

244 The intervention was to increase the fruit and vegetable intake in all studies (Table 2).
245 In two studies [25, 26], fresh fruits and vegetables were provided to the intervention group. In
246 four studies, the control group received no intervention. However, in a study carried out by
247 Neville et al. [26] less than two portions of fruits and vegetables a day was prescribed for the
248 control group. Furthermore, Macdonald et al. [27], McTiernan et al. [28], and Gunn et al. [29]
249 reported a decrease in the consumption of fruits and vegetable by the end of the study. In the
250 study carried out by McTiernan et al. [28], >1.2 servings per day was consumed by the control
251 group at the end of the study. Furthermore, Gunn et al. [29] reported that >0.9 servings per day
252 was consumed by the control group at the end of the study.

253

254 **Table 2. This is the Table 2 Title:** Characteristics of Randomized Clinical Trial included in
255 the systematic review

Author, year (location)	Subject number	Mean age*	Follow- up **	Dietary assessment	Intervention	Control group	Evaluated Outcomes	Study Quality***
Macdonald et al., 2008 (UK)[27]	202 (F) IGa n=101 IGb n=51 CG n=47	55-65	2 years	FFQ (130 foods)	IGa ^{a*} = Potassium citrate (55,5mEq) or Potassium citrate (18,5mEq) IGb = 300g of additional F/V day was prescribed by a nutritionist	Received no dietary advice plus placebo capsules	CTx, P1NP BMD	L
Ebrahimof et al., 2009 (Iran)[25]	45 (F) IG n=23 CG n=22	50-60	12 weeks	7 days of 24h-R	400g F/V day; they received the daily amount of fresh vegetables weighted and packed once a week	No intervention	OC, CTx	H
McTiernan et al., 2009 (USA)[28]	48835 (F) IG n=19541 GC n=29294	50-79	8.1 years	FFQ (122 foods)	Intensive behavioral program (18 group section) to increase the servings of F/V to ≥ 5 day	No intervention	Incidence of fractures BMD	H
Neville et al., 2014 (UK)[26]	52 (F) 28 (M) IG n= 41 CG n= 39	69.9 (F) 73 (M)	16 weeks	7 days of 24h-R	≥ 5 servings F/V day was prescribe, they received fresh fruits and vegetables	≤ 2 servings F/V day was prescribed, they received fresh fruits and vegetables	OC, CTx	H
Gunn et al., 2015 (New Zeland)[29]	141 (F) IGa n=48 IGb n=50 CG n=43	50-70	12 weeks	3 days of 24h-R	IGa ≥ 9 servings F/V day was prescribed IGb ^{a*} ≥ 9 servings F/V day + herbs were prescribed	No intervention	CTx, P1NP	H

This is table 2 legend:

*years

** The follow-up time was evaluated from de randomization

***Evaluation of the Randomized Trials Bias Risk according to the Cochrane Collaboration tool. H=High; L=Low

F=female, M=male

FFQ=food frequency questionnaire; 24h-R=24-hour food recall;

F/V=fruit and vegetable

BMD=bone mineral density; CTx= C-terminal telopeptide; P1NP= pro-peptide aminoterminal procollagen type I, OC=osteocalcin.

^{a*}this group was not taken in consideration in this review and its pooled analysis

1 Individual study results

2
3 The primary evaluated outcome of each cohort studies and RCT are described in the
4 supplementary material (Tables S2 and S3). BMD was evaluated in two cohort studies and one
5 RCT. Tucker et al. described a non-significant increase in the BMD with increase in fruit and
6 vegetable intake in the Framingham Heart Study after a 4-year follow-up [24]. Moreover, de
7 Jonge et al. found a positive association between the adherence to a dietary pattern rich in fruits
8 and vegetables and BMD in the Rotterdam Study [30]. By contrast, Kaptoge et al. found no
9 association between the tertiles of fruit and vegetable intake and BMD in the EPIC-Norfolk
10 study. Both studies used regression models to evaluate the outcome [19]. In Macdonald's RCT
11 [27] no significant difference was observed in the BMD changes within a 2-year follow-up
12 between the fruit and vegetable group and control group.

13 None of the previous studies reported an association between the markers of bone
14 formation and fruit and vegetable intake. Nevertheless, only the Macdonald et al. RCT
15 performed a longer follow-up of the participants [27].

17 Synthesis of studies

18
19 The forest plot of the meta-analysis of the HR of hip fractures is presented in Fig 2. The
20 funnel plot for these studies is in S1 Fig. There was a reduction in the risk of hip fractures with
21 regular intake of fruits and vegetables. A sensitivity analysis was performed by withdrawing
22 the Fung study as their data were reported as RR. The protective effect of fruits and vegetables
23 remained present (HR 0.93 [95% CI: 0.87–0.99], heterogeneity: 53.7%, p = 0.091). No
24 individual study was able to modify the results in the influence analysis. The GRADE for this
25 outcome was moderate (⊕⊕⊕O) (Table 3).

26
27 **Fig 2. This is the Fig 2 Title:** Forest plot of the hazard ratio and 95% confidence interval
28 of the risk of hip fractures with combined fruit and vegetable intake in men and women in
29 cohort studies

30
31 **Table 3. This is the Table 3 Title:** Grading of Recommendations Assessment,
32 Developing and Evaluation used to assess the systematic review outcomes

	Pooled hip fracture	Pooled any fracture	Pooled Ctx
<i>Initial quality of a body of evidence</i>	2	2	4
Risk of Bias	0 'not serious'	0 'not serious'	- 1 'serious'
Inconsistency	0 'not serious'	0 'not serious'	0 'not serious'
Indirectness	0 'not serious'	0 'not serious'	0 'not serious'
Imprecision	0 'not serious'	0 'not serious'	- 1 'serious'
Publication bias	0 'undetected'	0 'undetected'	0 'undetected'
Large effect	0	0	0
Dose response	0	0	0
All plausible residual	+ 1	+ 1	0
Confounding	'Would reduce a demonstrated effect'	'Would reduce a demonstrated effect'	
<i>Final quality of a body of evidence</i>	3 ⊕⊕⊕O	3 ⊕⊕⊕O	2 ⊕⊕OO

33 This is table 3 legend: CTx= C-terminal telopeptide

34

35 Only two studies evaluated the risk of fractures at any site [20, 23]. The pooled HR of
 36 any fractures was 0.90 (95% CI: 0.86–0.96, heterogeneity: 24.9%, p = 0.249; Supplementary
 37 Material S2 Fig).

38 The standardized mean difference of CTx after 3 months of eating at least two servings
 39 of fruits and vegetables is presented in Fig 3. The funnel plot for this outcome is displayed at
 40 the supplementary material (3S Fig). There was no association between this bone resorption
 41 marker and fruit and vegetable intake in this time period. The GRADE for this outcome was
 42 low (⊕⊕OO) (Table 3).

43

44 **Fig 3. This is the Fig 3 Title:** Forest plot of the standard means difference and 95%
 45 confidence interval of the C-terminal telopeptide after 3 months combined with fruit and
 46 vegetable intake in randomized clinical trials

47 .

48 Risk of bias across studies

49

50 The quality assessment of observational studies and RCTs included in the synthesis are
 51 described in Table 1, Table 2, and Supplementary Material (Tables S4 and S5). Most cohort

52 studies, analyzed using the Newcastle-Ottawa Scale, presented eight stars (maximum of nine).
53 Among the RCTs, evaluated by the Cochrane Collaboration tool, four studies presented a high
54 risk of bias, and one, low risk of bias.

55

56 Discussion

57

58 We performed a systematic review (13 studies) and meta-analysis (10 studies) of studies
59 that evaluated the regular consumption of fruits and vegetables, either in the form of servings
60 per day or grams per day. The meta-analysis, based on data from available cohort studies,
61 showed that the increase of at least one serving of fruits and vegetables per day is associated
62 with a lower risk of fractures.

63 A previous systematic review on fruit and vegetable consumption and bone health in
64 women aged 45 years and over carried out in 2011 by Hamidi et al. [8] did not find conclusive
65 results regarding the ingestion of this food group and the prevention of osteoporotic fractures.
66 The fact that they included different study designs (cross-sectional, case-control, cohort, and
67 RCT) could have contributed to the heterogeneity of their findings. By contrast, the Consortium
68 on Health and Aging: Network of Cohorts in Europe and the United States (CHANCES Project)
69 [31], that summarized several cohort studies from Europe and the United States using a meta-
70 analysis, observed that men and women consuming ≤ 1 serving per day of fruits and vegetables
71 had a 39% higher risk of hip fracture (HR = 1.39, 95% CI: 1.20–1.58) compared with those
72 consuming between >3 servings and ≤ 5 servings of these food sources per day. Moreover, a
73 recent observational meta-analysis by Luo et al. [9] found a risk ratio of 0.83 (95% CI; 0.70–
74 0.98) for hip fracture with the fruit and vegetable intake. In addition, the higher inconsistency
75 (I-squared 84.7%) of their findings compared with that of our study was probably due to the
76 design of the included studies (cohort and case-control). Since the publication of the
77 aforementioned studies, another two high-quality cohort studies have been published [20][22].
78 Our study has included only cohort studies adding a GRADE three evidence of the beneficial
79 effect of fruits and vegetables lowering the risk of hip fractures in people over 50 years.

80 The relationship between a healthy (nutrient-rich, fruit dense) dietary pattern and
81 changes in BMD as well as between nutrient-poor dietary pattern and changes in BMD had
82 been described by several observational studies [32-36]. In our systematic review, both the
83 elderly Framingham Osteoporosis Study [32] and The Rotterdam Study [37] described a
84 positive association between nutrient-rich dietary pattern (with regular intake of fruits and

85 vegetables) and BMD. Furthermore, in our meta-analysis, the risk of hip fracture was lower in
86 participants who had a dietary pattern rich in fruits and vegetables. Although these studies
87 involve different populations and different eating habits, our results suggest that a nutrient-rich
88 dietary pattern has benefits on bone health both in adulthood and in more advanced ages.
89 Moreover, a fruit and vegetable intake has been linked to a healthier diet pattern, with fewer
90 sugars, soft drinks, fats, etc., which also might contribute to its beneficial effect on bone health.

91 In the present study, we did not include studies that evaluated the Mediterranean,
92 vegetarian, Vegan, lactose-free, or other specific dietary patterns. These studies were excluded
93 as they involved diets that are not only based on fruits and vegetables but also on peas, beans,
94 chickpeas, lentils, oilseeds, lean meats, and other foods. Moreover, some of these diets are very
95 restrictive, excluding dairy products, meat, and other foods. Therefore, they cannot be used to
96 compare other people who do not have healthy eating habits without generating a confusion
97 bias.

98 When conducting an RCT, evaluating the effects of fruit and vegetable consumption on
99 health outcomes remains challenging. Moreover, obtaining funds, enrolling enough
100 participants, and maintaining patient compliance were other challenges encountered by
101 researchers. It is almost impossible to blind the study participants from the intervention such as
102 the ingestion of fruits and vegetables, the measurement of compliance to the RCT that is food
103 based is also difficult when a degree of self-report is involved even if fruit and vegetables
104 supplied or biomarkers used, in addition, the length of intervention required to determine its
105 impact on bone health is unknown and hence the duration of intervention remain uncertain.
106 Therefore, the data regarding this topic are limited. We only found one study evaluating
107 fractures in our systematic review. McTiernan et al. [38] carried out an RCT in 2009. They
108 reported an HR of 1.12 (95% CI: 0.94–1.34) for hip fractures in participants who consumed at
109 least 5 servings of fruits and vegetables per day. Their results were in disagreement with that
110 of our observational meta-analysis. The effect of non-blinding, or even the Hawthorne effect,
111 might have contributed to the differences in the results obtained in this clinical trial and our
112 meta-analysis.

113 The lack of association between the bone resorption marker CTx and the fruit and
114 vegetable intake should be interpreted with caution. Although it is beneficial to understand the
115 mechanism of bone diseases, bone markers are surrogate outcomes [39]. The use of bone
116 markers as predictors of fractures remain controversial [39-41]. In our meta-analysis the level
117 of evidence for this outcome was low. The studies included in the meta-analysis had small

118 sample sizes, and the subjects were followed for a limited amount of time, which may have
119 contributed to our findings. Moreover, the evidence grade for this outcome was low.

120 There are several mechanisms by which the intake of fruits and vegetables could have
121 beneficial effect on bone metabolism. The most classical hypothesis is that the intake of fruits
122 and vegetables would slightly alter the basic acid balance in alkaline favor [42]. This mild
123 alkalization could reduce calcium reabsorption through the renal tubules, which would reflect
124 a decrease in bone loss [42]. More recently, the role of fruits and vegetables in oxidative stress
125 has been discussed [43]. The consumption of fruits and vegetables has been associated with a
126 greater reduction-oxidation (REDOX) capacity [44], which would increase the capacity of bone
127 remodeling [44], which would increase the capacity of bone remodeling [45], improving bone
128 repair capacity and reducing bone loss [45]. Finally, some studies have described an inverse
129 association between fruit and vegetable intake and chronic inflammatory conditions [46, 47].
130 These chronic inflammatory states are associated with an increased risk of osteoporosis and
131 fractures [48, 49].

132 Our study has some limitations. The heterogeneity of our observational meta-analysis
133 was moderate. Although we conducted a sensitivity analysis, we could not identify a single
134 study responsible for this inconsistency. Meta-analysis of observational studies usually
135 presented some heterogeneity due to the different populations included in the studies, use of
136 various instruments to evaluate the study factor [50] and outcomes [51], and differences in the
137 incidence of fractures among the countries [52]. Additionally, we could not rule out a
138 publication bias. Small-scale studies with negative results were not found. Nevertheless, the
139 overall quality of the cohort studies included in the pooled analysis is good, and the level of
140 evidence is moderate (GRADE (⊕⊕⊕O)).

141 The nutritional assessment instruments have measurement errors inherent in the method
142 itself. In our systematic review all, but one cohort study have used FFQ and 24-h-R to evaluate
143 the fruit and vegetable intake. Both instruments were used to evaluate the short-term intake of
144 food, and both were prone to memory bias [50]. Despite these issues, the study participants did
145 not know which outcome was assessed; thus, the risk of under- or overestimation was equal in
146 both in the study and control groups, not generating systematic bias. Moreover, all FFQs used
147 in our meta-analysis have been appropriately validated.

148 Our results show that a diet dense in fruits and vegetables is associated with a lower risk
149 of hip fractures. Moreover, all observational studies included in the analysis were adjusted for
150 confounding factors such as body mass index, age, gender, total nutrient intake, calcium and

151 vitamin D, education, and diabetes. These adjustments suggest that the effect of fruit and
152 vegetable intake might be independent of other health habits.

153 Our findings, along with previous evidence that fruit and vegetable intake may be
154 beneficial in reducing other pathologies such as cardiovascular disease [53, 54] and cancer [53],
155 and evidence of the association of ingestion of these foods with a decrease in mortality suggest
156 [53, 55] that fruit and vegetable intake should be encouraged. Our view is that the World Health
157 Organization recommendations on fruit and vegetable consumption [56] should be promoted
158 globally.

159 In summary, our results showed that a dietary pattern rich in fruits and vegetables is
160 associated with reduced risk of bone fractures. However, large multicenter cohort studies with
161 a large number of participants from different populations and that can evaluate the fruit and
162 vegetable intake with multiple instruments, i.e., multiple 24h-R and 7-day food record, are
163 necessary to confirm these findings.

164

165 Acknowledgement

166

167 JEB received grants from The Coordination of Higher Level Personnel (CAPES), Brazil
168 regarding her Ph.D. thesis. The Federal University of Santa Maria (UFSM) is the sponsor of
169 this study. The UFSM had no role in the design, analysis or writing up this protocol. All
170 authors state that they have no conflict of interest regarding this manuscript.

171

172 Authors' roles

173

174 Study design: JEB, FVC, LMF, and MOP. Study conduct: JEB, MOP. Data collection: JEB,
175 MOP. Data analysis: JEB, MOP. Data interpretation: JEB, FVC, LMF, LAM, and MOP.
176 Drafting manuscript: JEB, MOP. Revising manuscript content: JEB, FVC, LMF, LAM, and
177 MOP. Approving final version of manuscript: JEB, FVC, LMF, LAM, and MOP. MOP takes
178 responsibility for the integrity of the data analysis.

179

180 Financial Support

181

182 The Federal University of Santa Maria sponsored this study. The sponsor had no role in the
183 design, conduct, or analysis of our study or in the decision to submit this manuscript for
184 publication.

185 **Competing interests**

186 Juliana Brondani, Fabio Comim, Liziane Flores, Ligia Martini, and Melissa Premaor declare
187 that they have no conflict of interest.

References

1. Black DM, Rosen CJ. Clinical Practice. Postmenopausal Osteoporosis. *N Engl J Med.* 2016;374(3):254-62. doi: 10.1056/NEJMcp1513724. PubMed PMID: 26789873.
2. Rachner TD, Khosla S, Hofbauer LC. Osteoporosis: now and the future. *Lancet.* 2011;377(9773):1276-87. doi: 10.1016/S0140-6736(10)62349-5. PubMed PMID: 21450337; PubMed Central PMCID: PMC3555696.
3. J. Z. Auditoria Regional da América Latina: Epidemiologia, custos e ônus da osteoporose em 2012.http://osteoporosisinlatinamerica.com/pt/wp-content/uploads/2012/11/LA_Audit_Portugues.pdf. : International Osteoporosis Foundation. ; 2012 [cited 2015].
4. Cauley JA. Public health impact of osteoporosis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2013;68(10):1243-51. doi: 10.1093/gerona/glt093. PubMed PMID: 23902935; PubMed Central PMCID: PMC3779634.
5. Caroli A, Poli A, Ricotta D, Banfi G, Cocchi D. Invited review: Dairy intake and bone health: a viewpoint from the state of the art. *J Dairy Sci.* 2011;94(11):5249-62. doi: 10.3168/jds.2011-4578. PubMed PMID: 22032348.
6. Bonjour JP, Kraenzlin M, Levasseur R, Warren M, Whiting S. Dairy in adulthood: from foods to nutrient interactions on bone and skeletal muscle health. *J Am Coll Nutr.* 2013;32(4):251-63. doi: 10.1080/07315724.2013.816604. PubMed PMID: 24024770; PubMed Central PMCID: PMC3836362.
7. Weaver CMH, R. P. 42. Nutrition and Osteoporosis. In: Rosen CJ, editor. Primer. USA: American Society for Bone Research; Published Online: 19 JUL 2013.
8. Hamidi M, Boucher BA, Cheung AM, Beyene J, Shah PS. Fruit and vegetable intake and bone health in women aged 45 years and over: a systematic review. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA.* 2011;22(6):1681-93.
9. Luo S, Li Y, Luo H, Yin X, Lin du R, Zhao K, et al. Increased intake of vegetables, but not fruits, may be associated with reduced risk of hip fracture: A meta-analysis. *Sci Rep.* 2016;6:19783. doi: 10.1038/srep19783. PubMed PMID: 26806285; PubMed Central PMCID: PMC4726403.
10. Compston JE, McClung MR, Leslie WD. Osteoporosis. *Lancet.* 2019;393(10169):364-76. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32112-3. PubMed PMID: 30696576.

11. Szulc P, Naylor K, Hoyle NR, Eastell R, Leary ET, National Bone Health Alliance Bone Turnover Marker P. Use of CTX-I and PINP as bone turnover markers: National Bone Health Alliance recommendations to standardize sample handling and patient preparation to reduce pre-analytical variability. *Osteoporos Int.* 2017;28(9):2541-56. doi: 10.1007/s00198-017-4082-4. PubMed PMID: 28631236.
12. Higgins JPT, Altman, D.G., Sterne, J.A.C. Chapter 8: Assessing risk of bias in included studies. In: Higgins JPT, Green, S., editor. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* U.K.: Cochrane 2011.
13. Wells GA, Shea, B., O'connell, D., Peterson, J., Welch, V., Losos, M., Tugwell, P. . The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses. http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp 2015 [cited 2015].
14. Stang A. Critical evaluation of the Newcastle-Ottawa scale for the assessment of the quality of nonrandomized studies in meta-analyses. *Eur J Epidemiol.* 2010;25(9):603-5. doi: 10.1007/s10654-010-9491-z. PubMed PMID: 20652370.
15. Group GW. GRADE. Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation. <http://www.gradeworkinggroup.org/>: GRADE Working Group; [cited 2016].
16. Balshem H, Helfand M, Schunemann HJ, Oxman AD, Kunz R, Brozek J, et al. GRADE guidelines: 3. Rating the quality of evidence. *J Clin Epidemiol.* 2011;64(4):401-6. doi: 10.1016/j.jclinepi.2010.07.015. PubMed PMID: 21208779.
17. Samieri C, Ginder Coupez V, Lorrain S, Letenneur L, Allès B, Féart C, et al. Nutrient patterns and risk of fracture in older subjects: results from the Three-City Study. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA.* 2013;24(4):1295-305.
18. Benetou V, Orfanos P, Zylis D, Sieri S, Contiero P, Tumino R, et al. Diet and hip fractures among elderly Europeans in the EPIC cohort. *European journal of clinical nutrition.* 2011;65(1):132-9. Epub 2010/10/16. doi: 10.1038/ejcn.2010.226. PubMed PMID: 20948558.
19. Kaptoge S, Welch A, McTaggart A, Mulligan A, Dalzell N, Day NE, et al. Effects of dietary nutrients and food groups on bone loss from the proximal femur in men and women in the 7th and 8th decades of age. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA.* 2003;14(5):418-28.

20. de Jonge EA, Kieft-de Jong JC, Hofman A, Uitterlinden AG, Kieboom BC, Voortman T, et al. Dietary patterns explaining differences in bone mineral density and hip structure in the elderly: the Rotterdam Study. *Am J Clin Nutr.* 2017;105(1):203-11. doi: 10.3945/ajcn.116.139196. PubMed PMID: 27903522.
21. Byberg L, Bellavia A, Orsini N, Wolk A, Michaëlsson K. Fruit and vegetable intake and risk of hip fracture: a cohort study of Swedish men and women. 2015.
22. Fung TT, Feskanich D. Dietary patterns and risk of hip fractures in postmenopausal women and men over 50 years. *Osteoporosis International.* 2015;26(6):1825-30.
23. Langsetmo L, Hanley DA, Prior JC, Barr SI, Anastassiades T, Towheed T, et al. Dietary patterns and incident low-trauma fractures in postmenopausal women and men aged ≥ 50 y: A population-based cohort study. *American Journal of Clinical Nutrition.* 2011;93(1):192-9.
24. Tucker KL, Hannan MT, Chen H, Cupples LA, Wilson PW, Kiel DP. Potassium, magnesium, and fruit and vegetable intakes are associated with greater bone mineral density in elderly men and women. *The American journal of clinical nutrition.* 1999;69(4):727-36. Epub 1999/04/10. PubMed PMID: 10197575.
25. Ebrahimof S, Hoshiarrad A, Hossein-Nezhad A, Larjani B, Kimiagar SM. Effects of increasing fruit and vegetable intake on bone turnover in postmenopausal osteopenic women. 2009.
26. Neville CE, Young IS, Gilchrist SECM, McKinley MC, Gibson A, Edgar JD, et al. Effect of increased fruit and vegetable consumption on bone turnover in older adults: A randomised controlled trial. 2014.
27. Macdonald HM, Black AJ, Aucott L, Duthie G, Duthie S, Sandison R, et al. Effect of potassium citrate supplementation or increased fruit and vegetable intake on bone metabolism in healthy postmenopausal women: A randomized controlled trial. 2008.
28. McTiernan A, Wactawski-Wende J, Wu L, Rodabough RJ, Watts NB, Tylavsky F, et al. Low-fat, increased fruit, vegetable, and grain dietary pattern, fractures, and bone mineral density: the Women's Health Initiative Dietary Modification Trial. 2009.
29. Gunn CA, Weber JL, McGill A-T, Kruger MC. Increased intake of selected vegetables, herbs and fruit may reduce bone turnover in post-menopausal women. 2015.
30. de Jonge EAL, Rivadeneira F, Erler NS, Hofman A, Uitterlinden AG, Franco OH, et al. Dietary patterns in an elderly population and their relation with bone mineral density: the Rotterdam Study. *Eur J Nutr.* 2018;57(1):61-73. doi: 10.1007/s00394-016-1297-7. PubMed PMID: 27557817; PubMed Central PMCID: PMC5847075.

31. Benetou V, Orfanos P, Feskanich D, Michaëlsson K, Pettersson-Kymmer U, Eriksson S, et al. Fruit and Vegetable Intake and Hip Fracture Incidence in Older Men and Women: The CHANCES Project. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2016.
32. Tucker KL, Chen H, Hannan MT, Cupples LA, Wilson PW, Felson D, et al. Bone mineral density and dietary patterns in older adults: the Framingham Osteoporosis Study. *The American journal of clinical nutrition*. 2002;76(1):245-52. Epub 2002/06/26. PubMed PMID: 12081842.
33. Shin S, Sung J, Joung H. A fruit, milk and whole grain dietary pattern is positively associated with bone mineral density in Korean healthy adults. *European journal of clinical nutrition*. 2015;69(4):442-8. Epub 2014/10/30. doi: 10.1038/ejcn.2014.231. PubMed PMID: 25351648.
34. Liu Z-m, Leung J, Wong SY-s, Wong CKM, Chan R, Woo J. Greater fruit intake was associated with better bone mineral status among Chinese elderly men and women: results of Hong Kong Mr. Os and Ms. Os studies. *Journal of the American Medical Directors Association*. 2015;16(4):309-15.
35. Macdonald HM, New SA, Golden MHN, Campbell MK, Reid DM. Nutritional associations with bone loss during the menopausal transition: evidence of a beneficial effect of calcium, alcohol, and fruit and vegetable nutrients and of a detrimental effect of fatty acids. *The American journal of clinical nutrition*. 2004;79(1):155-65.
36. McNaughton SA, Wattanapenpaiboon N, Wark JD, Nowson CA. An energy-dense, nutrient-poor dietary pattern is inversely associated with bone health in women. *Journal of Nutrition*. 2011;141(8):1516-23.
37. De Jonge EAL, Rivadeneira F, Erler NS, Hofman A, Uitterlinden AG, Franco OH, et al. Dietary patterns in an elderly population and their relation with bone mineral density: The Rotterdam study. *European Journal of Epidemiology*. 2015;30(8):761.
38. McTiernan A, Wactawski-Wende J, Wu L, Rodabough RJ, Watts NB, Tylavsky F, et al. Low-fat, increased fruit, vegetable, and grain dietary pattern, fractures, and bone mineral density: the Women's Health Initiative Dietary Modification Trial. *The American journal of clinical nutrition*. 2009;89(6):1864-76. Epub 2009/05/01. doi: 10.3945/ajcn.2008.26956. PubMed PMID: 19403636; PubMed Central PMCID: PMC2682999.
39. Naylor K, Eastell R. Bone turnover markers: use in osteoporosis. *Nat Rev Rheumatol*. 2012;8(7):379-89. doi: 10.1038/nrrheum.2012.86. PubMed PMID: 22664836.
40. Cabral HW, Andolfi BF, Ferreira BV, Alves DC, Morelato RL, Chambo AF, et al. The use of biomarkers in clinical osteoporosis. *Rev Assoc Med Bras (1992)*. 2016;62(4):368-76. doi: 10.1590/1806-9282.62.04.368. PubMed PMID: 27437684.

41. Szulc P. The role of bone turnover markers in monitoring treatment in postmenopausal osteoporosis. *Clin Biochem.* 2012;45(12):907-19. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2012.01.022. PubMed PMID: 22330940.
42. Weaver CMDH, B.; Rizzoli, R.; Heaney, R. P. Nutritional Support for Osteoporosis. In: Bilezikian JP, editor. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*: John Wiley & Sons; 2019.
43. Harasym J, Oledzki R. Effect of fruit and vegetable antioxidants on total antioxidant capacity of blood plasma. *Nutrition.* 2014;30(5):511-7. doi: 10.1016/j.nut.2013.08.019. PubMed PMID: 24698344.
44. Domínguez-Avila JAA-P, E.; Rosa-Carrillo, L. A.; Martinez-Martinez, A.; González-Aguilar, G. A.; Gómez-García, C. ; Robles-Sánchez, M. Effect of Fruit and Vegetable Intake on Oxidative Stress and Dyslipidemia Markers in Human and Animal Models. In: Rasooli I, editor. *Phytochemicals – Bioactivities and Impact on Health*. Rijeka, Croatia: InTech Open.
45. Domazetovic V, Marcucci G, Iantomasi T, Brandi ML, Vincenzini MT. Oxidative stress in bone remodeling: role of antioxidants. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 2017;14(2):209-16. doi: 10.11138/ccmbm/2017.14.1.209. PubMed PMID: 29263736; PubMed Central PMCID: PMCPMC5726212.
46. Holt EM, Steffen LM, Moran A, Basu S, Steinberger J, Ross JA, et al. Fruit and vegetable consumption and its relation to markers of inflammation and oxidative stress in adolescents. *J Am Diet Assoc.* 2009;109(3):414-21. doi: 10.1016/j.jada.2008.11.036. PubMed PMID: 19248856; PubMed Central PMCID: PMCPMC2676354.
47. Zhu F, Du B, Xu B. Anti-inflammatory effects of phytochemicals from fruits, vegetables, and food legumes: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2018;58(8):1260-70. doi: 10.1080/10408398.2016.1251390. PubMed PMID: 28605204.
48. Al-Daghri NM, Aziz I, Yakout S, Aljohani NJ, Al-Saleh Y, Amer OE, et al. Inflammation as a contributing factor among postmenopausal Saudi women with osteoporosis. *Medicine (Baltimore).* 2017;96(4):e5780. doi: 10.1097/MD.0000000000005780. PubMed PMID: 28121926; PubMed Central PMCID: PMCPMC5287950.
49. Briot K, Geusens P, Em Bultink I, Lems WF, Roux C. Inflammatory diseases and bone fragility. *Osteoporos Int.* 2017;28(12):3301-14. doi: 10.1007/s00198-017-4189-7. PubMed PMID: 28916915.
50. Shim JS, Oh K, Kim HC. Dietary assessment methods in epidemiologic studies. *Epidemiol Health.* 2014;36:e2014009. doi: 10.4178/epih/e2014009. PubMed PMID: 25078382; PubMed Central PMCID: PMCPMC4154347.

51. Ilha T, Comim FV, Copes RM, Compston JE, Premaor MO. HIV and Vertebral Fractures: a Systematic Review and Metanalysis. *Sci Rep.* 2018;8(1):7838. doi: 10.1038/s41598-018-26312-9. PubMed PMID: 29777162; PubMed Central PMCID: PMC5959850.
52. Requena G, Abbing-Karahagopian V, Huerta C, De Bruin ML, Alvarez Y, Miret M, et al. Incidence rates and trends of hip/femur fractures in five European countries: comparison using e-healthcare records databases. *Calcif Tissue Int.* 2014;94(6):580-9. doi: 10.1007/s00223-014-9850-y. PubMed PMID: 24687523.
53. Aune D, Giovannucci E, Boffetta P, Fadnes LT, Keum N, Norat T, et al. Fruit and vegetable intake and the risk of cardiovascular disease, total cancer and all-cause mortality-a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *Int J Epidemiol.* 2017;46(3):1029-56. doi: 10.1093/ije/dyw319. PubMed PMID: 28338764; PubMed Central PMCID: PMC5837313.
54. Hu D, Huang J, Wang Y, Zhang D, Qu Y. Fruits and vegetables consumption and risk of stroke: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Stroke.* 2014;45(6):1613-9. doi: 10.1161/STROKEAHA.114.004836. PubMed PMID: 24811336.
55. Wang X, Ouyang Y, Liu J, Zhu M, Zhao G, Bao W, et al. Fruit and vegetable consumption and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *BMJ.* 2014;349:g4490. doi: 10.1136/bmj.g4490. PubMed PMID: 25073782; PubMed Central PMCID: PMC4115152.
56. Organization WWH. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. . Geneva: WHO. World Health Organization, 2003.

Supporting Information Caption

S1 Fig. This is the S1 Fig Title. Funnel plot of the cohort studies. The Harbord-Egger test p-value is 0.147.

S2 Fig. This is the S2Fig Title. Forest plot of the Hazard Ratio and 95% confidence interval (95% CI) for the risk of any fracture with combined fruit and vegetable intake in men and women in cohort studies.

S3 Fig. This is the S3Fig Title Funnel plot of the standard means difference of the C-terminal telopeptide (CTx) after three months combined fruit and vegetable intake in randomized trials.

S1 Table. This is the S1 Table Title. Summary of the performed searches.

S2 Table. This is the S2 Table Title. Description of the main results of cohort studies

S3 Table. This is the S3 Table Title Description of the main results of Randomized Clinical Trials

S4 Table. This is the S4 Table Title Evaluation of cohort studies quality according to Newcastle-Ottawa Scale

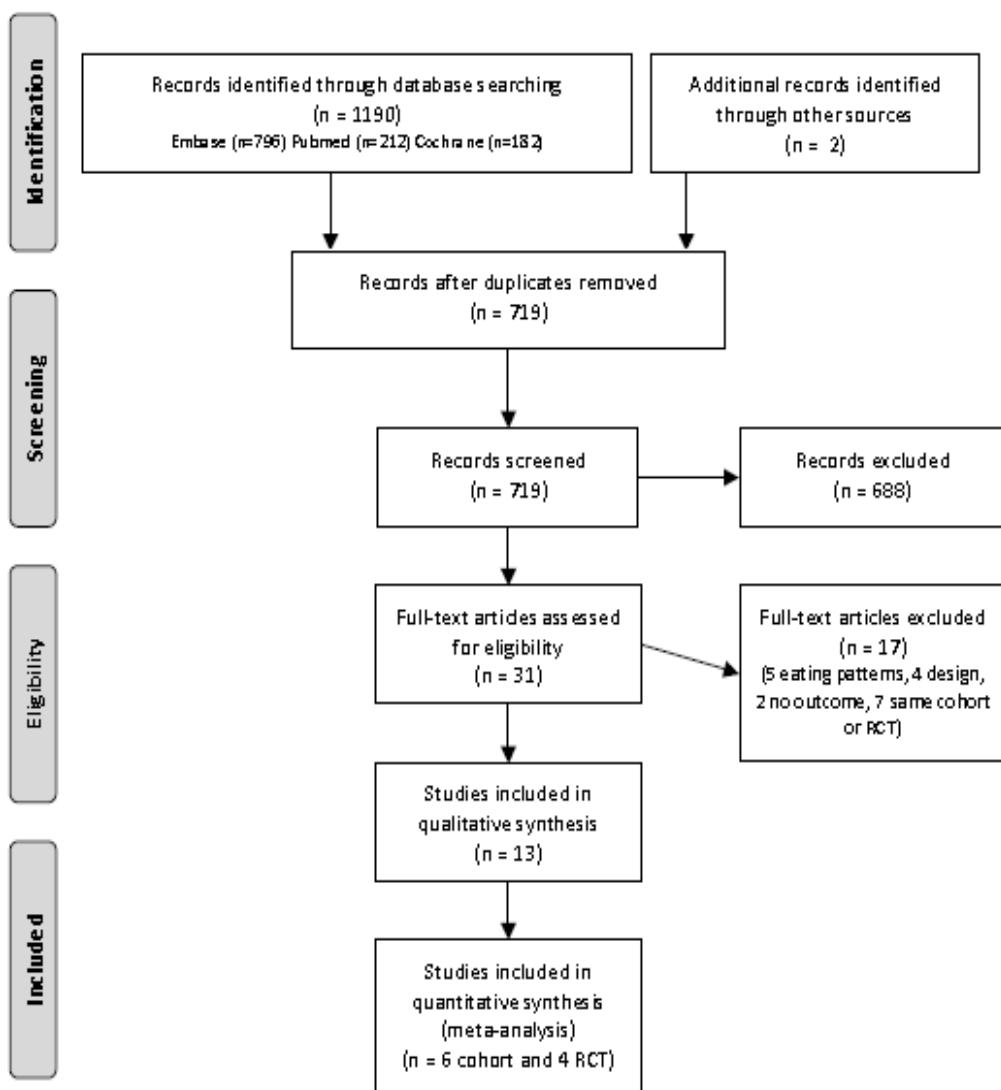
S5 Table. This is the S5 Table Title Evaluation of the Randomized Trials Bias Risk according to the Cochrane Collaboration tool.

S1 Prisma. This is the S1 Prisma Title PRISMA 2009 checklist PLOSONE

S1 Data. This is the S1 Data Title. Supporting data set

Fig 1. This is the Fig 1 Title: PRISMA 2009 flow diagram of the selection of studies included in the review

Figure 1. PRISMA 2009 Flow Diagram of the studies included in the review



From: Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. PLoS Med 6(7): e1000197. doi:10.1371/journal.pmed.1000197

For more information, visit www.prisma-statement.org.

Fig 2. This is the Fig 2 Title: Forest plot of the hazard ratio and 95% confidence interval of the risk of hip fractures with combined fruit and vegetable intake in men and women in cohort studies

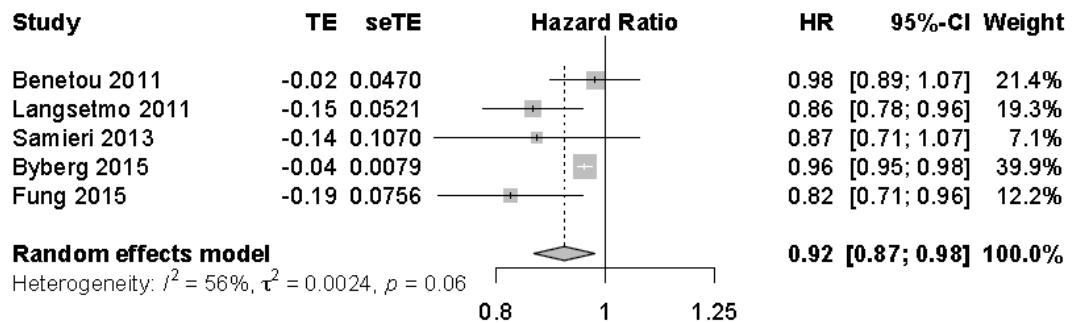
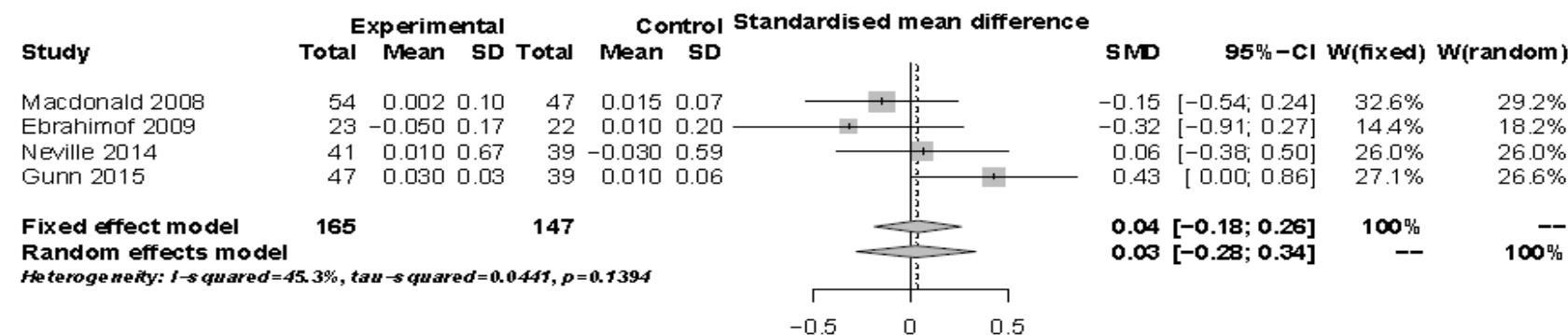
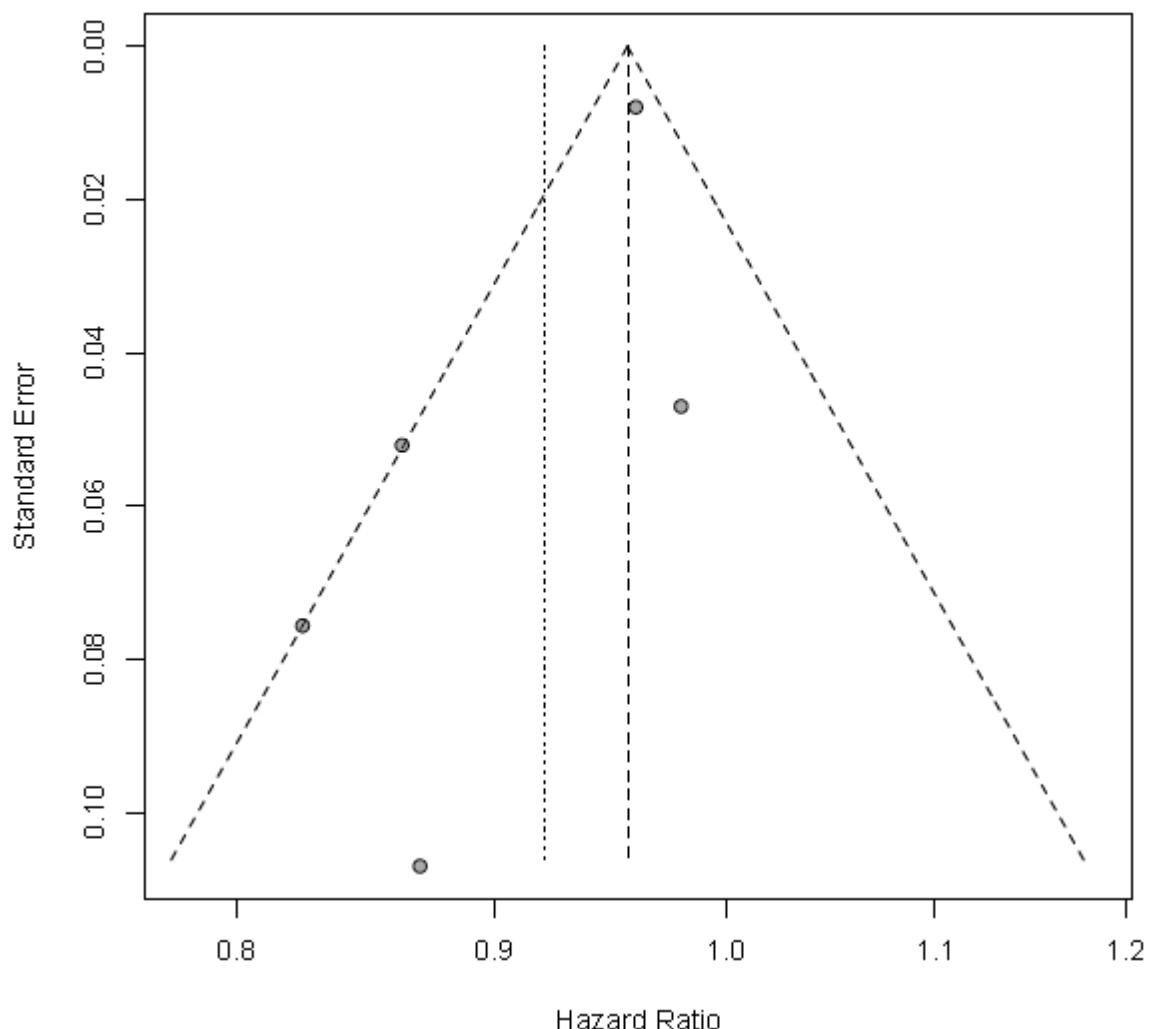


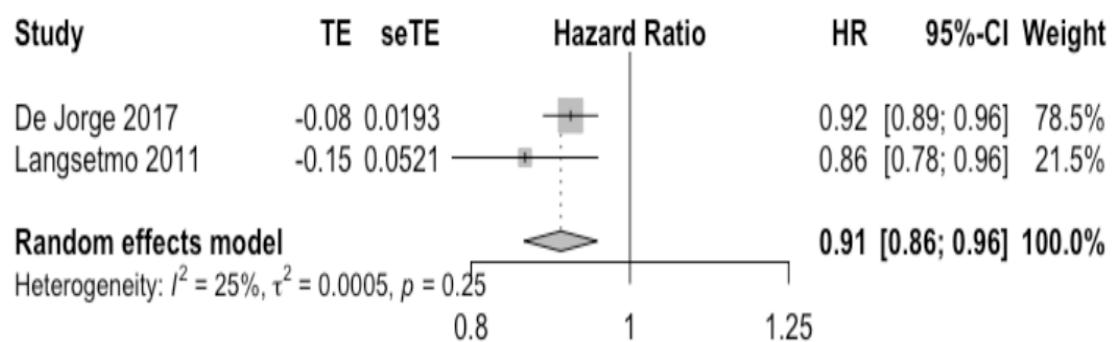
Fig 3. This is the Fig 3 Title: Forest plot of the standard means difference and 95% confidence interval of the C-terminal telopeptide after 3 months combined with fruit and vegetable intake in randomized clinical trials



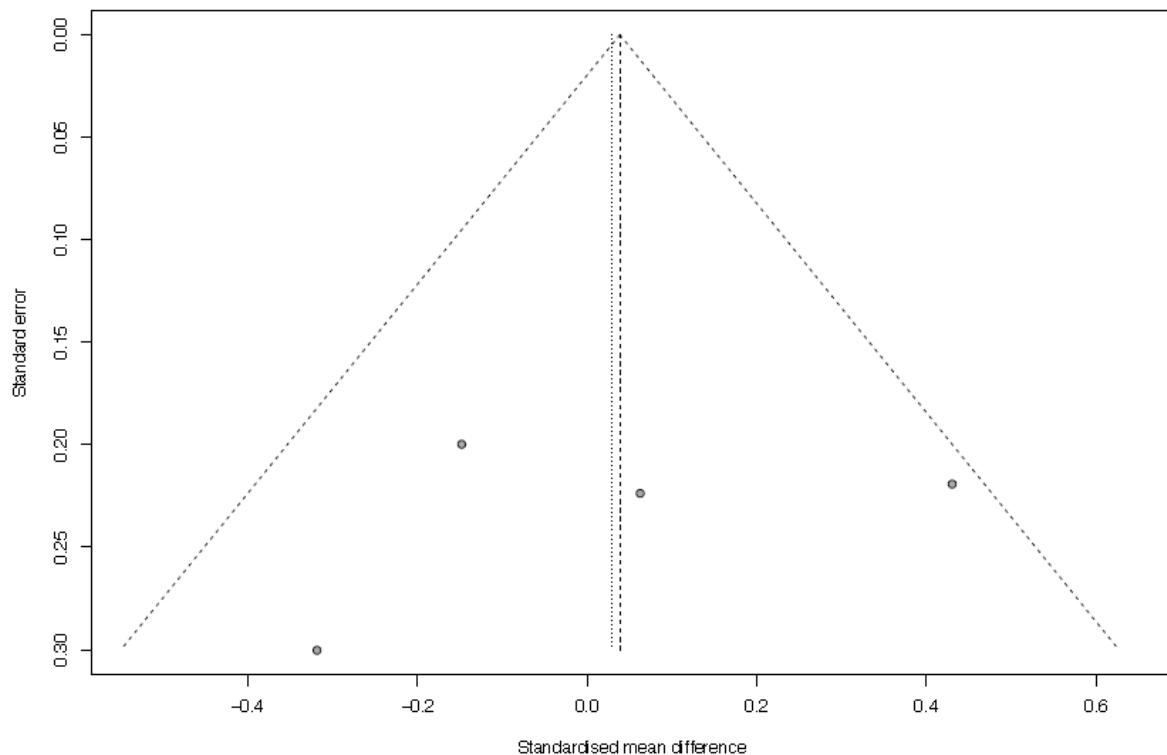
S1 Fig. This is the S1 Fig Title. Funnel plot of the cohort studies. The Harbord-Egger test p-value is 0.147.



S2 Fig. This is the S2Fig Title. Forest plot of the Hazard Ratio and 95% confidence interval (95% CI) for the risk of any fracture with combined fruit and vegetable intake in men and women in cohort studies.



S3 Fig. This is the S3Fig Title Funnel plot of the standard means difference of the C-terminal telopeptide (CTX) after three months combined fruit and vegetable intake in randomized trials.



S1 Table. This is the S1 Table Title. Summary of the performed searches

Date performed	EMBASE search	Pubmed search	Cochrane search
August 24th, 2016	(bone' OR 'bone'/exp OR bone OR 'bone demineralization'/exp OR 'bone demineralization' OR 'bone density'/exp OR 'bone density' OR 'bone densitometry'/exp OR 'bone densitometry' OR 'fracture'/exp OR 'fracture' OR 'fragility fracture'/exp OR 'fragility fracture' OR 'bone mass'/exp OR 'bone mass' OR 'bone metabolism'/exp OR 'bone metabolism' OR 'bone remodeling'/exp OR 'bone remodeling' OR 'osteoporosis'/exp OR 'osteoporosis' OR 'postmenopause osteoporosis'/exp OR 'postmenopause osteoporosis' OR 'primary osteoporosis'/exp OR 'primary osteoporosis' OR 'secondary osteoporosis'/exp OR 'secondary osteoporosis' OR 'densitometry'/exp OR 'densitometry') AND ('vegetable'/exp OR 'vegetable' OR 'fruit'/exp OR 'fruit' OR 'fruits' OR 'fruits and vegetables') limits: human ; clinical trial	((("Fruit"[Mesh]) OR ("Vegetables"[Mesh] OR "Vegetable Products"[Mesh])) AND (((("Bone and Bones"[Mesh]) OR "Bone Density"[Mesh]) OR "Bone Remodeling"[Mesh]) OR "Bone Resorption"[Mesh]) OR "Fractures, Bone"[Mesh]) OR ("Osteoporosis, Postmenopausal"[Mesh] OR "Osteoporosis"[Mesh])) AND ("Epidemiologic Methods"[Mesh] OR "Epidemiologic Study Characteristics as Topic"[Mesh] OR "Clinical Trials as Topic"[Mesh])	(Fruit or Vegetable) AND (Bone Density or Bone Remodeling or Bone Resorption or Fractures, Bone or bone and bones or bone formation or Bone turnover or Biological Markers or bone metabolism or Osteoporosis).
June 26th, 2017	n = 442	n = 168	n = 180
October 24th, 2018	n = 623	n = 195	n = 182
	n = 796	n = 212	n = 182

S2 Table . Description of the main results of cohort studies

Study	Adjust for confounding factors	Observed events*
Langsetmo et al., 2011[1]	BMI, BMD, falls, previous fracture, comorbidities, tobacco use, milk intake, calcium and vitamin D supplement	Fracture M n=70; F n=320
Benetou et al., 2011[2]	BMI, age, gender, height, education, tobacco use, calcium and vitamin D supplement, DM, total calorie intake	Hip fracture M n= 53; F n=222
Samieri et al., 2013[3]	BMI, age, gender, total calorie intake, education, marriage status, osteoporosis history, calcium and vitamin D supplement	Hip fracture n=57
Byberg et al., 2015[4]	BMI, age, gender, height, tobacco use, alcohol abuse, education, marriage status, physical activity, total calorie intake, total nutrient intake, calcium and vitamin D supplement, DM	Hip Fracture M n=1378; F n=2266
Fung et al., 2015[5]	BMI, age, height, tobacco use, physical activity, total calorie intake, calcium and vitamins supplement, hormone replacement therapy	Hip Fracture M n=596; F n=1891
De Jorge et al., 2017)[6]	Age, sex, body weight, height, vitamin D plasma concentrations, the month of the vitamin D measurement, and the use of lipid-lowering drugs	Fracture=1155 Hip fracture=317

BMI=bone mass index; BMD= bone mass density; DM=Diabetes Mellitus.

F=female M=male.

* Number of events observed during the follow-up.

S3 Table. Description of the main results of Randomized Clinical Trials

Study	Adjust for confounding factors	Observed events	
		Mean \pm SD	HR (CI 95%)
Macdonald et al., 2008 [7]	No	CTx (ng/mL) 3 months = 0.015 \pm 0.072 vs. 0.002 \pm 0.102*	
Ebrahimof et al., 2009 [8]	No	24 months = 0.008 \pm 0.091 vs. 0.003 \pm 0.109*	
McTiernan et al., 2009 [9]	Age, ethnicity, BMI, education, physical activity, total calorie intake, tobacco use, alcohol abuse, HRT, calcium and vitamin D supplement previous fracture, income	CTx (μ g/L) 0.01 \pm 0.19 vs. -0.05 \pm 0.17*	Hip 1.12 (0.94 to 1.34) Spine 0.91 (0.77 to 1.08) Wrist 1.03 (0.93 to 1.14) Total 0.97 (0.92 to 1.02)
Neville et al., 2014 [10]	No		CTx (ng/ml) 0.98 (0.90 to 1.6)
Gunn et al., 2015 [11]	No	CTx (μ g/L) 0.01 \pm 0.06 vs. 0.03 \pm 0.03*	

BMI= body mass index; HRT = hormone replacement therapy

*Control group vs. intervention group

S4 Table . Evaluation of cohort studies quality according to Newcastle-Ottawa Scale

	Selection			Comparability	Outcome			Grading
Representativeness of the Exposed Cohort	Selection of the Non-Exposed Cohort	Ascertainment of Exposure	Outcome Not Present at Start	Comparability of Design or Analysis	Assessment of Outcome	Follow-Up Long Enough	Adequacy of Follow Up	Representativeness of the Exposed Cohort
Langsetmo et al., 2011[1]								8
Benetou et al., 2011[2]								8
Samieri et al., 2013[3]								7
Byberg et al., 2015[4]								8
Fung et al., 2015[5]								8
De Jorge et al., 2017)[6]								8

Newcastle-Ottawa Scale was obtained to assess the selection, comparability and outcome for the cohort study. = 1 point

S5 Table. Evaluation of the Randomized Trials Bias Risk according to the Cochrane Collaboration tool.

	Random sequence generation	Allocation concealment	Blinding participants and personal	Blinding of outcome assessment	Incomplete outcome data	Selective reporting	Other bias	Overall bias
Macdonald et al., 2008 [7]	Y	Y	Y	Y	Y	N	N	L
Ebrahimof et al., 2009 [8]	Y	U	U	U	U	U	U	H
McTiernan et al., 2009 [9]	Y	Y	U	U	U	Y	Y	H
Neville et al., 2014 [10]	Y	Y	N	Y	N	U	U	H
Gunn et al., 2015 [11]	U	U	U	U	U	U	U	H

Y=Yes; N=No; U=Unclear; H=High; L=Low

References:

1. Langsetmo L, Hanley DA, Prior JC, Barr SI, Anastassiades T, Towheed T, et al. Dietary patterns and incident low-trauma fractures in postmenopausal women and men aged ≥ 50 y: A population-based cohort study. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2011;93(1):192-9.
2. Benetou V, Orfanos P, Zylis D, Sieri S, Contiero P, Tumino R, et al. Diet and hip fractures among elderly Europeans in the EPIC cohort. *European journal of clinical nutrition*. 2011;65(1):132-9. Epub 2010/10/16. doi: 10.1038/ejcn.2010.226. PubMed PMID: 20948558.
3. Samieri C, Ginder Coupez V, Lorrain S, Letenneur L, Allès B, Féart C, et al. Nutrient patterns and risk of fracture in older subjects: results from the Three-City Study. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2013;24(4):1295-305.
4. Byberg L, Bellavia A, Orsini N, Wolk A, Michaelsson K. Fruit and vegetable intake and risk of hip fracture: a cohort study of Swedish men and women. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2015;30(6):976-84. Epub 2014/10/09. doi: 10.1002/jbmr.2384. PubMed PMID: 25294687.
5. Fung TT, Feskanich D. Dietary patterns and risk of hip fractures in postmenopausal women and men over 50 years. *Osteoporosis International*. 2015;26(6):1825-30.
6. de Jonge EA, Kieft-de Jong JC, Hofman A, Uitterlinden AG, Kieboom BC, Voortman T, et al. Dietary patterns explaining differences in bone mineral density and hip structure in the elderly: the Rotterdam Study. *Am J Clin Nutr*. 2017;105(1):203-11. doi: 10.3945/ajcn.116.139196. PubMed PMID: 27903522.
7. Macdonald HM, Black AJ, Aucott L, Duthie G, Duthie S, Sandison R, et al. Effect of potassium citrate supplementation or increased fruit and vegetable intake on bone metabolism in healthy postmenopausal women: a randomized controlled trial. *The American journal of clinical nutrition*. 2008;88(2):465-74. PubMed PMID: 18689384.
8. Ebrahimof S, Hoshiarrad A, Hossein-Nezhad A, Larijani B, Kimiagar SM. Effects of increasing fruit and vegetable intake on bone turnover in postmenopausal osteopenic women. *Daru*. 2009;17(SUPPL. 1):30-7.
9. McTiernan A, Wactawski-Wende J, Wu L, Rodabough RJ, Watts NB, Tylavsky F, et al. Low-fat, increased fruit, vegetable, and grain dietary pattern, fractures, and bone mineral density: the Women's Health Initiative Dietary Modification Trial. *The American journal of clinical nutrition*. 2009;89(6):1864-76. Epub 2009/05/01. doi: 10.3945/ajcn.2008.26956. PubMed PMID: 19403636; PubMed Central PMCID: PMCPMC2682999.

10. Neville CE, Young IS, Gilchrist SECM, McKinley MC, Gibson A, Edgar JD, et al. Effect of increased fruit and vegetable consumption on bone turnover in older adults: A randomised controlled trial. *Osteoporosis International*. 2014;25(1):223-33.
11. Gunn CA, Weber JL, McGill AT, Kruger MC. Increased intake of selected vegetables, herbs and fruit may reduce bone turnover in post-menopausal women. *Nutrients*. 2015;7(4):2499-517. Epub 2015/04/10. doi: 10.3390/nu7042499. PubMed PMID: 25856221; PubMed Central PMCID: PMC4425157.

Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
TITLE			
Title	1	Identify the report as a systematic review, meta-analysis, or both.	1
ABSTRACT			
Structured summary	2	Provide a structured summary including, as applicable: background; objectives; data sources; study eligibility criteria, participants, and interventions; study appraisal and synthesis methods; results; limitations; conclusions and implications of key findings; systematic review registration number.	2
INTRODUCTION			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of what is already known.	3
Objectives	4	Provide an explicit statement of questions being addressed with reference to participants, interventions, comparisons, outcomes, and study design (PICOS).	3
METHODS			
Protocol and registration	5	Indicate if a review protocol exists, if and where it can be accessed (e.g., Web address), and, if available, provide registration information including registration number.	4
Eligibility criteria	6	Specify study characteristics (e.g., PICOS, length of follow-up) and report characteristics (e.g., years considered, language, publication status) used as criteria for eligibility, giving rationale.	4
Information sources	7	Describe all information sources (e.g., databases with dates of coverage, contact with study authors to identify additional studies) in the search and date last searched.	5
Search	8	Present full electronic search strategy for at least one database, including any limits used, such that it could be repeated.	5
Study selection	9	State the process for selecting studies (i.e., screening, eligibility, included in systematic review, and, if applicable, included in the meta-analysis).	6
Data collection process	10	Describe method of data extraction from reports (e.g., piloted forms, independently, in duplicate) and any processes for obtaining and confirming data from investigators.	6
Data items	11	List and define all variables for which data were sought (e.g., PICOS, funding sources) and any assumptions and simplifications made.	6
Risk of bias in individual studies	12	Describe methods used for assessing risk of bias of individual studies (including specification of whether this was done at the study or outcome level), and how this information is to be used in any data synthesis.	6,7

Summary measures	13	State the principal summary measures (e.g., risk ratio, difference in means).	7
Synthesis of results	14	Describe the methods of handling data and combining results of studies, if done, including measures of consistency (e.g., I^2) for each meta-analysis.	7

Page 1 of 2

Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
Risk of bias across studies	15	Specify any assessment of risk of bias that may affect the cumulative evidence (e.g., publication bias, selective reporting within studies).	7
Additional analyses	16	Describe methods of additional analyses (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression), if done, indicating which were pre-specified.	7
RESULTS			
Study selection	17	Give numbers of studies screened, assessed for eligibility, and included in the review, with reasons for exclusions at each stage, ideally with a flow diagram.	8
Study characteristics	18	For each study, present characteristics for which data were extracted (e.g., study size, PICOS, follow-up period) and provide the citations.	9,11
Risk of bias within studies	19	Present data on risk of bias of each study and, if available, any outcome level assessment (see item 12).	8 to 11
Results of individual studies	20	For all outcomes considered (benefits or harms), present, for each study: (a) simple summary data for each intervention group (b) effect estimates and confidence intervals, ideally with a forest plot.	12 to 14
Synthesis of results	21	Present results of each meta-analysis done, including confidence intervals and measures of consistency.	12 to 13
Risk of bias across studies	22	Present results of any assessment of risk of bias across studies (see Item 15).	12 to 13
Additional analysis	23	Give results of additional analyses, if done (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression [see Item 16]).	12 to 13
DISCUSSION			
Summary of evidence	24	Summarize the main findings including the strength of evidence for each main outcome; consider their relevance to key groups (e.g., healthcare providers, users, and policy makers).	14
Limitations	25	Discuss limitations at study and outcome level (e.g., risk of bias), and at review-level (e.g., incomplete retrieval of identified research, reporting bias).	16
Conclusions	26	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence, and implications for future research.	17
FUNDING			

Funding	27	Describe sources of funding for the systematic review and other support (e.g., supply of data); role of funders for the systematic review.	18
---------	----	--	----

From: Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. PLoS Med 6(7): e1000097. doi:10.1371/journal.pmed.1000097

For more information, visit: www.prisma-statement.org.

Page 2 of 2

4 ARTIGO 2 – VITAMIN D IS ASSOCIATED WITH A LOW QUALITY OF LIFE: A PRIMARY CARE STUDY

Artigo submetido para a revista médica *Journal of Endocrinological Investigation* (JENI).



Instruções

para

autores:

https://www.springer.com/medicine/journal/40618?detailsPage=pltci_2433947

VITAMIN D IS ASSOCIATED WITH A LOW QUALITY OF LIFE: A PRIMARY CARE STUDY

Juliana Ebling Brondani¹, Tamires Tolazzi Martins², Ana Elize Barin², Fabio Vasconcellos Comim³, and Melissa Orlandin Premaor³✉

1. Pós-graduação em Farmacologia, Health Sciences Center, Federal University of Santa Maria, Santa Maria (Brazil).
2. Grupo de Pesquisas em Doenças Osteometabólicas Crônicas, Department of Clinical Medicine, Federal University of Santa Maria, Santa Maria – Brazil.
3. Department of Clinical Medicine, Federal University of Minas Gerais – Brazil.

Fabio Comim ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2726-233X>

Melissa Premaor ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0770-9202>

✉ CORRESPONDING AUTHOR:

Melissa Orlandin Premaor, MD PhD

Departamento de Clínica Médica, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

Avenida Professor Alfredo Balena, 190 – sala 246

Belo Horizonte/ MG, Brazil.

Phone: 00 55 31 34099746

E-mail: mopremaor@bol.com.br

Abstract

Purpose: Some studies have described an impairment in quality of life of vitamin-deficient subjects D. However, little is known about this association in primary care. This study aimed to evaluate the association between vitamin D deficiency and quality of life in postmenopausal women attending primary care in the municipality of Santa Maria - Brazil.

Methods: A cross-sectional study was carried out with postmenopausal women over 55 years of age, accompanied in primary care, from March to August 2014. These women were randomly selected among the participants of an ongoing cohort study in the municipality of Santa Maria - Brazil. Data were collected through a standardized questionnaire, quality of life was assessed using the Short Form-36 Health Survey (SF-36), and 25-hydroxyvitamin D were measured using the ALPCO® ELISA method.

Results: Of the total of 78 studied women, 11.54% had vitamin D deficiency. Women with vitamin D deficiency had a poorer quality of life assessed by SF-36. In the regression analysis, both vitamin D deficiency and falls were independently associated with a lower physical component of the SF-36.

Conclusion: Vitamin D deficiency is associated with poorer quality of life in the studied postmenopausal women.

Keywords: Vitamin D; Postmenopausal; Quality of Life; SF-36; primary care

INTRODUCTION

Described as a steroid hormone [1-3], vitamin D presents its classic actions in bone metabolism. Its main actions are on calcium and phosphorus homeostasis; however, the vitamin D receptor is found in almost all human tissues [2]. Its deficiency may cause secondary hyperparathyroidism with loss of bone mass and consequent development of osteopenia and osteoporosis [3]. Severe vitamin D deficiency might evolve to rickets in children or osteomalacia in adults [1,3]. The best marker of vitamin D status is the serum level of 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] [1,3,4]. Low serum levels of 25(OH)D have been associated with bone fractures and falls [1,4]. Moreover, studies conducted in the last couple of decades have described associations between low serum levels of 25(OH)D and diseases that were not classically associated with bone metabolism. There is enough evidence to link vitamin D deficiency with a high prevalence of cancer, impaired immunity, and metabolic syndrome [3,4]. Besides, people with some chronic diseases such as heart failure, neurological disorders, and acquired immunodeficiency syndrome have low serum levels of 25(OH)D. Furthermore, vitamin D deficiency appears to be associated with unfavorable outcomes [3,4]. Subjects with breast cancer, colon cancer, or prostate cancer who have vitamin D deficiency have the worst prognosis [3]. An excess of mortality associated with low levels of 25(OH)D has been described in observational studies [3].

Despite the mechanisms of action of vitamin D and its association with a range of serious diseases suggesting that vitamin D deficiency may be associated with poorer health-related quality of life (HRQoL), only a few studies have evaluated this issue [5-22]. Although these studies have shown an overall association between low serum levels of 25(OH)D and low HRQoL, they mainly included subjects with comorbidities or subjects recruited in the tertiary setting. In this context, little is known about the association between vitamin D deficiency and the HRQoL in primary care. This study aimed to evaluate the association between vitamin D deficiency and the HRQoL in postmenopausal women attending the primary care of the municipality of Santa Maria - Brazil.

METHODS

Settings

The study was designed as a cross-sectional study nested in an ongoing cohort study [23] at the municipality of Santa Maria, located in southern Brazil. The cohort study included 1057 postmenopausal women over 55 years of age who attended the primary care of the municipality. Women with cognition and communication deficits were excluded. For this study, women were randomly selected among 1057 recruited. The sample size was calculated expecting a difference of 10 points in the HRQoL score between women with and without vitamin D deficiency, a standard deviation of 12 points, an alpha error

of 0.05%, and a power of 90%. The estimated number of patients that should be included in the study was 62.

Measurements

A standardized questionnaire translated into Portuguese was applied by our research team with the permission of researchers from The Global Longitudinal Study Osteoporosis (GLOW) and The Center for Outcomes Research, University of Massachusetts Medical School (<http://www.outcomes.umassmed.org/GLOW/default.aspx>) [24]. This questionnaire includes demographic information (age, educational level, alcohol use, smoking, and health insurance), information on comorbidities, hospitalization, medication, previous fractures, family history of fractures, and falls.

HRQoL was assessed through the Short Form-36 Health Survey (SF-36) (license number QM016471), which comprises 36 questions that evaluate the quality of life in two domains: physical component (physical functioning, role-physical, bodily pain, and general health) and mental component (vitality, social functioning, role-emotional, and mental health) [25-27].

Weight and height were measured according to the recommendations of the World Health Organization (WHO) [28]. The scale and the stadiometers were all validated according to the recommendations of the Brazilian National Institute of Metrology, Quality, and Technology Brazilian National Institute of Metrology, Quality and Technology [29]. The body mass index (BMI) was calculated using the WHO formula: weight / height² [30]. The physical activity of the women participating in the study was evaluated by the weekly frequency scale Baecke questionnaire [31,32]. All fractures were confirmed by X-ray verification or medical report. Major fractures were those located in the femur, humerus, wrist, or clinical vertebral, and that occurred after 45 years [23]. The risk of fractures was calculated using the Fracture Risk Assessment Tool (FRAX® – WHO, <https://www.sheffield.ac.uk/FRAZ/tool.aspx?country=55>) without the addition of the bone mineral density value (BMD).

Blood samples were taken in the morning, with at least 8 hours of fasting. Blood was centrifuged at 2500 x g for 15 min at 4 ° C. All samples were frozen at -80 ° C and measured at the same time. Serum levels of total 25(OH)vitamin D [25 (OH) D] were evaluated by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (ALPCO, Salem, MA, USA). The intra-assay precision was 4.7%. The measurements of the intact parathyroid hormone (PTH), the bone resorption marker cross-linked C-Telopeptide of Type I Collagen (CTX), and bone formation marker human total procollagen type I Intact N-terminal Propeptide (P1NP)] were also done by ELISA using commercial kits from ALPCO (Salem, MA, USA) and MyBiosource Inc. (San Diego, CA, USA), respectively. Intra-assay coefficients of variation were 4.8% (PTH - serum), 8% (CTX - plasma), and 10% (plasma P1NP). All tests were done according to the manufacturer's instructions. Serum levels of albumin, total calcium, phosphorus, and creatinine were

measured using the standardized methods on the Cobas MIRA® automated analyzer (Roche Diagnostic, Basel, Switzerland).

Statistical analysis

Data are described as prevalence rate (%) or mean and standard deviation. Vitamin D deficiency was considered present in those women who presented a 25(OH)D serum level lower than 20 ng/mL. Student's t-test, Fisher's exact test, and Mann-Whitney U were used to find possible differences between groups with and without vitamin D deficiency. Univariate linear regression analysis was used to evaluate potential factors associated with the physical and mental component of the quality of life. Multiple linear regression analysis models were used to determine the factors independently associated with the physical and mental component of quality of life. All variables that had a p-value less than 0.1 entered the model. The two-tailed p-value less than 0.05 was considered significant. Analyses were performed using the IBM SPSS statistical software (version 19 for Windows, Armonk, NY, USA).

RESULTS

The main characteristics of the study participants are shown in Table 1. Of the 84 women recruited, only 78 completed the SF36 questionnaire. There was no difference between age, years of education, health insurance, smoking, physical activity, the presence of comorbidity, use of vitamin D supplementation, the frequency of falls, fracture risk, and biochemical parameters between women with or without vitamin D deficiency. Women with vitamin D deficiency used calcium supplementation less frequently than women without vitamin D deficiency. There was a trend towards more hospital admissions in women with vitamin D deficiency.

Table 2 and Figure 1 display the HRQoL of the women studied. Women with vitamin D deficiency presented a lower quality of life than those without vitamin D deficiency. Further, the summary of the physical component of quality of life was lower in women with vitamin D deficiency compared to those without it [mean (SD) 47.62 (8.5) vs. 39.56 (10.4), p=0.023, respectively], figure 1. There was no difference in the mental component summary between the groups [mean (SD) 53.53 (12.6) vs. 52.01 (10.1), p = 0.713, respectively]. Women with vitamin D deficiency also had a lower total functional capacity (physical functioning) and worse performance in the emotional aspects (role-emotional), table 2.

The univariate analysis for the summary of the physical component of the HRQoL in the studied women is described in table 3. Comorbidity, major fracture, falls in the last year, and deficiency of vitamin D were inversely associated with the physical component of quality of life. On the other hand, physical activity and schooling over eight years were associated with a better physical component of SF-36.

In the multivariate analysis for the summary of the physical component of quality of life, only vitamin D deficiency and falls in the last year were independently associated with a lower score (Table 4).

The univariate analysis for the summary of the mental component of SF-36 is found in table 5 of the supplementary material. The presence of falls was the only factor associated with the mental component, and this was an inverse association.

DISCUSSION

We observed a worse HRQoL in women with vitamin D deficiency when compared to non-deficient women. Further, vitamin D deficiency and falls had a negative impact on the physical domain of quality of life, i. e., both factors were independently associated with the decrease in the quality of life in these women.

The association between vitamin D deficiency and poorer HRQoL has been described in some studies that have studied specific diseases such as chronic renal failure [6,8], inflammatory bowel disease [9,10], chronic obstructive pulmonary disease [33], rheumatoid arthritis [12], psoriatic arthritis [34], systemic sclerosis [14], cancer [15] and knee osteoarthritis [16]. However, there are few studies evaluating the association between vitamin D deficiency and HRQoL in patients with osteoporosis [13,17-19] or vitamin D deficiency and HRQoL in healthy populations [11,20-22]. Most of the studies that evaluated this association was performed in tertiary care patients. Our research is one of the few studies reporting the association of poor HRQoL in women with vitamin D deficiency in primary care.

Bassaran and et al. were one of the first groups to report the association between vitamin D deficiency and HRQoL in women with osteoporosis treated at a specialized outpatient clinic [17]. They applied the Quality of Life Questionnaire of the European Foundation for Osteoporosis (QUALEFO) and found a positive correlation between the serum 25 (OH) D levels and the QUALEFO scores [17]. In this study, all QUALEFO subscales were associated with vitamin D deficiency, defined as serum 25 (OH) D levels below 12.5 ng/mL [17]. Other studies have found similar results [13]. Ecemis et al. evaluated 86 premenopausal women attending Endocrinology and Metabolism Outpatient Clinic and found a positive association between vitamin D deficiency and the physical and mental components of SF-36 [18].

On the other hand, some studies also carried out in tertiary care did not find an association between HRQoL and vitamin D deficiency. Civelek et al. studied 49 postmenopausal women attending the Physical Medicine and Rehabilitation Clinic and found no association between vitamin D deficiency and the physical and mental domains of SF-36 [35]. Delchiaro et al. evaluated 71 women in the gynecology clinic of a university hospital and also found no association between vitamin D deficiency and a poor HRQoL [19]. Nevertheless, this study excluded all women who could not perform physical activities, which differentiates it from the studies above and from our research.

Few studies have evaluated the association between vitamin D deficiency and HRQoL in the general population. The Longitudinal Ageing Study Amsterdam study examined the association between HRQoL measured by the Short Form-12 Health Survey (SF-12) and vitamin D deficiency (defined as values below 20 ng / mL) and found very similar results to our research. In the Longitudinal

Ageing Study Amsterdam study, subjects with vitamin D deficiency had worse scores on the physical component of HRQoL [11]. Feng et al. studied 686 individuals who were recruited within a community-based study for the prevention of osteoporosis [21]. The scores for both the physical component and the mental component of SF-36 were positively associated with 25(OH)D serum levels in the linear regression analysis [21]. Chao et al. examined the association between serum 25(OH)D levels and HRQoL measured by Euro-Qol-5 dimension questionnaire (EQ-5D) in the volunteer participants of the Pure North S 'Energy Foundation study in Alberta, Canada [22]. This baseline and cross-sectional assessment were performed in 1493 individuals over 50 years of age [22]. They also found results similar to ours. In this study vitamin D was positively associated with total EQ-D5 scores and the domains: mobility, self-care, and depression and anxiety [22]. This association was maintained even after correction for age and sex [22].

In contrast to our study, the Korean National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES V) conducted in Korea from 2007 to 2012 found no differences in the EQ-5D mobility, self-care, usual activities, and pain/discomfort domains in adults (age between 20 and 49 years) with and without vitamin deficiency [20]. On the other hand, individuals who had vitamin D deficiency had a worse score in the depression and anxiety domains of EQ-5D [20]. In this research, the cut-off point for vitamin D deficiency was higher than ours (30 ng/mL)[20].

Discussion on which values of the serum levels of 25(OH)D should be used as a definition of vitamin D deficiency is broad in the literature [36]. From 2011 to the present, there are two preponderant recommendations on the cutoff of 25(OH)D [37,38]. The Institute of Medicine (IOM) standardized values above 20ng/mL (50nMol/L) as vitamin D sufficiency, while the Endocrine Society consider vitamin D sufficiency values above 30ng/mL (75nMol/L) [37]. The IOM recommendation was based on the relationship between serum vitamin D levels and certain metabolic bone and muscle outcomes - such as falls, fractures, and bone mass reduction - that have a more clear association with the 25(OH)D serum levels in the literature [37]. On the other hand, The Endocrine Society recommendation is based on possible extra-skeletal outcomes that might be associated with a higher cutoff of 25(OH)D serum levels [38]. However, more current studies suggest that the cutoff of 25(OH)D consistently associated with extra-skeletal outcomes, such as cancer incidence and increased mortality, are those recommended by IOM [39]. In our study, serum 25(OH)D levels under 20ng/mL (50nMol/L) were independently associated with a worse physical component of quality of life.

Different studies in different research settings have found different prevalences of vitamin D deficiency[40]. Our study, performed in the primary care of a tropical country, observed a frequency of 11.54% of vitamin D deficiency. This finding is in agreement with data from the recent large multicountry multicenter study, VITamin D and OmegA-3 TriaL-VITAL, a clinical trial with 26,871 subjects that evaluated the effects of vitamin D supplementation on primary cancer prevention. It observed that only 12.7% of the participants had vitamin D deficiency (25 (OH) D <20ng / ml) [41].

Although the mechanisms of action of vitamin D, primarily its extra skeletal actions in the immune system and the muscular system, corroborate its possible effects on quality of life, one must be careful to infer that the treatment of vitamin D deficiency through supplementation could improve the quality of life. Both our study and others, which evaluated this association, are observational, mostly cross-sectional investigations that do not assess cause and consequence effects. It is possible that vitamin D deficiency would not be a cause of poor HRQoL but a marker. Studies evaluating vitamin D supplementation alone found no positive effects of this intervention on the outcomes studied [42,41]. However, some studies that in addition to vitamin D supplementation performed other actions to improve performance or quality of life of the included individuals found positive effects of their interventions [43,44].

The study by the Pure North S'Energy Foundation evaluated the effect of a program of educational actions carried out at institutions and community centers [43]. These actions were aimed at encouraging the ingestion of vitamin D supplements and other health habits such as promoting healthy eating, active life, use of multivitamins, and exposure to the sun [43]. This study followed 2119 Canadians for one year. At the end of the study, the participants showed an improvement in both quality of life and serum levels of vitamin D. Also, improvements in vitamin D status were independently associated with better HRQoL[43]. Another multicenter study evaluating the effects of dietary supplementation and exercise on 91 institutionalized older adults found a parallel increase in physical performance, quality of life, and serum vitamin D levels in these individuals at the end of the program [44].

The association between falls and poorer HRQoL in the individuals studied suggests that this poorer quality of life may be part of the fragility syndrome[45]. Furthermore, the association between falls and worse quality of life has been reported in several studies [45,46], as was the association between falls and vitamin D deficiency [1,3,4]. In our study, both variables were associated with a worse physical component of HRQoL assessed by SF-36.

Our study has some limitations. The cross-sectional nature of the study does not allow us to evaluate whether vitamin D deficiency has any causal relationship with HRQoL or if it is only a marker of it. Moreover, the frequency of vitamin D deficiency was lower than expected, and this small number of patients might not have been able to detect some associations described in the literature, such as the association between vitamin D deficiency and the mental component of the SF-36. Nonetheless, our study also has some strengths; it was carried out in a primary care setting, which facilitates its generalization to this scenario. Further, the original study cohort is representative of the Brazilian population attending primary care, which also facilitates the out study generalization. Besides, this is one of the few studies to evaluate the association between HRQoL and vitamin D deficiency in Latin America.

In conclusion, our results show an association between low HRQoL and vitamin D deficiency in postmenopausal women attending primary care. Studies evaluating whether this association has a

causal relationship or whether vitamin D deficiency is only a marker of poor quality of life need to be conducted. Better evidence on the effects of vitamin D supplementation and improvement of HRQoL needs to be sought. Similarly, studies evaluating the use of the 25(OH)D serum levels as a marker of poor HRQoL or even fragility syndrome need to be performed.

Funding

This study was supported by grants from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, #472211/2013-7 and #307057/2013-5). JEB received support from the Coordenação de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

1. Premaor MO, Furlanetto TW (2006) [Vitamin D deficiency in adults: to better understand a new presentation of an old disease]. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 50 (1):25-37. doi:/S0004-27302006000100005
2. Holick MF (2006) High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin Proc* 81 (3):353-373. doi:10.4065/81.3.353
3. Thacher TD, Clarke BL (2011) Vitamin D insufficiency. *Mayo Clin Proc* 86 (1):50-60. doi:10.4065/mcp.2010.0567
4. Adams JS, Hewison M (2010) Update in vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 95 (2):471-478. doi:10.1210/jc.2009-1773
5. Brunner RL, Cochrane B, Jackson RD, Larson J, Lewis C, Limacher M, Rosal M, Shumaker S, Wallace R, Women's Health Initiative I (2008) Calcium, vitamin D supplementation, and physical function in the Women's Health Initiative. *J Am Diet Assoc* 108 (9):1472-1479. doi:10.1016/j.jada.2008.06.432
6. Anand S, Kayser GA, Chertow GM, Johansen KL, Grimes B, Dalrymple LS, Kurella Tamura M (2011) Vitamin D deficiency, self-reported physical activity and health-related quality of life: the Comprehensive Dialysis Study. *Nephrol Dial Transplant* 26 (11):3683-3688. doi:10.1093/ndt/gfr098
7. Hoffmann MR, Senior PA, Mager DR (2015) Vitamin D supplementation and health-related quality of life: a systematic review of the literature. *J Acad Nutr Diet* 115 (3):406-418. doi:10.1016/j.jand.2014.10.023
8. Oh TR, Kim CS, Bae EH, Ma SK, Han SH, Sung SA, Lee K, Oh KH, Ahn C, Kim SW, Representatives of the K-CKDIG (2017) Association between vitamin D deficiency and health-related quality of life in patients with chronic kidney disease from the KNOW-CKD study. *PLoS One* 12 (4):e0174282. doi:10.1371/journal.pone.0174282
9. Castro FD, Magalhaes J, Carvalho PB, Moreira MJ, Mota P, Cotter J (2015) Lower Levels of Vitamin D Correlate with Clinical Disease Activity and Quality of Life in Inflammatory Bowel Disease. *Arq Gastroenterol* 52 (4):260-265. doi:10.1590/S0004-28032015000400003
10. Hlavaty T, Krajcovicova A, Koller T, Toth J, Nevidanska M, Huorka M, Payer J (2014) Higher vitamin D serum concentration increases health related quality of life in patients with inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol* 20 (42):15787-15796. doi:10.3748/wjg.v20.i42.15787
11. Rafiq R, Swart KM, van Schoor NM, Deeg DJ, Lips P, de Jongh RT (2014) Associations of serum 25-hydroxyvitamin D concentrations with quality of life and self-rated health in an older population. *J Clin Endocrinol Metab* 99 (9):3136-3143. doi:10.1210/jc.2013-4431
12. Raczkiewicz A, Kisiel B, Kulig M, Tlustochowicz W (2015) Vitamin D status and its association with quality of life, physical activity, and disease activity in rheumatoid arthritis patients. *J Clin Rheumatol* 21 (3):126-130. doi:10.1097/RHU.0000000000000233
13. Ohta H, Uemura Y, Nakamura T, Fukunaga M, Ohashi Y, Hosoi T, Mori S, Sugimoto T, Itoi E, Orimo H, Shiraki M, Adequate Treatment of Osteoporosis Research G (2014) Serum 25-hydroxyvitamin D level as an independent determinant of quality of life in osteoporosis with a high risk for fracture. *Clin Ther* 36 (2):225-235. doi:10.1016/j.clinthera.2013.12.007
14. Sampaio-Barros MM, Takayama L, Sampaio-Barros PD, Bonfa E, Pereira RM (2016) Low vitamin D serum levels in diffuse systemic sclerosis: a correlation with worst quality of life and severe capillaroscopic findings. *Rev Bras Reumatol Engl Ed* 56 (4):337-344. doi:10.1016/j.rbre.2016.05.006
15. Martinez-Alonso M, Dusso A, Ariza G, Nabal M (2016) Vitamin D deficiency and its association with fatigue and quality of life in advanced cancer patients under palliative care: A cross-sectional study. *Palliat Med* 30 (1):89-96. doi:10.1177/0269216315601954
16. Kim HJ, Lee JY, Kim TJ, Lee JW (2015) Association between serum vitamin D status and health-related quality of life (HRQOL) in an older Korean population with radiographic knee osteoarthritis: data from the Korean national health and nutrition examination survey (2010-2011). *Health Qual Life Outcomes* 13:48. doi:10.1186/s12955-015-0245-1
17. Basaran S, Guzel R, Coskun-Benlidayi I, Guler-Uysal F (2007) Vitamin D status: effects on quality of life in osteoporosis among Turkish women. *Qual Life Res* 16 (9):1491-1499. doi:10.1007/s11136-007-9257-6
18. Ecemis GC, Atmaca A (2013) Quality of life is impaired not only in vitamin D deficient but also in vitamin D-insufficient pre-menopausal women. *J Endocrinol Invest* 36 (8):622-627. doi:10.3275/8898
19. Delchiaro A, Oliveira FJ, Bonacordi CL, Chedid BL, Annicchino G, Fernandes CE, Strufaldi R, Pompei LM, Steiner ML (2017) Evaluation of Quality of life, Physical Activity and Nutritional Profile of Postmenopausal Women with and without Vitamin D Deficiency. *Rev Bras Ginecol Obstet* 39 (7):337-343. doi:10.1055/s-0037-1603892
20. Kim JS, Choi YE, Baek JK, Cho HJ, Kim YS (2016) The Association between Vitamin D and Health-Related Quality of Life in Korean Adults. *Korean J Fam Med* 37 (4):221-227. doi:10.4082/kjfm.2016.37.4.221
21. Feng X, Guo T, Wang Y, Kang D, Che X, Zhang H, Cao W, Wang P (2016) The vitamin D status and its effects on life quality among the elderly in Jinan, China. *Arch Gerontol Geriatr* 62:26-29. doi:10.1016/j.archger.2015.09.002

22. Chao YS, Ekwaru JP, Ohinmaa A, Griener G, Veugelers PJ (2014) Vitamin D and health-related quality of life in a community sample of older Canadians. *Qual Life Res* 23 (9):2569-2575. doi:10.1007/s11136-014-0696-6
23. Copes RM, Comim FV, Langer FW, Codevilla AA, Sartori GR, de Oliveira C, Cocco AR, de Almeida AM, de Almeida LL, Dal Osto LC, Compston JE, Premaor MO (2015) Obesity and Fractures in Postmenopausal Women: A Primary-care Cross-Sectional Study at Santa Maria, Brazil. *J Clin Densitom* 18 (2):165-171. doi:10.1016/j.jocd.2014.09.005
24. Hooven FH, Adachi JD, Adami S, Boonen S, Compston J, Cooper C, Delmas P, Diez-Perez A, Gehlbach S, Greenspan SL, LaCroix A, Lindsay R, Netelenbos JC, Pfeilschifter J, Roux C, Saag KG, Sambrook P, Silverman S, Siris E, Watts NB, Anderson FA, Jr. (2009) The Global Longitudinal Study of Osteoporosis in Women (GLOW): rationale and study design. *Osteoporos Int* 20 (7):1107-1116. doi:10.1007/s00198-009-0958-2
25. Ware JE, Jr., Gandek B (1998) Overview of the SF-36 Health Survey and the International Quality of Life Assessment (IQOLA) Project. *J Clin Epidemiol* 51 (11):903-912
26. Ware JE, Jr., Gandek B, Kosinski M, Aaronson NK, Apolone G, Brazier J, Bullinger M, Kaasa S, Leplege A, Prieto L, Sullivan M, Thunedborg K (1998) The equivalence of SF-36 summary health scores estimated using standard and country-specific algorithms in 10 countries: results from the IQOLA Project. *International Quality of Life Assessment*. *J Clin Epidemiol* 51 (11):1167-1170
27. Ware JE, Jr., Kosinski M, Gandek B, Aaronson NK, Apolone G, Bech P, Brazier J, Bullinger M, Kaasa S, Leplege A, Prieto L, Sullivan M (1998) The factor structure of the SF-36 Health Survey in 10 countries: results from the IQOLA Project. *International Quality of Life Assessment*. *J Clin Epidemiol* 51 (11):1159-1165
28. WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO STEPS SURVEILLANCE, Part 3: Training and Practical Guides, Section 3: Guide to physical Measurement (2008).
29. INMETRO (2013) <http://www.inmetro.gov.br>.
30. Global Database on Body Mass Index . WHO <http://apps.who.int/bmi/index.jsp?intro> Page = intro_3. html Accessed August 08, 2014. (2004).
31. SIMÕES A (2009) Reprodutibilidade e validade do questionário de atividade física habitual de Baecke modificado em idosos saudáveis. Universidade Nove de Julho,
32. Ueno DT (2013) VALIDAÇÃO DO QUESTIONÁRIO BAECKE MODIFICADO PARA IDOSOS E PROPOSTA DE VALORES NORMATIVOS. UNESP, Rio Claro
33. Rafiq R, Prins HJ, Boersma WG, Daniels JM, den Heijer M, Lips P, de Jongh RT (2017) Effects of daily vitamin D supplementation on respiratory muscle strength and physical performance in vitamin D-deficient COPD patients: a pilot trial. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 12:2583-2592. doi:10.2147/COPD.S132117
34. Baskan B, Oten E, Sivas F, Eser F, Yurdakul FG, Duran S, Bodur H (2016) The relationship between vitamin D, vertebral deformity and quality of life in psoriatic arthritis. *Acta Reumatol Port* 41 (4):350-358
35. Civelek GM, Pekyavas NO, Cetin N, Cosar SN, Karatas M (2014) Association of vitamin D deficiency with muscle strength and quality of life in postmenopausal women. *Climacteric* 17 (4):472-477. doi:10.3109/13697137.2014.898265
36. Gorey S, Canavan M, Robinson S, ST OK, Mulkerrin E (2019) A review of vitamin D insufficiency and its management: a lack of evidence and consensus persists. *QJM* 112 (3):165-167. doi:10.1093/qjmed/hcy126
37. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, Durazo-Arvizu RA, Gallagher JC, Gallo RL, Jones G, Kovacs CS, Mayne ST, Rosen CJ, Shapses SA (2011) The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab* 96 (1):53-58. doi:10.1210/jc.2010-2704
38. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM, Endocrine S (2011) Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 96 (7):1911-1930. doi:10.1210/jc.2011-0385
39. Bouillon R, Carmeliet G (2018) Vitamin D insufficiency: Definition, diagnosis and management. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 32 (5):669-684. doi:10.1016/j.beem.2018.09.014
40. van Schoor N, Lips P (2017) Global Overview of Vitamin D Status. *Endocrinol Metab Clin North Am* 46 (4):845-870. doi:10.1016/j.ecl.2017.07.002
41. Manson JE, Cook NR, Lee IM, Christen W, Bassuk SS, Mora S, Gibson H, Gordon D, Copeland T, D'Agostino D, Friedenberg G, Ridge C, Bubes V, Giovannucci EL, Willett WC, Buring JE, Group VR (2019) Vitamin D Supplements and Prevention of Cancer and Cardiovascular Disease. *N Engl J Med* 380 (1):33-44. doi:10.1056/NEJMoa1809944
42. Zhao JG, Zeng XT, Wang J, Liu L (2017) Association Between Calcium or Vitamin D Supplementation and Fracture Incidence in Community-Dwelling Older Adults: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA* 318 (24):2466-2482. doi:10.1001/jama.2017.19344
43. Ekwaru JP, Ohinmaa A, Veugelers PJ (2016) The effectiveness of a preventive health program and vitamin D status in improving health-related quality of life of older Canadians. *Qual Life Res* 25 (3):661-668. doi:10.1007/s11136-015-1103-7

44. Abizanda P, Lopez MD, Garcia VP, Estrella Jde D, da Silva Gonzalez A, Vilardell NB, Torres KA (2015) Effects of an Oral Nutritional Supplementation Plus Physical Exercise Intervention on the Physical Function, Nutritional Status, and Quality of Life in Frail Institutionalized Older Adults: The ACTIVNES Study. *J Am Med Dir Assoc* 16 (5):e439-e439 e416. doi:10.1016/j.jamda.2015.02.005
45. Boye ND, Mattace-Raso FU, Van Lieshout EM, Hartholt KA, Van Beeck EF, Van der Cammen TJ (2015) Physical performance and quality of life in single and recurrent fallers: data from the Improving Medication Prescribing to Reduce Risk of Falls study. *Geriatr Gerontol Int* 15 (3):350-355. doi:10.1111/ggi.12287
46. Puts MT, Toubasi S, Atkinson E, Ayala AP, Andrew M, Ashe MC, Bergman H, Ploeg J, McGilton KS (2016) Interventions to prevent or reduce the level of frailty in community-dwelling older adults: a protocol for a scoping review of the literature and international policies. *BMJ Open* 6 (3):e010959. doi:10.1136/bmjopen-2015-010959

Table 1. Characteristics of the studied women

	Without Vitamin D deficiency n=69	With Vitamin D deficiency n=9	p-value
<i>Demographic parameters</i>			
Age	69.0 (7.6)	73.7(8.5)	0.474*
BMI ^a	29.5(5.8)	27.1 (5.5)	0.237*
Education > 8 years	33.8%	4.5%	0.258**
Health insurance	55.9%	55.6%	1.0**
<i>Clinical Parameters</i>			
Smoking	10.6%	11.1%	1.0**
Alcohol abuse	0	0	NA
Baecke – physical activity ^b	2.4 (0.5)	2.18 (0.6)	0.131*
Comorbidity ^c	66.7%	85.7%	0.421**
Hospital admission in the last year	15.9%	44.4%	0.063**
Vitamin D supplement use	16.2%	33.3%	0.352*
Calcium Supplement use	25.0%	11.7%	0.018**
Falls in the last year	33.3%	44.4%	0.711**
Major fracture			
FRAX score - major fracture risk	6.5(4.7)	12.0(9.6)	0.187***
FRAX score - hip fracture risk	2.3(2.8)	6.8(8.3)	0.403***
<i>Biochemical parameters</i>			
Calcium (mg/dL)	8.1 (1.4)	7.4(1.1)	0.196*
Phosphorus (mg/dL)	3.6(1.1)	2.9(1.0)	0.080*
Albumin (g/dL)	4.5 (0.8)	4.5(0.9)	0.823*
Creatinine (mg/dL)	0.7(0.2)	0.8(0.1)	0.447*
PTH (pg/mL)	21.1 (21.5)	21.8(18.2)	0.557***
P1NP (ug/L)	256.6 (383.8)	196.1(308.4)	0.386***
CTX (ng/mL)	41.7(87.0)	13.4 (17.2)	0.260***

^a Body mass index^b Baecke score of physical activity in exercise and leisure^c At least one of the following: asthma, COPD, osteoarthritis, rheumatoid arthritis, heart failure, systemic arterial hypertension, ischemic heart disease, Parkinson's disease, cancer, or diabetes

* Calculated by Student's t-test

** Calculated by Fisher's exact test

*** Calculated by the Mann-Whitney U test

Table 2. Health-Related Quality of life of the studied women

	Without Vitamin D deficiency n=69	With Vitamin D deficiency n=9	p-value
<i>Physical Health</i>			
Physical Functioning	46.05 (8.9)	37.55(13.7)	0.014*
Role-Physical	48.03 (11.5)	39.83(14.5)	0.084*
Bodily Pain	43.34 (11.1)	35.79(8.3)	0.067*
General Health	52.59 (10.2)	46.76(13.3)	0.145*
<i>Mental Health</i>			
Vitality	54.05 (11.4)	49.63(12.8)	0.308*
Social Functioning	51.72 (10.0)	44.81(12.0)	0.074*
Role-emotional	50.65 (10.3)	41.74(14.4)	0.040*
Mental Health	46.48 (11.3)	44.41(15.1)	0.639*

* Calculated by Student's t-test

Table 3. Univariate analysis of factors associated with the physical component summary of health-related quality of life in the studied women

	B	Standard error	Beta	p-value
Age	-0.230	0.136	-0.180	0.094
BMI ^a	-0.400	0.165	-0.274	0.100
Education > 8 years	4.646	1.738	0.280	0.009
Health insurance	1.529	2.019	0.082	0.451
Smoking	0.515	1.610	0.034	0.750
Alcohol abuse	-0.510	2.488	-0.022	0.838
Baecke – physical activity ^b	4.966	2.071	0.250	0.019
Comorbidity ^c	-5.029	2.137	-0.251	0.021
Hospital admission in the last year	-1.35	1.74	-0.08	0.439
Vitamin D supplement use	0.327	1.274	0.028	0.798
Calcium Supplement use	1.375	1.179	0.125	0.247
Falls in the last year	-6.683	1.931	-0.350	0.001
Major fracture	-4.200	1.918	-0.232	0.030
Calcium	0.962	0.757	0.136	0.207
Phosphorus	0.991	0.961	0.110	0.305
Albumin	1.214	1.158	0.112	0.297
Creatinine	4.520	4.656	0.104	0.334
PTH	-0.011	0.136	-0.027	0.823
Vitamin D deficiency	-8.053	3.462	-0.268	0.023

^a Body mass index

^b Baecke score of physical activity in exercise and leisure

^c At least one of the following: asthma, COPD, osteoarthritis, rheumatoid arthritis, heart failure, systemic arterial hypertension, ischemic heart disease, Parkinson's disease, cancer, or diabetes

Calculated by univariate linear regression.

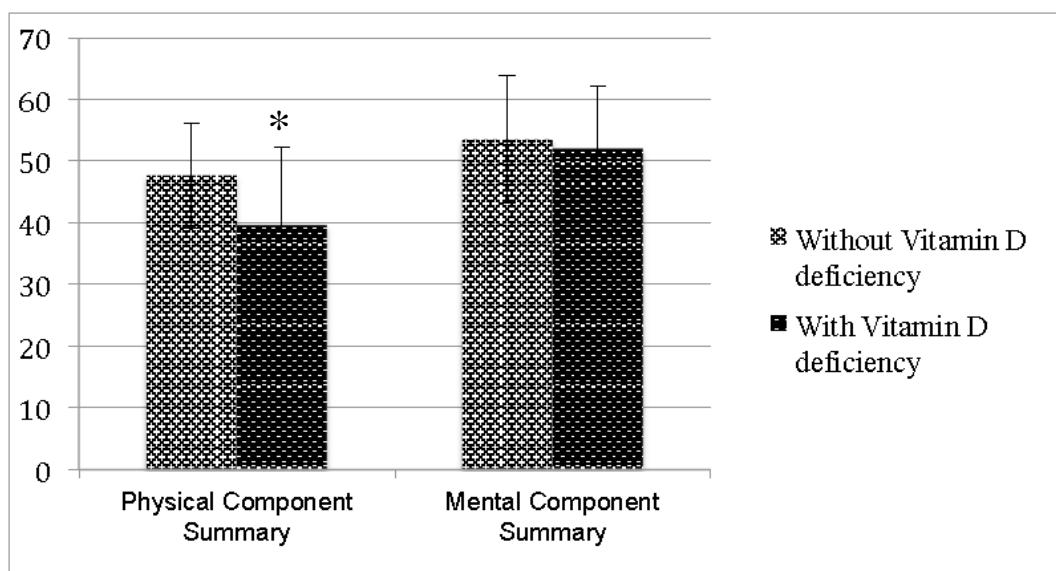
Table 4. Multivariate analysis of the factors associated with the physical component summary of health-related quality of life in the studied women

	B	Standard Error	Beta	p-value
Vitamin d deficiency	-11.707	3.291	-0.385	0.001
BMI	-0.345	0.173	-0.212	0.051
Major fracture	-3.694	1.947	-0.205	0.063
Falls in the last year	-6.534	2.022	-0.342	0.002

Calculated by linear regression, backward. Dependent variable: summary of the physical component of quality of life. The following variables were included in the model: vitamin D deficiency, major fracture, serum phosphorus levels, use of calcium supplementation, hospitalization, body mass index (BMI), age, presence of comorbidity, schooling > 8 years, Baecke score of physical activity, and falls in the last year. The following variables remained in the model: vitamin D deficiency, BMI, major fracture, and falls in the previous year.

Figure Caption: Figure 1. Summary of the physical and mental components of quality of life in the studied women

Figure Legend: *The p-value, calculated by the Student's t-test, for the Physical Component Summary was <0.05.



SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table 5. Univariate analysis of factors associated with the mental component of health-related quality of life in the studied women

	B	Standard Error	Beta	p-value
Age	0.176	0.155	0.123	0.254
BMI ^a	-0.162	0.193	-0.091	0.403
Education > 8 years	0.279	2.038	0.015	0.892
Health insurance	3.836	2.247	0.182	0.091
Smoking	-1.461	1.805	-0.087	0.420
Alcohol abuse	-0.857	2.799	-0.033	0.760
Baecke – physical activity ^b	1.619	2.071	0.073	0.502
Comorbidity ^c	-3.083	2.453	-0.137	0.212
Hospital admission in the last year	-2.888	1.939	-0.159	0.140
Vitamin D supplement use	-2.397	1.382	0.185	0.086
Calcium Supplement use	0.238	1.310	0.020	0.856
Falls in the last year	-5.595	2.239	-0.260	0.014
Major fracture	-0.390	2.217	-0.019	0.861
Calcium	0.614	0.857	0.077	0.476
Phosphorus	-0.639	1.085	-0.063	0.558
Albumin	-1.448	1.302	-0.119	0.269
Creatinine	6.855	5.214	0.140	0.192
PTH	-0.020	0.057	-0.042	0.725
Vitamin D deficiency	1.521	4.125	0.044	0.713

^a Body mass index

^b Baecke score of physical activity in exercise and leisure

^c At least one of the following: asthma, COPD, osteoarthritis, rheumatoid arthritis, heart failure, systemic arterial hypertension, ischemic heart disease, Parkinson's disease, cancer, or diabetes

Calculated by univariate linear regression.

In the multiple linear regression analysis, mode backward, we included vitamin D use, health plan, and falls in the last year. Remained in the model only the variable falls in the last year.

5 DISCUSSÃO

No primeiro artigo, foi realizada uma revisão sistemática (13 estudos) e metanálise (10 estudos) de investigações que avaliaram o consumo regular de frutas e hortaliças, em porções por dia ou em gramas por dia. A metanálise, baseada em dados dos estudos de coorte, mostrou que o aumento da ingestão de, pelo menos, uma porção de frutas e hortaliças por dia está associada a um menor risco de fraturas.

Em revisão sistemática anterior sobre o consumo de frutas e hortaliças e saúde óssea em mulheres com idade igual ou superior a 45 anos não foram observados resultados conclusivos em relação à ingestão desse grupo alimentar e à prevenção de fraturas osteoporóticas (HAMIDI et al., 2011). O fato de incluírem diferentes desenhos de estudos (transversal, caso-controle, coorte e ECR) pode ter contribuído para a heterogeneidade de seus achados. Por outro lado, o Projeto CHANCES, que resumiu vários estudos de coorte da Europa e dos Estados Unidos usando metanálise, observou que homens e mulheres com um consumo ≤ 1 porção por dia de frutas e hortaliças tiveram um risco 39% maior de fratura de quadril ($HR = 1,39$; IC 95%: 1,20 a 1,58) em comparação àqueles com uma ingestão entre > 3 porções e ≤ 5 porções por dia desse grupo alimentar (BENETOU et al., 2016). Além disso, recente meta-análise observacional de Luo et al. (2016), encontrou uma razão de risco de 0,83 (IC 95% 0,70 a 0,98) para fratura de quadril com a ingestão de frutas e hortaliças. Podemos considerar que, a maior inconsistência (I-quadrado 84,7%) de seus achados em comparação com o nosso estudo, foi provavelmente devido ao tipo de estudos incluídos (coorte e, especialmente, caso-controle). Desde a publicação dos estudos acima mencionados, outros dois estudos de coorte de alta qualidade foram publicados (FUNG, FESKANICH, 2015; de JONGE et al., 2017). Nossa estudo incluiu apenas estudos de coorte adicionando um nível de evidência GRADE três para o efeito benéfico da ingestão regular de frutas e hortaliças, diminuindo o risco de fraturas de quadril em pessoas com mais de 50 anos.

A relação entre um padrão alimentar saudável (rico em nutrientes, frutas) comparado a alterações na DMO, assim como um padrão alimentar pobre em nutrientes e alterações na DMO, foi descrita por vários estudos observacionais (TUCKER et al., 2002; MACDONALD et al., 2004; MCNAUGHTON et al., 2011; SHIN, SUNG, JOUNG, 2015; LIU et al., 2015). Em nossa revisão sistemática, tanto o *Framingham Osteoporosis Study* (TUCKER et al., 2002) com idosos, quanto o *The Rotterdam Study* (de JONGE et al., 2018) com adultos e idosos, descreveram uma associação positiva entre um padrão alimentar rico em nutrientes (com ingestão regular de frutas e hortaliças) e benefícios na DMO. Além disso, em nossa metanálise,

o risco de fratura de quadril foi menor nos participantes que tinham um padrão alimentar rico em frutas e hortaliças. Embora esses estudos envolvam diferentes populações e diferentes hábitos alimentares, nossos resultados sugerem que um padrão alimentar rico em nutrientes pode apresentar benefícios para a saúde óssea, tanto na idade adulta, quanto em idades mais avançadas. Ainda, um consumo regular de frutas e hortaliças tem sido associado a um padrão alimentar mais saudável, ou seja, com um menor consumo de açúcares, refrigerantes, gorduras, etc., o que também pode contribuir para sua relação benéfica na saúde óssea.

Neste estudo, não incluímos pesquisas que avaliassem o padrão alimentar mediterrâneo, vegetariano, vegano, sem lactose ou outros padrões alimentares específicos. Esses estudos foram excluídos por envolverem dietas que não se baseiam apenas em frutas e hortaliças, mas também em leguminosas (soja, ervilhas, feijões, grão de bico, lentilhas), sementes oleaginosas (castanhas, nozes, amêndoas, macadâmia entre outras), carnes magras e outros alimentos. Além disso, algumas dessas dietas são muito restritivas, excluindo produtos lácteos, carnes e outros alimentos. Portanto, eles não podem ser usados para comparar outras pessoas que não têm hábitos alimentares saudáveis sem gerar um viés de confusão.

Ademais, conduzir um ECR para avaliar os efeitos do consumo de frutas e hortaliças e resultados na saúde continua sendo um desafio. A obtenção de recursos, o recrutamento suficiente de participantes, e a manutenção da adesão dos participantes são outros desafios encontrados pelos pesquisadores. É quase impossível cegar os participantes de um estudo para a intervenção com a ingestão de frutas e hortaliças, assim como mensurar a adesão ao ECR, baseada em alimentos. Outra questão que dificulta esse tipo de pesquisa é quando o autorrelato esteja envolvido, mesmo que os alimentos (frutas e hortaliças) sejam fornecidos ou biomarcadores utilizados. Além disso, podemos considerar que o tempo da intervenção necessário para determinar seu impacto na saúde óssea é desconhecido e, portanto, o tempo da intervenção permanece incerto. Portanto, os dados referentes a esse tópico são limitados. Encontramos apenas um estudo avaliando fraturas em nossa revisão sistemática. McTiernan et al. realizaram um ECR em 2009. Eles observaram um HR de 1,12 (IC 95%: 0,94-1,34) para fraturas de quadril em participantes que consumiram pelo menos 5 porções de frutas e hortaliças por dia. Seus resultados estão em desacordo com nossa metanálise observacional. O efeito de não-cegamento, ou mesmo o efeito *Hawthorne*, pode ter contribuído para as diferenças nos resultados obtidos neste ensaio clínico e na nossa metanálise.

Outra questão descrita em nosso estudo refere-se ao marcador de reabsorção óssea CTx. A falta de associação entre o marcador de reabsorção óssea CTx e a ingestão de frutas e hortaliças deve ser interpretada com cautela. Embora sejam vantajosos para compreender o

mecanismo das doenças ósseas, os marcadores ósseos são resultados substitutos (NAYLOR, EASTELL, 2012). O uso de marcadores ósseos como preditores de fraturas permanece controverso (NAYLOR, EASTELL, 2012; SZULC, 2012; CABRAL et al., 2016). Em nossa metanálise, o nível de evidência para esse desfecho foi baixo. Os estudos incluídos na metanálise tiveram amostras pequenas e os sujeitos foram seguidos por um período de tempo limitado, o que pode ter contribuído para nossos achados. Além disso, o grau de evidência para esse desfecho foi baixo.

Existem vários mecanismos pelos quais o consumo regular de frutas e hortaliças podem estar relacionados benicamente com o metabolismo ósseo. A hipótese mais clássica é que a ingestão regular desse grupo alimentar poderia alterar levemente o balanço ácido-básico em favor alcalino (WEAVER et al., 2019). Essa alcalinização leve poderia reduzir a reabsorção de cálcio por meio dos túbulos renais, o que refletiria em uma diminuição da perda óssea (WEAVER et al., 2019). Mais recentemente, o papel das frutas e hortaliças no estresse oxidativo foi discutido (HARASYM, OLEDZKI, 2014). O consumo desse grupo alimentar tem sido associado a uma maior capacidade de oxidação-redução (REDOX), o que pode influenciar no aumento da capacidade de remodelação óssea (DOMÍNGUEZ-AVILA et al., 2011), assim como de formação óssea (DOMAZETOVIC et al., 2017), melhorando, dessa forma, a reparação óssea e a redução da perda óssea (DOMAZETOVIC et al., 2017). Finalmente, alguns estudos descreveram uma associação inversa entre a ingestão de frutas e hortaliças e condições inflamatórias crônicas (HOLT et al., 2009; ZHU, DU, XU, 2018). Esses estados inflamatórios crônicos estão associados a um risco aumentado de osteoporose e fraturas (AL-DAGHRI et al., 2017; BRIOT et al., 2017).

Nosso estudo apresentou algumas limitações. A heterogeneidade da nossa metanálise observacional foi moderada. Embora tenhamos realizado uma análise de sensibilidade, não conseguimos identificar um único estudo responsável por essa inconsistência. Segundo Shim, Oh e Kim (2014), metanálises de estudos observacionais geralmente apresentam heterogeneidade devido às diferentes populações incluídas, o uso de vários instrumentos para avaliar o fator em estudo (SHIM, OH, KIM, 2014), os resultados (ILHA et al., 2018), e diferenças na incidência de fraturas entre os países (REQUENA et al., 2014). Além disso, não podemos excluir um viés de publicação. Estudos pequenos, com resultados negativos não foram encontrados. No entanto, a qualidade geral dos estudos de coorte incluídos na análise conjunta foi boa, e o nível de evidência foi moderado (GRADE ($\oplus\oplus\oplus\ominus$)).

Ainda, podemos considerar que os instrumentos de avaliação nutricional possuem erros de mensuração inerentes ao próprio método. Em nossa revisão sistemática completa, apenas um

estudo de coorte utilizou o QFA e o R24h para avaliar a ingestão de frutas e hortaliças. Ambos os instrumentos são utilizados para avaliar a ingestão de alimentos a curto prazo, e ambos são propensos ao viés de memória (SHIM, OH, KIM, 2014). Apesar dessas questões, os participantes do estudo não sabiam qual resultado era avaliado; assim, o risco de sub ou superestimação foi igual em ambos os grupos (estudo e o controle), não gerando viés sistemático. Além disso, todos os QFAs utilizados em nossa metanálise foram devidamente validados.

Nossos resultados mostram que uma dieta rica em frutas e hortaliças está associada a um menor risco de fraturas de quadril. Além disso, todos os estudos observacionais incluídos na análise foram ajustados para fatores de confusão, tais como índice de massa corporal, idade, sexo, ingestão total de nutrientes, cálcio e vitamina D, nível de escolaridade e diabetes. Esses ajustes sugerem que o efeito da ingestão de frutas e hortaliças pode ser independente de outros hábitos saudáveis e/ou condições de saúde e de vida.

Em um segundo momento, este trabalho avaliou a QVRS por meio do SF-36 em mulheres com deficiência de vitamina D. Neste estudo, observamos uma pior qualidade de vida pelo SF-36 nas mulheres com deficiência de vitamina D quando comparadas às sem deficiência. Além disso, a deficiência de vitamina D e quedas no último ano tiveram um impacto negativo no domínio físico da qualidade de vida, ou seja, ambos os fatores foram independentemente associados à diminuição da qualidade de vida nessas mulheres.

A associação entre deficiência de vitamina D e pior QVRS tem sido descrita em alguns estudos que avaliaram doenças específicas, como insuficiência renal crônica (ANAND et al., 2011; OH et al., 2017), doença inflamatória intestinal (HLAVATY et al., 2014; CASTRO et al., 2015), doença pulmonar obstrutiva crônica (RAFIQ et al., 2017), artrite reumatóide (RACZKIEWICZ et al., 2015), artrite psoriática (BASKAN et al., 2016), esclerose sistêmica (SAMPAIO-BARROS et al., 2016), câncer (MARTINEZ-ALONSO et al., 2016), e osteoartrite do joelho (KIM et al., 2015). No entanto, existem poucos estudos avaliando a associação entre a deficiência de vitamina D e HRQoL em pacientes com osteoporose (BASARAN et al., 2007; OHTA et al., 2014; DELCHIARO et al., 2017), ou deficiência de vitamina D e HRQoL em populações saudáveis (RAFIQ et al., 2014; CHAO et al., 2014; KIM et al., 2016). A maioria dos estudos que avaliaram essa associação foi realizada em pacientes de atendimento terciário. Nossa pesquisa é um dos poucos estudos que relatam a associação de baixa QVRS em mulheres com deficiência de vitamina D na atenção primária.

Bassaran et al. (2007) foram um dos primeiros grupos a relatar a associação entre deficiência de vitamina D e QVRS em mulheres com osteoporose atendidas em um ambulatório

especializado. Eles aplicaram o Questionário de Qualidade de Vida da Fundação Europeia para a Osteoporose (QUALEFFO) e encontraram uma correlação positiva entre os níveis séricos de 25(OH)D e os escores do QUALEFO. Neste estudo, todas as subescalas de QUALEFO foram associadas à deficiência de vitamina D, definida como níveis séricos de 25(OH)D abaixo de 12,5 ng/mL. Outros estudos encontraram resultados semelhantes (OHTA et al., 2014). Ecemis e Atmaca (2013) avaliaram 86 mulheres na pré-menopausa atendidas no Ambulatório de Endocrinologia e Metabolismo e encontraram uma associação positiva entre a deficiência de vitamina D e os componentes físico e mental do SF-36.

Por outro lado, alguns estudos, também realizados na atenção terciária, não encontraram associação entre a QVRS e a deficiência de vitamina D. Civelek et al. (2014) estudaram 49 mulheres na pós-menopausa atendidas na Clínica de Medicina Física e Reabilitação e não encontraram associação entre a deficiência de vitamina D e os domínios físico e mental do SF-36. Delchiaro et al. (2017) avaliaram 71 mulheres na clínica de ginecologia de um hospital universitário e também não encontraram associação entre deficiência de vitamina D e baixa QVRS. No entanto, este estudo excluiu todas as mulheres que não puderam realizar atividades físicas, o que o diferencia dos estudos acima e de nossa pesquisa.

Poucos estudos avaliaram a associação entre deficiência de vitamina D e QVRS na população geral. O estudo de *Longitudinal Aging Study Amsterdam* examinou a associação entre a QVRS medida pelo Short Form-12 Health Survey (SF-12) e a deficiência de vitamina D (definida como valores abaixo de 20 ng/mL) e encontrou resultados muito semelhantes à nossa pesquisa. No estudo *Longitudinal Aging Study Amsterdam*, os indivíduos com deficiência de vitamina D apresentaram piores escores no componente físico da QVRS (RAFIQ et al., 2014). Feng et al. (2016) estudaram 686 indivíduos que foram recrutados dentro de um estudo baseado na comunidade para a prevenção da osteoporose. Os escores tanto do componente físico quanto do componente mental do SF-36 foram positivamente associados aos níveis séricos de 25(OH)D na análise de regressão linear. Chao et al. (2014) examinaram a associação entre os níveis séricos de 25(OH)D e a QVRS medida pelo questionário de dimensão Euro-Qol-5 (EQ-5D) nos participantes voluntários do estudo *Pure North S'Energy Foundation* em Alberta, Canadá. Esta avaliação inicial e transversal foi realizada em 1493 indivíduos com mais de 50 anos de idade. Eles também encontraram resultados semelhantes aos nossos. Neste estudo, a vitamina D foi positivamente associada aos escores totais do EQ-D5 e aos domínios: mobilidade, autocuidado, depressão e ansiedade. Essa associação foi mantida mesmo após correção para idade e sexo.

Em contraste com o nosso estudo, o *Korean National Health and Nutrition Examination Survey* (KNHANES V), realizado na Coréia entre 2007 a 2012, não encontrou diferenças nos domínios mobilidade, auto-cuidado, atividades habituais e dor/desconforto do EQ-5D em adultos (idade entre 20 e 49 anos) com e sem deficiência de vitamina D. Por outro lado, os indivíduos que tinham deficiência de vitamina D tiveram um pior escore nos domínios de depressão e ansiedade do EQ-5D. Nesta pesquisa, o ponto de corte para deficiência de vitamina D foi maior que o nosso (30ng/mL) (KIM et al., 2016).

Discussão sobre quais valores dos níveis séricos de 25(OH)D devem ser usados como uma definição de deficiência de vitamina D é amplo na literatura (GOREY et al., 2019). De 2011 até o momento atual, há duas recomendações preponderantes sobre o ponto de corte de 25(OH)D (ROSS et al., 2011; HOLICK et al., 2011). O *Institute of Medicine* padronizou valores acima de 20ng/mL (50nMol/L) como suficiência de vitamina D, enquanto a *Endocrine Society* considera valores de suficiência de vitamina D acima de 30ng/mL (75nMol/L). A recomendação do IOM foi baseada na relação entre os níveis séricos de vitamina D e certos desfechos ósseos e musculares metabólicos como: quedas, fraturas e redução da massa óssea, que têm uma associação mais clara com os níveis séricos de 25(OH)D na literatura (ROSS et al., 2011). Por outro lado, a recomendação da *Endocrine Society* é baseada em possíveis resultados extra-esqueléticos que podem estar associados a um nível de corte mais alto dos níveis séricos de 25(OH)D (HOLICK et al., 2011). No entanto, estudos mais atuais sugerem que o ponto de corte de 25(OH)D consistentemente associado a desfechos extra-esqueléticos, como incidência de câncer e aumento da mortalidade, são aqueles recomendados pelo IOM (BOUILLOU, CARMELIET, 2018). Em nosso estudo, os níveis séricos de 25(OH)D abaixo de 20ng/mL (50nMol/L) foram independentemente associados a um pior componente físico da qualidade de vida.

Diferentes estudos, em cenários distintos de pesquisa, encontraram diferentes prevalências de deficiência de vitamina D (van-SCHOOR, LIPS, 2017). Nossa pesquisa, realizada na atenção primária de um país tropical, observou uma frequência de 11,54% de deficiência de vitamina D. Esta descoberta está de acordo com os dados do recente estudo multicêntrico, *VITamin D and Omega-3 Trial-VITAL*, um ensaio clínico com 26.871 indivíduos que avaliaram os efeitos da suplementação de vitamina D na prevenção de câncer. Observou que apenas 12,7% dos participantes apresentavam deficiência de vitamina D (25(OH)D <20ng/ml) (MANSON et al., 2019).

Embora os mecanismos de ação da vitamina D, principalmente suas ações extra esqueléticas no sistema imunológico e no sistema muscular, corroborem seus possíveis efeitos

na qualidade de vida, deve-se ter cuidado ao inferir que o tratamento da deficiência de vitamina D por meio da suplementação poderia melhorar a qualidade de vida. Tanto nosso estudo como outros, que avaliaram essa associação, são investigações observacionais, na maioria das vezes transversais, que não avaliam os efeitos de causa e conseqüência. É possível que a deficiência de vitamina D não seja uma causa de baixa QVRS, mas um marcador. Estudos avaliando a suplementação de vitamina D isoladamente não encontraram efeitos positivos dessa intervenção nos desfechos estudados (ZHAO et al., 2017; MANSON et al., 2019). No entanto, alguns estudos que, além da suplementação de vitamina D, realizaram outras ações para melhorar o desempenho ou a qualidade de vida dos indivíduos incluídos, encontraram efeitos positivos de suas intervenções (ABIZANDA et al., 2015; EKWARU, OHINMAA, VEUGELERS, 2016).

O estudo *Pure North S'Energy Foundation* avaliou o efeito de um programa de ações educativas realizado em instituições e centros comunitários. Essas ações foram destinadas a incentivar a ingestão de suplementos de vitamina D e outros hábitos de saúde, como a promoção da alimentação saudável, vida ativa, uso de polivitamínicos e exposição ao sol. Este estudo acompanhou 2119 canadenses por um ano. No final do estudo, os participantes mostraram uma melhora tanto na qualidade de vida quanto nos níveis séricos de vitamina D. Além disso, melhorias no status da vitamina D foram independentemente associadas com melhor QVRS (EKWARU, OHINMAA, VEUGELERS, 2016). Outro estudo multicêntrico que avaliou os efeitos da suplementação dietética e do exercício em 91 idosos institucionalizados encontrou um aumento paralelo no desempenho físico, na qualidade de vida e nos níveis séricos de vitamina D nesses indivíduos no final do programa (ABIZANDA et al., 2015).

A associação entre quedas e pior QVRS nos indivíduos estudados sugere que essa pior qualidade de vida pode fazer parte da síndrome da fragilidade (BOYE et al., 2015). Além disso, a associação entre quedas e pior qualidade de vida tem sido relatada em vários estudos (BOYE et al., 2015; PUTS et al., 2016), assim como a associação entre quedas e deficiência de vitamina D (PREMAOR, FURLANETTO, 2006; ADAMS, HEWISON, 2010; THACHER, CLARKE, 2011). Em nosso estudo, ambas as variáveis foram associadas a um pior componente físico da QVRS avaliado pelo SF-36.

Nosso estudo apresentou algumas limitações. O delineamento transversal do estudo não nos permite avaliar se a deficiência de vitamina D tem alguma relação causal com a QVRS ou se é apenas um marcador desta. Além disso, a frequência de deficiência de vitamina D foi menor que a esperada, e esse pequeno número de pacientes pode não ter sido capaz de detectar algumas associações descritas na literatura, como a associação entre a deficiência de vitamina D e o

componente mental do SF-36. No entanto, nosso estudo também tem alguns pontos fortes: foi realizado na atenção primária, o que facilita sua generalização para este cenário. Além disso, a coorte original do estudo é representativa da população brasileira que atende a atenção primária, o que também facilita a generalização do estudo. Ainda, este é um dos poucos estudos que avaliou a associação entre a HRQoL e a deficiência de vitamina D na América Latina.

6 CONCLUSÃO

Os resultados observados no Artigo 1, mostraram que um padrão alimentar rico em frutas e hortaliças está associado à redução do risco de fraturas ósseas. No entanto, grandes estudos de coorte multicêntricos, com um número significativo de participantes, de diferentes populações, e que possam avaliar a ingestão de frutas e hortaliças com diferentes inquéritos alimentares (R24h e de 7 dias) são necessários para confirmar esses achados.

Nossos achados, juntamente com evidências anteriores de que o consumo de frutas e hortaliças pode ser benéfico na redução de outras patologias, tais como: doenças cardiovasculares (HU et al., 2014; AUNE et al., 2017), e certos tipos de câncer (AUNE et al., 2017), além de evidências entre a associação do consumo regular desse grupo alimentar e a diminuição da mortalidade (HU et al., 2014; WANG et al., 2014; AUNE et al., 2017), e, recentemente, do risco de demência (WHO, 2019), sugerem que a ingestão regular de frutas e hortaliças deva ser incentivada. Isso reforça que, as recomendações da OMS sobre o consumo de frutas e hortaliças (WHO, 2003; 2019), devam ser promovidas globalmente.

Os resultados observados no Artigo 2, mostraram uma associação entre baixa QVRS e deficiência de vitamina D em mulheres na pós-menopausa que frequentam a atenção primária. Estudos avaliando se esta associação tem uma relação causal, ou, se a deficiência de vitamina D é apenas um marcador de má qualidade de vida, precisam ser realizados. Ainda, melhores evidências sobre os efeitos da suplementação de vitamina D e benefícios na QVRS precisam ser conduzidos. Da mesma forma, estudos avaliando o uso dos níveis séricos de 25(OH)D como marcador de baixa QVRS, ou mesmo, síndrome de fragilidade, precisam ser realizados.

Vale salientar que nosso estudo é um dos poucos a avaliar a associação entre a HRQoL e a deficiência de vitamina D na América Latina. Além disso, foi realizado na atenção primária, o que facilita sua generalização para este cenário; e a coorte original do estudo é representativa da população brasileira que atende a atenção primária, o que também facilita a generalização do estudo.

REFERÊNCIAS

- ABIZANDA P, LOPEZ MD, GARCIA VP, ESTRELLA JDE D, DA SILVA GONZALEZ A, VILARDELL NB, TORRES KA. **Effects of an Oral Nutritional Supplementation Plus Physical Exercise Intervention on the Physical Function, Nutritional Status, and Quality of Life in Frail Institutionalized Older Adults: The ACTIVNES Study.** J Am Med Dir Assoc. May., v.16, n.5, p.439.e9-439.e16. 2015.
- ADAMS JS, HEWISONM. **Update in Vitamin D.** J Clin Endocrinol Metab. Feb., v.95, n.2, p.471-8. 2010.
- ALMEIDA MAB, GUTIERREZ GL, MARQUES R. **Qualidade de vida: definição, conceitos e interfaces com outras áreas de pesquisa.** São Paulo: [s.n.], 2012. 142p.
- AL-DAGHRI NM, AZIZ I, YAKOUT S, ALJOHANI NJ, AL-SALEH Y, AMER OE, et al. **Inflammation as a contributing factor among postmenopausal Saudi women with osteoporosis.** Medicine (Baltimore). , v.96, n.4, p.e5780. 2017.
- AMB/ANSS. Associação Médica Brasileira e Agência Nacional de Saúde Suplementar. Diretrizes Clínicas na Saúde Suplementar. Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia Sociedade Brasileira de Reumatologia. **Osteoporose: Tratamento.** 2011. 19p. Disponível em: <https://diretrizes.amb.org.br/ans/osteoporose-tratamento.pdf>. Acesso em: 16 de janeiro de 2019.
- ANDERSON, J.J.B. Nutrição e Saúde Óssea. In: MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia.** 12. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. Cap.24, p.614-35.
- ANAND S, KAYSEN GA, CHERTOW GM, JOHANSEN KL, GRIMES B, DALRYMPLE LS, KURELLA TAMURA M. **Vitamin D deficiency, self-reported physical activity and health-related quality of life: the Comprehensive Dialysis Study.** Nephrol Dial Transplant. Nov., v. 26, n.11, p.3683-8. 2011.
- AUNE D, GIOVANNUCCI E, BOFFETTA P, FADNES LT, KEUM N, NORAT T, GREENWOOD DC, RIBOLI E, VATTEN LJ, TONSTAD S. **Fruit and vegetable intake and the risk of cardiovascular disease, total cancer and all-cause mortality-a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies.** Int J Epidemiol. Jun., v.46, n.3, p.1029-1056. 2017.
- AZIZIYEH R, AMIN M, HABIB M, PERLAZA JG, SZAFRANSKI K, McTAVISH RK, DISHER T, LÜDKE A, CAMERON C. **The burden of osteoporosis in four Latin American countries: Brazil, Mexico, Colombia, and Argentina.** J Med Econ. Mar., v.5, p.1-7. 2019.
- BASARAN S, GUZEL R, COSKUN-BENLIDAYI I, GULER-UYDAL F. **Vitamin d status: effects on quality of life in osteoporosis among Turkish women.** Qual Life Res. Nov., v.16, n.9, p.1491-9. 2007.

BASKAN B, OTEN E, SIVAS F, ESER F, YURDAKUL FG, DURAN S, BODUR H. **The relationship between vitamin D, vertebral deformity and quality of life in psoriatic arthritis.** Acta Reumatol Port. Oct-Dec., v.41, n.4, p.350-358. 2016.

BALK EM, ADAM GP, LANGBERG VN, EARLEY A, CLARK P, EBELING PR, MITHAL A, RIZZOLI R, ZERBINI CAF, PIERROZ DD, DAWSON-HUGHES B; INTERNATIONAL OSTEOPOROSIS FOUNDATION CALCIUM STEERING COMMITTEE. **Gobal dietary calcium intake among adults: a systematic review.** Osteoporos Int. Dec., v.28, n.12, p.3315-3324. 2017.

BENETOU V, ORFANOS P, FESKANICH D, MICHAËLSSON K, PETTERSSON-KYMMER U, ERIKSSON S, GRODSTEIN F, WOLK A, BELLAVIA A, AHMED LA, BOFFETA P, TRICHOPOULOU A. **Fruit and Vegetable Intake and Hip Fracture Incidence in Older Men and Women: The CHANCES Project.** J Bone Miner Res. Sep., v.31, n.9, p.1743-52. 2016.

BLEKKENHORST LC, HODGSON JM, LEWIS JR, DEVINE A, WOODMAN RJ, LIM WH, WONG G, ZHU K, BONDONNO CP, WARD NC, PRINCE RL. **Vegetable and Fruit Intake and Fracture-Related Hospitalisations: A Prospective Study of Older Women.** Nutrients. May., v.9, n.5, p.E511. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigitel Brasil 2017 Saúde Suplementar:** vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília, 2018. 140 p.

BRUNNER RL, COCHRANE B, JACKSON RD, LARSON J, LEWIS C, LIMACHER M, ROSAL M, SHUMAKER S, WALLACE R. **Calcium, vitamin D supplementation, and physical function in the Women's Health Initiative.** J Am Diet Assoc. Sep., v.108, n.9, p.1472-9. 2008.

BRIOT K, GEUSENS P, EM BULTINK I, LEMS WF, ROUX C. **Inflammatory diseases and bone fragility.** Osteoporos Int., v.28, n.12, p.3301-14. 2017.

BISCHOFF-FERRARI H. **Vitamin D: what is an adequate Vitamin D level and how much supplementation is necessary?** Best Pract Res Clin Rheumatol. Dec., v.23, n.6, p.789-95. 2009.

BLÜMKE AC. Avaliação Dietética. In: MUSSOI TD. **Avaliação nutricional na prática clínica: da gestação ao envelhecimento.** 1.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

BONJOUR JP, KRAENZLIN M, LEVASSEUR R, WARREN M, WHITING S. **Dairy in Adulthood: From Foods to Nutrient Interactions on Bone and Skeletal Muscle Health.** J Am Coll Nutr. v.32, n.4, p.251-63. 2013.

BOLLAND MJ, AVENELL A, BARON JA, GREY A, MACLENNAN GS, GAMBLE GD, REID IR. **Effect of calcium supplements on risk of myocardial infarction and cardiovascular events: meta-analysis.** BMJ Ago., v.34, n.7767, p.289. 2010.

BOLLAND MJ, GREY A, AVENELL A, GAMBLE GD, REID IR. **Calcium supplements with or without vitamin D and risk of cardiovascular events: reanalysis of the Women's**

Health Initiative limited access dataset and meta-analysis. BMJ Apr., v.19, n.342, p.d2040. 2011.

BOUILLOU R, CARMELIET G. Vitamin D insufficiency: Definition, diagnosis and management. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. Oct., v.32, n.5, p.669-684. 2018.

BOYÉ ND, MATTACE-RASO FU, VAN LIESHOUT EM, HARTHOLT KA, VAN BEECK EF, VAN DER CAMMEN TJ. Physical performance and quality of life in single and recurrent fallers: data from the Improving Medication Prescribing to Reduce Risk of Falls study. Geriatr Gerontol Int. Mar., v.15, n.3, p.350-355. 2015.

BRANDÃO, C.M.R.; FERRÉ, F.; MACHADO, G.P.M.; JÚNIOR, A.A.G.; ANDRADE, E.I.G.; CHERCHIGLIA, M.L.; ACURCIO, F.A. Gastos públicos com medicamentos para o tratamento da osteoporose na pós-menopausa. Rev Saúde Públ. v.47, n.2, p.390-402. 2013.

BYBERG L, BELLAVIA A, ORSINI N, WOLK A, MICHAËLSSON K. Fruit and vegetable intake and risk of hip fracture: a cohort study of Swedish men and women. J Bone Miner Res. Jun., v.30, n.6, p.976-84. 2015.

CABRAL MA, BORGES CN, MAIA JM, AIRES CA, BANDEIRA F. Prevalence of vitamin D deficiency during the summer and its relationship with sun exposure and skin phototype in elderly men living in the tropics. Clin Interv Aging. v.8, p.1347-51. 2013.

CABRAL HW, ANDOLPHI BF, FERREIRA BV, ALVES DC, MORELATO RL, FILHO AC, BORGES LS. The use of biomarkers in clinical osteoporosis. Rev Assoc Med Bras. Jul., v.62, n.4, p.368-76. 2016.

CALVO MS, TUCKER KL. Is phosphorus intake that exceeds dietary requirements a risk factor in bone health? Ann. N.Y. Acad. Sci. Oct., v.1301, p.29–35. 2013.

CAMELIER AA. Avaliação da Qualidade de Vida Relacionada à Saúde em Pacientes com DPOC: estudo de base populacional com o SF-12 na cidade de São Paulo-SP. 2004. 151 p. Tese (Doutorado em Medicina, Pneumologia) - Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP); SP, 2004.

CAO JJ. High Dietary Protein Intake and Protein-Related Acid Load on Bone Health. Curr Osteoporos Rep. Dec., v. 15, n.6, p.571-576. 2017.

CAROLI A, POLI A, RICOTTA D, BANFI G, COCCHI D. Invited review: Dairy intake and bone health: A viewpoint from the state of the art. J Dairy Sci. Nov., v.94, n.11, p.5249-62. 2011.

CAULEY JA. Public Health Impact of Osteoporosis. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. Oct., v.68, n.10, p.1243–1251. 2013.

CASTIGLIONI S, CAZZANIGA A, ALBISSETTI W, MAIER JAM. Magnesium and Osteoporosis: Current State of Knowledge and Future Research Directions. Nutrients Aug., v.5, n.8, p.3022-3033. 2013.

CASTRO FD, MAGALÃES J, CARVALHO PB, MOREIRA MJ, MOTA P, COTTER J. **Lower Levels of Vitamin D Correlate with Clinical Disease Activity and Quality of Life in Inflammatory Bowel Disease.** Arq Gastroenterol. Dec., v.52, n.4, p.260-5. 2015.

CAULEY JA. **Public Health Impact of Osteoporosis.** J Gerontol A Biol Sci Med Sci. Oct. v.68, n.10, p.1243–1251. 2013.

CHAO YS, EKWRU JP, OHINMAA A, GRIENER G, VEUGELERS PJ. **Vitamin D and Health-related quality of life in a community sample of older canadians.** Qual Life Res. Apr., v.23, n.9, p.569-2575. 2014.

CIVELEK GM, PEKYAVAS NO, CETIN N, COSAR SN, KARATAS M. **Association of vitamin D deficiency with muscle strength and quality of life in postmenopausal women.** Climacteric. Aug., v.17, n.4, p.472–477. 2014.

COMPSTON J, COOPER A, COOPER C, GITTOES N, GREGSON C, HARVEY N, HOPE S, KANIS JA, MCCLOSKEY EV, POOLE KES, REID DM, SELBY P, THOMPSON F, THURSTON A, VINE N; National Osteoporosis Guideline Group (NOGG). **UK clinical guideline for the prevention and treatment of osteoporosis.** Arch Osteoporos. Dec., v.12, n.1, p.43. 2017.

CONIGRAVE AD, BROWN EM, RIZZOLI R. **Dietary Protein and Bone Health: Roles of Amino Acid-Sensing Receptors in the Control of Calcium Metabolism and Bone Homeostasis.** Annu. Rev. Nutr. May., v.28, p.131–55. 2008.

COPÊS RM, DAL OSTO LC, LANGER FW, DE VIEIRA AR, CODEVILLA AA, SARTORI GR, COMIM FV, PREMAOR MO. **Low health related quality of life associated with fractures in obese postmenopausal women in Santa Maria, Brazil.** Bone Rep. Feb, v.21, n.6, p.70-73. 2017.

COOK DJ, GUYATT GH, ADACHI JD, EPSTEIN RS, JUNIPER EF, AUSTIN PA, CLIFTON J, ROSEN CJ, KESSENICH CR, STOCK JL, OVERDORF J, MILLER PD, ERICKSON AL, McCLUNG MR, McCLUNG BL, GRIFFITH LE, IOANNIDIS G. **Development and validation of the mini-osteoporosis quality of life questionnaire (OQLQ) in osteoporosis women with back pain due to vertebral fractures.** Osteoporos Int. Sep., v.10, n.3, p.207-213. 1999.

COSMAN F, de BEUR SJ, LeBOFF MS, LEWIECKI EM, TANNER B, RANDALL S, LINDSAY R. **Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis.** Osteoporos Int. v.25, p.2359-2381. 2014.

DAVEY RA, FINDLAY DM. **Calcitonin: Physiology or Fantasy?** J Bone Miner Res. May, v.28, n5, p.973–979. 2013.

DAWSON-HUGHES B, HEANEY RP, HOLICK MF, LIPS P, MEUNIER PJ, VIETH R. **Estimates of optimal vitamin d status.** Osteoporos Int. Jul, v.16, n.7, p.713-6. 2005.

DELCHIARO A, OLIVEIRA FJ, BONACORDI CL, CHEDID BL, ANNICHINO G, FERNANDES CE, STRUFALDI R, POMPEI LM, STEINER ML. **Evalution of Quality of**

Life, Physical Activity and Nutritioal Profile of Postmenopausal Women with and without Vitamin D Deficiency. Rev Bras Ginecol Obstet. Jul., v.39, n.7, p.337-43. 2017.

DEUTZ NEP, BAUER JM, BARAZZONI R, BIOLO G, BOIRIE Y, BOSY-WESTPHAL A, CEDERHOLM T, CRUZ-JENTOFT A, KRZNARIĆ Z, NAIR KS, SINGER P, TETA D, TIPTON K, CALDER PC. **Protein intake and exercise for optimal muscle function with aging: Recommendations from the ESPEN Expert Group.** Clin Nutr. Dec., v.33, n.6, p.929-36. 2014.

DRIs. Dietary Reference Intakes. **Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids.** 2002/2005. Disponível em: https://www.nal.usda.gov/sites/default/files/fnic_uploads/energy_full_report.pdf. Acesso em: 22 de abril de 2017.

de FRANÇA NAG, CAMARGO MB, LAZARETTI-CASTRO M, PETERS BS, MARTINI LA. **Dietary patterns and bone mineral density in Brazilian postmenopausal women with osteoporosis: a cross-sectional study.** Eur J Clin Nutr. Jan., v.70, n.1, p.85-90. 2016.

de JONGE EA, KIEFTE-DE JONG JC, HOFMAN A, UITTERLINDEN AG, KIEBOOM BC, VOORTMAN T, FRANCO OH, RIVADENEIRA F. **Dietary patterns explaining differences in bone mineral density and hip structure in the elderly: the Rotterdam Study.** Am J Clin Nutr. Jan., v.105, n.1, p.203-211. 2017.

de JONGE EAL, RIVADENEIRA F, ERLER NS, HOFMAN A, UITTERLINDEN AG, FRANCO OH, KIEFTE-de JONG JC. **Dietary patterns in an elderly population and their relation with bone mineral density: The Rotterdam study.** Eur J Nutr. Feb., v.57, n.1, p.61-73. 2018.

DOMÍNGUEZ-AVILA JA, ALVAREZ-PARRILLA A, ROSA-CARRILLO LA, MARTÍNEZ-MARTÍNEZ A, GONZÁLEZ-AGUIAR GA, GÓMEZ-GARCÍA C, ROBLES-SÁNCHEZ R. **Effect of Fruit and Vegetable Intake on Oxidative Stress and Dyslipidemia Markers in Human and Animal Models.** Phytochemicals - Bioactivities and Impact on Health. Rijeka, Croatia: InTech Open. 2011, 252p. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/phytochemicals-bioactivities-and-impact-on-health/effect-of-fruit-and-vegetable-intake-on-oxidative-stress-and-dyslipidemia-markers-in-human-and-animal>. Acesso em: 31 de março de 2019.

DOMAZETOVIC V, MARCUCCI G, IANTOMASI T, BRANDI ML, VINCENZINI MT. **Oxidative stress in bone remodeling: role of antioxidants.** Clin Cases Miner Bone Metab. , v.14, n.2, p.209-16. 2017.

ECEMIS GC, ATMACA A. **Quality of life is impaired not only in vitamin D deficient but also in vitamin D-insufficient pre-menopausal women.** J Endocrinol Invest. Sep., v.36, n.8, p.622-7. 2013.

EKWARU JP, OHINMAA A, VEUGELERS PJ. **The effectiveness of a preventive health program and vitamin D status in improving health-related quality of life of older Canadians.** Qual Life Res. Mar., v.25, n.3, p.661-8. 2016.

ELAMIN MB, ABU ELNOUR NO, ELAMIN KB, FATOURECHI MM, ALKATIB AA, ALMANDOZ JP, LIU H, LANE MA, MULLAN RJ, HAZEM A, ERWIN PJ, HENSRUD DD, MURAD MH, MONTORI VM. **Vitamin D and cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis.** J Clin Endocrinol Metab. Jul., v.96, n.7, p.1931-42. 2011.

FENG X, GUO T, WANG Y, KANG D, CHE X, ZHANG H, CAO W, WANG P. **The vitamin D status and its effects on life quality among the elderly in Jinan, China.** Arch Gerontol Geriatr. Jan-Feb., v.62, p.26-9. 2016.

FERRANS CE. **Development of a conceptual model of quality of life.** Sch Inq Nurs Pract. v.10, n.3, p.293-304. 1996.

FISCELLA K, FRANKER P. **Vitamin D, race and cardiovascular mortality with findings from a national US sample.** Ann Fam Med. v.8, n.1, p.11-8. 2010.

FRASER WD, MILAN AM. **Vitamin d assays: past and present debates, difficulties, and developments.** Calcif Tissue Int. Feb., v.92, n.2, p.118-27. 2013.

FUNG TT, FESKANICH D. **Dietary patterns and risk of hip fractures in postmenopausal women and men over 50 years.** Osteoporos Int. Jun., v.26, n.6, p.1825-30. 2015.

GOREY S, CANAVAN M, ROBINSON S, ST OK, MULKERRIN E. **A review of vitamin D insufficiency and its management: a lack of evidence and consensus persists.** QJM. Mar., v.112, n.3, p.165-167. 2019.

GUYATT GH, FEENY DH, PATRICK DL. **Measuring health-related quality of life.** Ann Intern Med. Apr., v.118, n.8, p.622-629. 1993.

GUILHERME, F.C.C.; COZZOLINO, S.M.F. Nutrientes e Osteoporose. In: COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes.** 4. ed. Barueri, SP: Manole, 2012. Cap.50, p.1229-54.

GUNN CA, WEBER JL, MCGILL AT, KRUGER MC. **Increased intake of selected vegetables, herbs and fruit may reduce bone turnover in post-menopausal women.** Nutrients. Apr., v.87, n.4, p.2499-517. 2015.

HANLEY DA, WHITING SJ. **Does a High Dietary Acid Content Cause Bone Loss, and Can Bone Loss Be Prevented With an Alkaline Diet?** J Clin Densitom. Oct-Dec., v.16, n.4, p.420-5. 2013.

HAMIDI M, BOUCHER BA, CHEUNG AM, BEYENE J, SHAH PS. **Fruit and vegetable intake and bone health in women aged 45 years and over: a systematic review.** Osteoporos Int. v.22, n.6, p.1681-1693. 2011.

HAGINO H, TAKANO T, FUKUNAGA M, SHIRAKI M, NAKAMURA T, MATSUMOTO T. **Eldecalcitol reduces the risk of severe vertebral fractures and improves the health-related quality of life in patients with osteoporosis.** J Bone Miner Metab. v.31, n.2, p.183-189. 2013.

HARASYM J, OLEDEZKI R. **Effect of fruit and vegetable antioxidants on total antioxidant capacity of blood plasma.** Nutrition. , v.30, n.5, p.511-7. 2014.

HEANEY RP, RECKER RR, WATSON P, LAPPE JM. **Phosphate and carbonate salts of calcium support robust bone building in osteoporosis.** Am J Clin Nutr. Jul., v.92, n.1, p.101-5. 2010.

HLAVATY T, KRAJCOVICOVA A, KOLLER T, TOTH J, NEVIDANSKA M, HUORKA M, PAYER J. **Higher vitamin D serum concentration increases health related quality of life in patients with inflammatory bowel diseases.** World J Gastroenterol. Nov., v.20, n.42, p.15787-15796. 2014.

HOFFMANN MR, SENIOR PA, MAGER DR. **Vitamin D supplementation and health-related quality of life: a systematic review of the literature.** J Acad Nutr Diet. Mar., v.115, n.3, p.406-18. 2015.

HOSSEIN-NEZHAD A, HOLICK MF. **Vitamin D for Health: A Global Perspective.** Mayo Clin Proc. Jul., v.88, n.7, p.720-55. 2013.

HOLT EM, STEFFEN LM, MORAN A, BASU S, STEINBERGER J, ROSS JA, et al. **Fruit and vegetable consumption and its relation to markers of inflammation and oxidative stress in adolescents.** J Am Diet Assoc. , v.109, n.3, p.414-21. 2009.

HOLICK MF. **High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health.** Mayo Clin Proc. Mar., v.81, n.3, p.353-73. 2006.

HOLICK MF, BINKLEY NC, BISCHOFF-FERRARI HA, GORDON CM, HANLEY DA, HEANEY RP, MURAD MH, WEAVER CM, ENDOCRINE S. **Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline.** J Clin Endocrinol Metab. Jul., v.96, n.7, p.1911-30. 2011.

HU D, HUANG J, WANG Y, ZHANG D, QU Y. **Fruits and vegetables consumption and risk of stroke: a meta-analysis of prospective cohort studies.** Stroke. Jun., v.45, n.6, p.1613-9. 2014.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2010a. **Brasil: Tábua Completa de Mortalidade - Ambos os Sexos - 2010.** Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/tabuadevida/2010/ambossexos.pdf>. Acesso em: 09 de dezembro de 2018.

_____. 2010b. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Demográfico.** Disponível: <https://censo2010.ibge.gov.br/resultados.html>. Acesso em: 09 de dezembro de 2018.

_____. 2012. **Brasil: Tábua Completa de Mortalidade - Ambos os Sexos - 2012.** Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Tabuas_Completas_de_Mortalidade/Tabuas_Completas_de_Mortalidade_2012/pdf/ambos_pdf.pdf. Acesso em: 09 de dezembro de 2018.

_____. 2018a. **Perfil dos idosos responsáveis pelos domicílios.** Disponível em: <https://ww2.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/25072002pidoso.shtml>. Acesso em: 09 de dezembro de 2018.

_____. 2018b. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Tábua completa de mortalidade para o Brasil – 2017: Breve análise da evolução da mortalidade no Brasil**. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101628.pdf>. Acesso em: 09 de dezembro de 2018.

IOF. International Osteoporosis Foundation. 2018a. Osteoporosis & Musculoskeletal Disorders - Osteoporosis. **What is Osteoporosis?** Disponível em: <http://www.iofbonehealth.org/what-is-osteoporosis>. Acesso em: 09 de dezembro de 2018.

_____. **Osteoporosis**. 2018b. Disponível em: <http://www.iofbonehealth.org/osteoporosis>. Acesso em: 09 de dezembro de 2018.

_____. **Vitamin D**. 2018c. Disponível em: <https://www.iofbonehealth.org/osteoporosis-musculoskeletal-disorders/osteoporosis/prevention/vitamin-d>. Acesso em 25 de dezembro de 2018.

IOM. Institute of Medicine. Estados Unidos. **DRI: Dietary Reference Intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride**. Washington, D.C.: National Academic Press, 1997. Disponível em: <https://www.nap.edu/catalog/5776/dietary-reference-intakes-for-calcium-phosphorus-magnesium-vitamin-d-and-fluoride>. Acesso em: 12 de dezembro de 2018.

_____. Institute of Medicine (US) Committee. **Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium**. Editors: A Catharine Ross, Christine L Taylor, Ann L Yaktine, and Heather B Del Valle. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011. Disponível em: <https://www.nap.edu/read/13050/chapter/1>. Acesso em 29 de dezembro de 2018.

ILHA TASH, COMIM FV, COPES RM, COMPSTON JE, PREMAOR MO. **HIV and Vertebral Fractures: a Systematic Review and Metanalysis**. Sci Rep. May., v.8, n.7838. 2018.

JAIME PC, STOPA SR, OLIVEIRA TP, VIEIRA ML, SZWARCWALD CL, MALTA DC. **Prevalência e distribuição sociodemográfica de marcadores de alimentação saudável, Pesquisa Nacional de Saúde, Brasil 2013**. Epidemiol. Serv. Saúde. Abr-Jun., v.24, n.2, p.267-276. 2015.

JAHNEN-DECENT W, KETTELER M. **Magnesium basics**. Clin Kidney J. Feb., v.5, Suppl.1, p.i3-i14. 2012.

KIM HJ, LEE JY, KIM TJ, LEE JW. **Association between serum vitamin D status and health-related quality of life (HQOL) in an older Korean population with radiographic knee osteoarthritis: data from the Korean National Health and Nutrition Examination Survey (2010-2011)**. Health Qual Life Outcomes. Apr., v.18, p.13-48. 2015.

KIM JS, CHOI YE, BAEK JK, CHO HJ, KIM YS. **The Association between Vitamin D and Health-Related Quality of Life in Korean Adults**. Korean J Fam Med. Jul., v.37, n.4, p.221-7. 2016.

LANGSETMO L, HANLEY DA, PRIOR JC, BARR SI, ANASTASSIADES T, TOWHEED T, GOLTZMAN D, MORIN S, POLIQUIN S, KREIGER N. **Dietary patterns and incident**

low-trauma fractures in postmenopausal women and men aged ≥50 y: a population-based cohort study1–3. Am J Clin Nutr. v.93, n.1, p.192-9. 2011.

LEE KJ, KIM KS, KIM HN, SEO JA, SONG SW. Association between dietary calcium and phosphorus intakes, dietary calcium/phosphorus ratio and bone mass in the Korean population. Nutr J. Dec., v.13, n.1, p.114. 2014.

LEE AW, CHO SS. Association between phosphorus intake and bone health in the NHANES population. Nutr J. Mar., v.21, p.14-28. 2015.

LEFEVRE ML. U.S. Preventive Services Task Force. Screening for Vitamin D Deficiency in Adults: U.S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement. Ann Intern Med. Jan., v.162, n.2, p.133-40. 2015.

LI K, KAAKS R, LINSEISEN J, ROHRMANN S. Associations of dietary calcium intake and calcium supplementation with myocardial infarction and stroke risk and overall cardiovascular mortality in the Heidelberg cohort of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition study (EPIC-Heidelberg). Heart. Jun., v.98, n.12, p.920-5. 2012.

LI JJ, HUANG ZW, WANG RQ, MA XM, ZHANG ZQ, LIU Z, CHEN YM, SU YX. Fruit and vegetable intake and bone mass in Chinese adolescents, young and postmenopausal women. Public Health Nutr. Jan., v.16, n.1, p.78-86. 2013.

LIU ZM, LEUNG J, WONG SY, WONG CK, CHAN R, WOO J. Greater fruit intake was associated with better bone mineral status among Chinese elderly men and women: results of Hong Kong Mr. Os and Ms. Os Studies. J Am Med Dir Assoc. Apr., v.16, n.4, p.309-15. 2015.

LIMA MG, BARROS MB, CÉSAR CL, GOLDBAUM M, CARANDINA L, CICONELLI RM. Impacto f chronic disease on quality of life among the elderly in the sstate of São Paulo, Brasil: a population-based study. Rev Panam Salud Publica. Apr., v.25, n.4, p.314-21. 2009.

LOENNEKE JP, PUJOL TJ. Sarcopenia: An emphasis on occlusion training and dietary protein. Hippokratia. Apr-jun., v.15, n.2, p.132-137. 2011.

LOPES JB, DANILEVICIUS CF, TAKAYAMA L, CAPARBO VF, SCAZUFCA M, BONFÁ E, PEREIRA RM. Vitamin D insufficiency: a risk factor to vertebral fractures in community-dwelling elderly women. Maturitas. Dec., v.64, n.4, p.218-22. 2009.

LOURES FB, CHAOUBAH A, MACIEL VS, PAIVA EP, SALGADO PP, NETTO ÁC. Custo-efetividade do tratamento cirúrgico da fratura do quadril em idosos no Brasil. Rev Bras Ortop. Ago., v.50, n.1, p.38–42. 2015.

LUO S, LI Y, LUO H, YIN X, LIN DU R, ZHAO K, HUANG GL, SONG JK. Increased intake of vegetables, but not fruits, may be associated with reduced risk of hip fracture: A meta-analysis. Sci Rep. Jan., v.6, n.19783. 2016.

MACDONALD HM, NEW SA, GOLDEN MHN, CAMPBELL MK, REID DM. **Nutritional associations with bone loss during the menopausal transition: evidence of a beneficial effect of calcium, alcohol, and fruit and vegetable nutrients and of a detrimental effect of fatty acids.** Am J Clin Nutr. Jan., v.79, n.1, p.155-65. 2004.

MAEDA SS, KUNII LS, HAYASHI LF, LAZARETTI-CASTRO M. **The effect of sun exposure on 25-hydroxyvitamin D concentrations in young healthy subjects living in the city of São Paulo, Brazil.** Braz J Med Biol Res. Dec., v.40, n.12, p.1653-1659. 2007.

MAEDA SS, KUNII IS, HAYASHI LF, LAZARETTI-CASTRO M. **Increases in summer serum 25-hydroxyvitamin D (25OHD) concentrations in elderly subjects in São Paulo, Brazil vary with age, gender and ethnicity.** BMC Endocr Disord. Jun., v.14, p.10-12. 2010.

MAEDA SS, BORBA VZ, CAMARGO MB, SILVA DM, BORGES JL, BANDEIRA F, LAZARETTI-CASTRO M; Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism (SBEM). **Recommendations of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism (SBEM) for the diagnosis and treatment of hypovitaminosis D.** Arq Bras Endocrinol Metabol. Jul., v.58, n.5, p.411-33. 2014.

MAFRA, D.; COZZOLINO, S.M.F. **Magnésio.** In: COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes.** 4. ed. Barueri, SP: Manole, 2012. Cap.26, p.627-44.

MANSON JE, COOK NR, LEE IM, CHRISTEN W, BASSUK SS, MORA S, GIBSON H, GORDON D, COPELAND T, D'AGOSTINO D, FRIEDENBERG G, RIDGE C, BUBES V, GIOVANNUCCI EL, WILLETT WC, BURING JE, VITAL RESEARCH GROUP. **Vitamin D supplements and prevention of cancer and cardiovascular disease.** N Engl J Med. Jan., v.380, n.1, p.33-44. 2019.

MARINHO BC, GUERRA LP, DRUMMOND JB, SILVA BC, SOARES MM. **The burden of osteoporosis in Brazil.** Arq Bras Endocrinol Metabol. Jul., v.58, n.5, p.434-43. 2014.

MARTINEZ-ALONSO M, DUSSO A, ARIZA G, NABAL M. **Vitamin D deficiency and its association with fatigue and quality of life in advanced cancer patients under palliative care: A cross-sectional study.** Palliat Med. Jan., v.30, n.1, p.89-96. 2016.

MCNAUGHTON SA, WATTANAPENPAIBOON N, WARK JD, NOWSON CA. **An energy-dense, nutrient-poor dietary pattern is inversely associated with bone health in women.** J Nutr. Aug., v.141, n.8, p.1516-23. 2011.

MCTIERNAN A, WACTAWSKI-WENDE J, WU L, RODABOUGH RJ, WATTS NB, TYLAVSKY F, FREEMAN R, HENDRIX S, JACKSON R, WOMENS HEALTH INITIATIVE INVESTIGATORS. **Low-fat, increased fruit, vegetable, and grain dietary pattern, fractures, and bone mineral density: the Women's Health Initiative Dietary Modification Trial.** Am J Clin Nutr. Jun., v.89, n.6, p.1864-76. 2009.

McHORNEY CA, WARE JE, RACZEK AE. **The MOS 36-item short-form health survey (SF-36) II: psychometric and clinical tests of validity in measuring physical and mental health constructs.** Med Care. Mar., v.31, n.3, p.247-63. 1993.

McHORNEY CA, WARE JE, LU JFR, SHERBOURNE CD. **The MOS 36-item short form health survey (SF-36) III: tests of data quality scaling assumptions and reliability across diverse patient groups.** Med Care. Jan., v.32, n.1, p.40-66. 1994.

MINAYO MCS, HARTZ ZMA, BUSS PM. **Qualidade de vida e saúde: um debate necessário.** Ciênc Saúde Coletiva. v.5, n.1, p.7-18, 2000.

MORAIS, G.Q.; BURGOS, M.G.P.A. **Impacto dos nutrientes na saúde óssea: novas tendências.** Rev Bras Ortop, Recife. v.42, n.7, p.189-194, 2007.

MONTEIRO T.H.; VANNUCCHI, H. **Funções Plenamente Reconhecidas de Nutrientes: Fósforo.** ILSI Brasil. Set. 2010a.

_____. **Funções Plenamente Reconhecidas de Nutrientes: Magnésio.** ILSI Brasil. Set. 2010b.

MOVASSAGH EZ, VATANPARAST H. **Current evidence on the association of dietary patterns and bone health: a scoping review.** Adv Nutr. Jan., v.8, n.1, p.1-16. 2017.

MUSZKAT P, CAMARGO MBR, PETERS BSE, KUNII LS, LAZARETTI-CASTRO M. **Digital vertebral morphometry performed by DXA: a valuable opportunity for identifying fractures during bone mass assessment.** Arch. Endocrinol. Metab. v.59, n.2, p.98-104. 2015.

NAMS. The North American Menopause Society. Position Statement. **Management of osteoporosis in postmenopausal women: 2010 position statement of the North American Menopause Society Menopause.** Menopause. Jan-feb., v.17, n.1, p.25-54. 2010.

_____. Chapter 1: **Menopause.** 2018. Disponível em: <http://www.menopause.org/publications/clinical-care-recommendations/chapter-1-menopause>. Acesso em 09 de dezembro de 2018.

NAYLOR K, EASTELL R. **Bone turnover markers: use in osteoporosis.** Nat Rev Rheumatol. Jun., v.8, n.7, p.379-89. 2012.

NEVES JP, SILVA AS, MORAIS LCSR, DINIZ AS, COSTA MJC, ASCIUTTI LSR, GONÇALVES MCR. **25-hydroxyvitamin D concentrations and blood pressure levels in hypertensive elderly patients.** Arq Bras Endocrinol Metabol. Oct., v.56, n.7, p.415-22. 2012.

NEVILLE CE, YOUNG IS, GILCHRIST SE, MCKINLEY MC, GIBSON A, EDGAR JD, WOODSIDE JV. **Effect of increased fruit and vegetable consumption on bone turnover in older adults: a randomised controlled trial.** Osteoporos Int. Jan., v.25, n.1, p.223-33. 2014.

NEWBERRY SJ, CHUNG M, SHEKELLE PG, BOOTH MS, LIU JL, MAHER AR, MOTALA A, CUI M, PERRY T, SHANMAN R, BALK EM. **Vitamin D and Calcium: A Systematic Review of Health Outcomes (Update).** Evidence Report/Technology Assessment No.217. (Prepared by the Southern California Evidence-based Practice Center under Contract No. 290-2012-00006-I.) AHRQ Publication No.14-E004-EF. Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality. Sep. 2014. Disponível em:

https://effectivehealthcare.ahrq.gov/sites/default/files/pdf/vitamin-d-calcium_research.pdf. Acesso em: 16 de dezembro de 2018.

NICE. National Institute for Health and Care Excellence. **Osteoporosis: assessing the risk of fragility fracture.** 2012. Clinical Guideline [CG146]. Disponível em: <https://www.nice.org.uk/guidance/cg146>. Acesso em 15 de dezembro de 2018.

_____. **Vitamin D: supplement use in specific population groups.** Public Health Guideline [PH56]. Disponível em: <https://www.nice.org.uk/guidance/ph56>. Acesso em 15 de dezembro de 2018.

NIEVES JW. **Osteoporosis: the role of micronutrients.** Am J Clin Nutr. May, v.81, n.5, p.1232S-1239S. 2005.

NIH. National Institutes of Health. **Vitamin D.** Disponível em: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminD-HealthProfessional/>. Acesso em 16 de dezembro de 2018.

NOBRE MRC. **Qualidade de Vida.** Arq Bras Cardiol. v.64, n.4, p.299-300. 1995.

NOF. National Osteoporosis Foundation. **What Women Need to Know.** 2018. Disponível em: <https://www.nof.org/preventing-fractures/general-facts/what-women-need-to-know/>. Acesso em: 09 de dezembro de 2018.

NORONHA DD, MARTINS AMEBL, DIAS DS, SILVEIRA MF, DE PAULA AMB, HAIKAL DAS. **Qualidade de vida relacionada à saúde entre adultos e fatores associados: um estudo de base populacional.** Ciênc. Saude Colet. Fev., v.21, n.2, p.463-474. 2016.

OH TR, KIM CS, BAE EH, MA SK, HAN SH, SUNG SA, LEE K, OH KH, AHN C, KIM SW; Representatives of the KNOW-CKD Investigator Group. **Association between vitamin D deficiency and health-related quality of life in patients with chronic kidney disease from the KNOW-CKD study.** PLoS ONE. Apr., v.12, n.4, p.e0174282. 2017.

OHTA H, UEMURA Y, NAKAMURA T, FUKUNAGA M, OHASHI Y, HOSOI T, MORI S, SUGIMOTO T, ITOI E, ORIMO H, SHIRAKI M, Adequate Treatment of Osteoporosis (ATOP) Research Group. **Serum 25-hydroxyvitamin D level as an independent determinant of quality of life in osteoporosis with a high risk for fracture.** Clin Ther. Feb., v.36, n.2, p.225-35. 2014.

PADDON-JONES D, RASMUSSEN BB. **Dietary protein recommendations and the prevention of sarcopenia: Protein, amino acid metabolism and therapy.** Curr Opin Clin Nutr Metab Care. Jan., v.12, n.1, p.86-90. 2009.

PEACOCK, M. **Calcium metabolism in health and disease.** Clin J Am Soc Nephrol. Jan., v.5, n.1., p.S23–30. 2010.

PEREIRA, G.A.P.; GENARO, P.S.; PINHEIRO, M.M.; SZEJNFELD, V.L.; MARTINI, L.A. **Cálcio dietético – estratégias para otimizar o consumo.** Rev. Bras. Reumatol. Mar-APR., v.49, n.2, p.164-71. 2009.

PEREIRA SRM, PUTS MTE, PORTELA MC, SAYEG MA. The Impact of Prefracture and Hip Fracture Characteristics on Mortality in Older Persons in Brazil. Clin Orthop Relat Res. Jul., v.468, n.7, p.1869-83. 2010.

PEREIRA EF, TEIXEIRA CS, SANTOS A. Qualidade de vida: abordagens, conceitos e avaliação. Rev. bras. Educ. Fís. Esporte. Abr-Jun., v.26, n.2, p.241-50. 2012.

PETERS BSE, MARTINI LA. Vitamina D. 2. ed. São Paulo: [s.n.]. ILSI Brasil. International Life Science Institute of Brasil. 2014. vol.2. Disponível em: http://ilsi.org/brasil/wp-content/uploads/sites/9/2016/05/artigo_vitamina_d.pdf. Acesso em 16 de janeiro de 2019.

PINHEIRO, M.M. Mortalidade após fratura por osteoporose. Arq Bras Endocrinol Metabol. Oct., v.52, n.7, p.1071-2, 2008.

PINHEIRO MM, SCHUCH NJ, GENARO PS, CICONELLI RM, FERRAZ MB, MARTINI LA. Nutrient intakes related to osteoporotic fractures in men and women – The Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS). Nutr J. Jan., v.8, n.6. 2009.

PINHEIRO MM, EIS SR. Epidemiology of osteoporotic fractures in Brazil: what we have and what we need. Arq Bras Endocrinol Metab. Mar., v.54, n.2, p.164-70. 2010.

PINHEIRO MM, NETO ETR, MACHADO FS, OMURA F, YANG JHK, SZEJNFELD J, SZEJNFELD VL. Risk factors for osteoporotic fractures and low bone density in pre and postmenopausal women. Rev Saúde Pública. Jun. v.44, n.3, p.479-85. 2010.

PINHEIRO MM, CICONELLI RM, CHAVES GV, AQUINO L, JUZWIAK CR, GENARO OS, FERRAZ MB. Antioxidant intake among Brazilian adults - The Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS): a cross-sectional study. Nutrition J. Apr., v.10, n.39. 2011.

PINHEIRO MM, REIS NETO ET, MACHADO FS, OMURA F, SZEJNFELD J, SZEJNFELD VL. Development and validation of a tool for identifying women with low bone mineral density and low-impact fractures: the São Paulo Osteoporosis Risk Index (SAPORI). Osteoporos Int. Apr., v.23, n.4, p.1371-9. 2012.

PINHEIRO MM, SZEJNFELD J. Revisão: Osteoporose: quadro clínico, qualidade de vida e diagnóstico. [S.l.]: Grupo Editorial Moreira JR. Disponível em: http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=1653. Acesso em 26 de dezembro de 2018.

PINTO NETO, et al. Consenso Brasileiro de Osteoporose 2002. Rev. Bras. Reumatol. Nov-Dec., v.42, n.6, p.343-54. 2002.

PITTAS AG, HARRIS SS, STARK PC, DAWSON-HUGHES B. The effects of calcium and vitamin D supplementation on blood glucose and markers of inflammation in nondiabetic adults. Diabetes Care. Apr., v.30, n.4, p.980-6. 2007.

PIRONI L, MALUCELLI E, GUIDETTI M, LANZONI E, FARRUGGIA G, PINNA AD, BARBIROLI B, IOTTI S. The complex relationship between magnesium and serum parathyroid hormone: a study in patients with chronic intestinal failure. Magnes Res. Mar., v.22, n.1, p.37-43. 2009.

PHILIPPI, S.T. Redesenho da Pirâmide Alimentar Brasileira para uma alimentação saudável. 2013. Disponível em: http://www.piramidealimentar.inf.br/pdf/ESTUDO_CIENTIFICO_PIRAMIDE_pt.pdf. Acesso em: 23 de janeiro de 2016.

PREMAOR MO, ALVES GV, CROSSETTI LB, FURLANETTO TW. Hyperparathyroidism secondary to hypovitaminosis D in hypoalbuminemic is less intense than in normoalbuminemic patients: a prevalence study in medical inpatients in southern Brazil. Endocrine. Jun., v.4, n.1, p.47-53. 2004.

PREMAOR MO, FURLANETTO TW. Vitamin D deficiency in adults: to better understand a new presentation of an old disease. Arq Bras Endocrinol Metabol. Feb., v.50, n.1, p.25-37. 2006.

PREMAOR MO, PALUDO P, MANICA D, PALUDO AP, ROSSATTO ER, SCALCO R, FURLANETTO TW. Hypovitaminosis D and secondary hyperparathyroidism in resident physicians of a general hospital in southern Brazil. J Endocrinol Invest. Nov., v.31, n.11, p.991-5. 2008.

PRYNNE CJ, MISHRA GD, O'CONNELL MA, MUNIZ G, LASKEY MA, YAN L, PRENTICE A, GINTY F. Fruit and vegetable intakes and bone mineral status: a cross-sectional study in 5 age and sex cohorts1-3. Am J Clin Nutr. Jun., v.83, n.6, p.1420-8. 2006.

PUTS MT, TOUBASI S, ATKINSON E, AYALA AP, ANDREW M, ASHE MC, BERGMAN H, PLOEG J, MCGILTON KS. Interventions to prevent or reduce the level of frailty in community-dwelling older adults: a protocol for a scoping review of the literature and international policies. BMJ Open. v.6, p.e010959. 2016.

RACZKIEWICZ A, KISIEL B, KULIG M, TLUSTOCHOWICZ W. Vitamin D status and its association with quality of life, physical activity, and disease activity in rheumatoid arthritis patients. J Clin Rheumatol. Apr., v.21, n.3, p.126-30. 2015.

RADOMINSKI SC, BERNARDO W, DE PAULA AP, ALBERGARIA B-H, MOREIRA C, FERNANDES CE, CASTRO CHM, ZERBINI CAF, DOMICIANO DS, MENDONÇA LMC, POMPEI LM, BEZERRA MC, LOURES MAR, WENDER MCO, LAZARETTI-CASTRO M, PEREIRA RMP, MAEDA SS, SZEJNFELD VL, BORBA VZC. Diretrizes Brasileiras para o diagnóstico e tratamento da osteoporose em mulheres na pós-menopausa. Rev Bras Reumatol. Jun., v.57, n.S2, p.S452-S466. 2017.

RAFIQ R, SWART KM, VAN SCHOOR NM, DEEG DJ, LIPS P, DE JONGH RT. Associations of serum 25-hydroxyvitamin D concentrations with quality of life and self-rated health in an older population. J Clin Endocrinol Metab. Sep., v.99, n.9, p.3136-43. 2014.

RAFIQ R, PRINS HJ, BOERSMA WG, DANIELS JM, DEN HEIJER M, LIPS P, de JONGH RT. Effects of daily vitamin D supplementation on respiratory muscle strength and physical performance in vitamin D-deficient COPD patients: a pilot trial. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis. Aug., v.12, p.2583-2592. 2017.

REJNMARK L, AVENELL A, MASUD T, ANDERSON F, MEYER HE, SANDERS KM, SALOVAARA K, COOPER C, SMITH HE, JACOBS ET, TORGERSON D, JACKSON RD, MANSON JAE, BRIXEN K, MOSEKILDE L, ROBBINS JA, FRANCIS RM, ABRAHAMSEN B. **Vitamin D with calcium reduces mortality: patient level pooled analysis of 70,528 patients from eight major vitamin D trials.** J Clin Endocrinol Metab. Aug., v.97, n.8, p. 2670-81. 2012.

REQUENA G, ABBING-KARAHAGOPIAN V, HUERTA C, DE BRUIN ML, ALVAREZ Y, MIRET M, HESSE U, GARDARSDOTTIR H, SOUVEREIN PC, SLATTERY J, SCHNEIDER C, ROTTENKOLBER M, SCHMIEDL S, GIL M, DE GROOT MC, BATE A, RUIGÓMEZ A, GARCÍA RODRÍGUEZ LA, JOHANSSON S, DE VRIES F, MONTERO D, SCHLIENGER R, REYNOLDS R, KLUNGEL OH, DE ABAJO FJ. **Incidence rates and trends of hip/femur fractures in five European countries: comparison using e-healthcare records databases.** Calcif Tissue Int. Jun., v.94, n.6, p.580-9. 2014.

RIBEIRO TA, PREMAOR MO, LARANGEIRA JA, BRITO LG, LUFT M, GUTERRES LW, MONTICIELO OA. **Predictors of hip fracture mortality at a general hospital in South Brazil: an unacceptable surgical delay.** CLINICS. Apr., v.69, n.4, p.253-258. 2014.

RIZZOLI R. **Dairy products, yogurts, and bone health.** Am J Clin Nutr. May, v.99, n.5, p.1256S-62S. 2014.

RIZZOLI R, STEVENSON JC, BAUER JM, LOON LJCvan, WALRAND S, KANIS JA, COOPER C, BRANDI ML, DIEZ-PEREZ A, REGINSTER JY. **The role of dietary protein and vitamin D in maintaining musculoskeletal health in postmenopausal women: A consensus statement from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO).** Maturitas. Sep., v.79, n.1, p.122-32. 2014.

RIZZOLI R, BIVER E, BONJOUR JP, COXAM V, GOLTZMAN D, KANIS JA, LAPPE J, REJNMARK L, SAHNI S, WEAVER C, WEILER H, REGINSTER J-Y. **Benefits and safety of dietary protein for bone health—an expert consensus paper endorsed by the European Society for Clinical and Economical Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis, and Musculoskeletal Diseases and by the International Osteoporosis Foundation.** Osteoporos Int. Sep., v.29, n.9, p.1933-1948. 2018.

ROJAS-FERNANDEZ CH, MACLAUGHLIN EJ, DORE NL, EBSARY S. **Assessing the potential adverse consequences of supplemental calcium on cardiovascular outcomes: should we change our approach to bone health?** Ann Pharmacother. May, v.46, n.5, p.696-702. 2012.

ROSS AC, MANSON JE, ABRAMS SA, ALOIA JF, BRANNON PM, CLINTON SK, DURAZO-ARVIZU RA, GALLAGHER JC, GALLO RL, JONES G, KOVACS CS, MAYNE ST, ROSEN CJ, SHAPSES SA. **The 2011 Report on Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D from the Institute of Medicine: What Clinicians Need to Know.** J Clin Endocrinol Metab. Jan., v.96, n.1, p.53-58. 2011.

RUSSO LA, GREGÓRIO LH, LACATIVA PG, MARINHEIRO LP. **Concentration of 25-hydroxyvitamin D in postmenopausal women with low bone mineral density.** Arq Bras Endocrinol Metabol. Dec., v.53, n.9, p.1079-87. 2009.

SAMELSON EJ, BOOTH SL, FOX CS, TUCKER KL, WANG TJ, HOFFMANN U, CUPPLES LA, O'DONNELL CJ, KIEL DP. **Calcium intake is not associated with increased coronary artery calcification: the Framingham Study.** Am J Clin Nutr. Dec., v.96, n.6, p.1274-1280. 2012.

SAMPAIO-BARROS MM, TAKAYAMA L, SAMPAIO-BARROS PD, BONFÁ E, PEREIRA RMR. **Low vitamin D serum levels in diffuse systemic sclerosis: a correlation with worst quality of life and severe capillaroscopic findings.** Rev Bras Reumatol. Jul/Ago., v.56, n.4, p.337-344. 2016.

SARAIVA GL, CENDOROGLO MS, RAMOS LR, ARAÚJO LM, VIEIRA JG, KUNII I, HAYASHI LF, CORRÊA MP, LAZARETTI-CASTRO M. **Influence of ultraviolet radiation on the production of 25 hydroxyvitamin D in the elderly population in the city of São Paulo (23° 34'S), Brazil.** Osteoporos Int. Dec., v.16, n.12, p.1649-54. 2005.

SARAIVA GL, CENDOROGLO MS, RAMOS LR, ARAÚJO LMQ, VIEIRA JGH, MAEDA SS, BORBA VZC, 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. Apr., v.51, n.3, p.437-42. 2007.

SCALCO R, PREMAOR MO, FRÖEHLICH PE, FURLANETTO TW. **High prevalence of hypovitaminosis D and secondary hyperparathyroidism in elders living in nonprofit homes in South Brazil.** Endocrine. Feb., v.33, n.1, p.95-100. 2008.

SEBASTIAN A. **Dietary protein content and the diet's net acid load: opposing effects on bone health.** Am J Clin Nutr. Nov., v.82, n.5, p.921-2. 2005.

SHEN CL, VON BERGEN V, CHYU MC, JENKINS MR, MO H, CHEN CH, KWUN IS. **Fruits and dietary phytochemicals in bone protection.** Nutr Res. Dec., v.32, n.12, p.897-910. 2012.

SHIN S, SUNG J, JOUNG H. **A fruit, milk and whole grain dietary pattern is positively associated with bone mineral density in Korean healthy adults.** Eur J Clin Nutr. Apr., v.69, n.4, p.442-8. 2015.

SHIM JS, OH K, KIM HC. **Dietary assessment methods in epidemiologic studies.** Epidemiol Health. Jul., v.36, n.e2014009, p.8. 2014.

SILVA, A.G.H.; PIRES, L.V.; COZZOLINO, S.M.F. Cálcio. In: COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes.** 4. ed. Barueri, SP: Manole, 2012. Cap.52, p.1267-88.

SILVA, V.L.; COZZOLINO, S.M.F. Minerais e Terceira Idade. In: COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes.** 4. ed. Barueri, SP: Manole, 2012. Cap.52, p.1267-88.

SILVA, A.G.H.; CALLOU, K.R.A.; COZZOLINO, S.M.F. Fósforo. In: COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes.** 4. ed. Barueri, SP: Manole, 2012. Cap.25, p.613-27.

SILVA BCC, CAMARGOS BM, FUJII JB, DIAS EP, SOARES MMS. **Prevalence of vitamin D deficiency and its correlation with PTH, biochemical bone turnover markers and bone**

mineral density, among patients from ambulatories. Arq Bras Endocrinol Metabol. Apr., v.52, n.3, p.482-8. 2008.

STRÖM O, BORGSTRÖM F, KANIS JA, COMPSTON J, COOPER C, MCCLOSKEY EV, JÖNSSON B. **Osteoporosis: burden, health care provision and opportunities in the EU.** A report prepared in collaboration with the International Osteoporosis Foundation (IOF) and the European Federation of Pharmaceutical Industry Associations (EFPIA). Arch Osteoporos. Dec., v.6, p.59-155. 2011.

SZULC P. **The role of bone turnover markers in monitoring treatment in postmenopausal osteoporosis.** Clin Biochem. Aug., v.45, n.12, p.907-19. 2012.

SWAMI S, KRISHNAN AV, WANG JY, JENSEN K, HORST R, ALBERTELLI MA, FELDMAN D. **Dietary vitamin D₃ and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ (calcitriol) exhibit equivalent anticancer activity in mouse xenograft models of breast and prostate cancer.** Endocrinology. Jun., v.153, n.6, p.2576-87. 2012.

TACO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos.** 4. ed. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2011. 161 p. Disponível em: http://www.nepa.unicamp.br/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf?arquivo=taco_4_versao_ampliada_e_revisada.pdf. Acesso em: 16 de agosto de 2017.

THACHER TD, CLARKE BL. **Vitamin D insufficiency.** Mayo Clin Proc. Jan., v.86, n.1, p.50-60. 2011.

TAKEDA E, YAMAMOTO H, YAMANAKA-OKUMURA H, TAKETANI Y. **Increasing Dietary Phosphorus Intake from Food Additives: Potential for Negative Impact on Bone Health.** American Society for Nutrition. Adv. Nutr. Jan., v.5, n.1, p.92-97, 2014.

TELLA SH, GALLAGHER JC. **Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis.** J Steroid Biochem Mol Biol. Jul., v.142, p.155-170. 2014.

THE WHOQOL GROUP. **The World Health Organization quality of life assessment (WHOQOL): position paper from the World Health Organization.** Soc Sci Med. Nov., v.41, n.10, p.1403-1409. 1995.

TIRAPEGUI, J.; CASTRO, I.A.; ROSSI, L. Biodisponibilidade de Proteínas. In: COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes.** 4. ed. Barueri, SP: Manole, 2012. Cap.6, p.133-92.

TUCKER KL, HANNAN MT, CHEN H, CUPPLES LA, WILSON PWF, KIEL DP. **Potassium, magnesium, and fruit and vegetable intakes are associated with greater bone mineral density in elderly men and women.** Am J Clin Nutr. Apr., v.69, n.4, p.727-36. 1999.

TUCKER KL, CHEN H, HANNAN MT, CUPPLES LA, WILSON PWF, FELSON D, KIEL DP. **Bone mineral density and dietary patterns in older adults: the Framingham Osteoporosis Study.** Am J Clin Nutr. Jul., v.76, n.1, p.245-52. 2002.

TUCKER KL, MORITA K, QIAO N, HANNAN MT, CUPPLES LA, KIEL DP. **Colas, but not other carbonated beverages, are associated with low bone mineral density in older**

women: The Framingham Osteoporosis Study. Am J Clin Nutr. Oct., v.84, n.4, p.936-42. 2006.

UCRiverside. University of California. **Vitamin D: History of vitamin D**. Disponível em: <https://vitamind.ucr.edu/about/>. Acesso em 15 de dezembro de 2018.

URIBARRI J, CALVO MS. **Dietary Phosphorus Excess: A Risk Factor in Chronic Bone, Kidney, and Cardiovascular Disease?** American Society for Nutrition. Adv. Nutr. Sep., v.4, n.5, p.542-544. 2013.

van SCHOOR N, LIPS P. **Global Overview of Vitamin D Status**. Endocrinol Metab Clin North Am. Dec., v.46, n.4, p.845-870. 2017.

VAVRUSOVA M, SKIBSTED LH. **Calcium nutrition. Bioavailability and fortification**. Lebensm Wiss Technol - Food Science and Technology. Dec., v.59, n.2, p.11980-1204. 2014.

VISSEER MC, FLETCHER AE, PARR G, SIMPSON A, BULPITT CJ. **A comparison of three quality of life instruments in subjects with angina pectoris: The Sickness Impact Profile, the Nottingham Health Profile, and the Quality of Well Being Scale**. J Clin Epidemiol. Feb., v.47, n.2, p.157-63. 1994.

VOLKERT D, BECK AM, CEDERHOLM T, CRUZ-JENTOFIT A, GOISSER S, HOOPER L, KIESSWETTER E, MAGGIO M, RAYNAUD-SIMON A, SIEBER CC, SOBOTKA L, ASSELT DV, WIRTH R, BISCHOFF SC. **ESPEN guideline on clinical nutrition and hydration in geriatrics**. Clin Nutr. Feb., v.38, n.1, p.10-47. 2019.

WANG X, OUYANG Y, LIU J, ZHU M, ZHAO G, BAO W, HU FB. **Fruit and vegetable consumption and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies**. BMJ. Jul., v.349, n.g4490. 2014.

WARE JE, SHERBOURNE CD. **The MOS 36-item short-form health survey (SF-36) I: conceptual framework and item selection**. Med Care. Jun., v.30, n.6, p.473-83. 1992.

WARRINER AH, PATKAR NM, CURTIS JR, DELZELL E, GRAY L, KILGORE M, SAAG K. **Which fractures are most attributable to osteoporosis?** J Clin Epidemiol. Jan., v.64, n.1, p.46-53. 2011.

WEAVER CM, HEANEY RP. **Nutrition and Osteoporosis**. American Society for Bone and Mineral Research. [S.l.:s.n.], 2008. Chapter 40.

WEAVER CM, DAWSON-HUGHES B, RIZZOLI R, HEANEY RP. **Nutritional Support for Osteoporosis**. In: BILEZIKIAN JP. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. 9 ed. [S.l.]: John Wiley & Sons; 2019. Cap. 69, p.534-540.

WEAVER CM, GORDON CM, JANZ KF, KALKWARF HJ, LAPPE JM, LEWIS R, O'KARMA M, WALLACE TC, ZEMEL BS. **The National Osteoporosis Foundation's position statement on peak bone mass development and lifestyle factors: a systematic review and implementation recommendations**. Osteoporos Int. Apr., v.27, n.4, p.1281-1386. 2016.

WHO. World Health Organization. **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases.** Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. WHO Technical Report Series n.916. Geneva: [s.n.], 2003.

_____. **Burden of disease in DALYs by cause, sex, and mortality stratum in WHO regions, estimates for 2002.** The World Health Report changing history. Geneva: [s.n.], 2004. p.126–31.

WHO. World Health Organization. **Global Health and Aging.** National Institute on Aging. National Institutes of Health. U.S. Department of Health and Human Services. 2011. Disponível em: http://www.who.int/ageing/publications/global_health.pdf?ua=1. Acesso em: 09 de dezembro de 2018.

_____. Nutrition. **Nutrition for older persons.** Disponível em: <http://www.who.int/nutrition/topics/ageing/en/>. Acesso em 09 de dezembro de 2018.

_____. The WHOQOL Group. **The World Health Organization quality of life assessment (WHOQOL): position paper from the World Health Organization.** Soc Sci Med. Nov., v.41, n.10, p.1403-1409. 1995.

_____. **Adopting a healthy lifestyle helps reduce the risk of dementia.** Disponível em: <https://www.who.int/news-room/detail/14-05-2019-adopting-a-healthy-lifestyle-helps-reduce-the-risk-of-dementia>. Acesso em 18 de maio de 2019.

XIE H-L, WU B-H, XUE W-Q, HE M-G, FAN F, OUYANG W-F, TU S-L, ZHU H-L, CHEN Y-M. **Greater intake of fruit and vegetables is associated with a lower risk of osteoporotic hip fractures in elderly Chinese: a 1:1 matched case-control study.** Osteoporos Int. Nov., v.24, n.11, p.2827-36. 2013.

YANG YJ, KIM J. **Factors in relation to bone mineral density in Korean middle-aged and older men: 2008-2010 Korea National Health and Nutrition Examination Survey.** Ann Nutr Metab. Jun., v.64, n.1, p.50-9. 2014.

ZANCHETTA J. **Auditória Regional da América Latina: Epidemiologia, custos e ônus da osteoporose em 2012.** International Osteoporosis Foundation. 2012. Disponível em: https://www.iofbonehealth.org/sites/default/files/media/PDFs/Regional%20Audits/2012-Latin_America_Audit-PT_0_0.pdf. Acesso em: 26 de dezembro de 2018.

ZENG F-f, WU B-h, FAN F, XIE H-l, XUE W-q, ZHU H-l, CHEN Yu-m. **Dietary Patterns and the Risk of Hip Fractures in Elderly Chinese: A Matched Case-Control Study.** Clin Endocrinol Metab. Jun., v.98, n.6, p.2347-55. 2013.

ZERBINI CA, SZEJNFELD VL, ABERGARIA BH, MCCLOSKEY EV, JOHANSSON H, KANIS JA. **Incidence of hip fracture in brazil and the development of a Frax model.** Arch Osteoporos. Dec., v.10, p.224. 2015.

ZHAO JG, ZENG XT, WANG J, LIU L. **Association Between Calcium or Vitamin D Supplementation and Fracture Incidence in Community-Dwelling Older Adults: A Systematic Review and Meta-analysis.** JAMA. Dec., v.318, n.24, p.2466-2482. 2017.

ZHU F, DU B, XU B. **Anti-inflammatory effects of phytochemicals from fruits, vegetables, and food legumes: A review.** Crit Rev Food Sci Nutr. , v.58, n.8, p.1260-70. 2018.

ANEXOS

Questionário SF-36 (traduzido)

Sua Saúde e Bem-Estar

Este questionário lhe pergunta sua opinião sobre sua saúde. Esta informação nos ajudará a saber como você se sente, e como você é capaz de desempenhar suas atividades usuais. Muito obrigado por responder a este questionário!

Por favor, para cada uma das perguntas a seguir marque com um o quadrado que melhor corresponde à sua resposta.

1. Em geral, você diria que sua saúde é:

Excelente	Muito boa	Boa	Razoável	Ruim
▼	▼	▼	▼	▼
<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5

2. Comparada a um ano atrás, como você classificaria sua saúde em geral, agora?

Muito melhor agora do que há um ano	Um pouco melhor agora do que há um ano	Quase a mesma de um ano atrás	Um pouco pior agora do que há um ano	Muito pior agora do que há um ano
▼	▼	▼	▼	▼
<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5

3. As seguintes perguntas são sobre atividades que você poderia fazer durante um dia comum. A sua saúde atual limita você nessas atividades? Se for o caso, o quanto?

	Sim, limita muito	Sim, limita um pouco	Não, não limita nem um pouco
	▼	▼	▼

- a Atividades vigorosas, tais como correr, levantar objetos pesados, participar em esportes árduos 1 2 3
- b Atividades moderadas, tais como mover uma mesa, passar aspirador de pó, dançar ou nadar 1 2 3
- c Levantar ou carregar compras de supermercado 1 2 3
- d Subir vários lances de escada 1 2 3
- e Subir um lance de escada 1 2 3
- f Curvar-se, ajoelhar-se ou dobrar-se 1 2 3
- g Andar mais de 1 quilômetro 1 2 3
- h Andar várias centenas de metros 1 2 3
- i Andar cem metros 1 2 3
- j Tomar banho ou vestir-se 1 2 3

4. Nas últimas 4 semanas, durante quanto tempo você teve algum dos problemas abaixo com seu trabalho ou outras atividades diárias regulares por causa de sua saúde física?

Sempre	A maior parte do tempo	Alguma parte do tempo	Uma pequena parte do tempo	Nunca
▼	▼	▼	▼	▼

- a) Diminuiu o tempo em que você trabalhava ou fazia outras atividades? 1..... 2..... 3..... 4..... 5
- b) Realizou menos do que você gostaria? 1..... 2..... 3..... 4..... 5
- c) Esteve limitado/a no tipo de trabalho ou em outras atividades? 1..... 2..... 3..... 4..... 5
- d) Teve dificuldade em fazer seu trabalho ou outras atividades (p.ex: necessitou de um esforço extra)? 1..... 2..... 3..... 4..... 5

5. Nas últimas 4 semanas, durante quanto tempo você teve algum dos problemas abaixo com seu trabalho ou outras atividades diárias regulares, por causa de qualquer problema emocional (como se sentir deprimido/a ou ansioso/a)?

Sempre	A maior parte do tempo	Alguma parte do tempo	Uma pequena parte do tempo	Nunca
▼	▼	▼	▼	▼

- a) Diminuiu o tempo em que você trabalhava ou fazia outras atividades? 1..... 2..... 3..... 4..... 5
- b) Realizou menos do que você gostaria? 1..... 2..... 3..... 4..... 5
- c) Trabalhou ou fez qualquer outra atividade sem o cuidado habitual? 1..... 2..... 3..... 4..... 5

6. Nas últimas 4 semanas, o quanto sua saúde física ou problemas emocionais interferiram em suas atividades sociais normais, em relação a família, amigos, vizinhos ou em grupo?

De forma nenhuma	Ligeiramente	Moderada- mente	Bastante	Extrema- mente
<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5

7. Quanta dor no corpo você teve nas últimas 4 semanas?

Nenhuma	Muito leve	Leve	Moderada	Severa	Muito severa
<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> 6

8. Nas últimas 4 semanas, o quanto a dor interferiu em seu trabalho normal (incluindo tanto o trabalho fora de casa quanto dentro de casa)?

De forma nenhuma	Um pouco	Moderada- mente	Bastante	Extrema- mente
<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5

9. Estas perguntas são sobre como você se sente e como as coisas aconteceram com você nas últimas 4 semanas. Para cada pergunta, por favor dê a resposta que mais se aproxime da maneira como você tem se sentido. Nas últimas 4 semanas, durante quanto tempo...

	Sempre	A maior parte do tempo	Alguma parte do tempo	Uma pequena parte do tempo	Nunca
a) você se sentiu cheio/a de vida?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
b) você se sentiu muito nervoso/a?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
c) você se sentiu tão deprimido/a que nada podia animá-lo/a?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
d) você se sentiu calmo/a e tranquilo/a?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
e) você se sentiu com muita energia?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
f) você se sentiu desanimado/a e deprimido/a?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
g) você se sentiu esgotado/a?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
h) você se sentiu feliz?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5
i) você se sentiu cansado/a?	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5

10. Nas últimas 4 semanas, durante quanto tempo sua saudade física ou seus problemas emocionais interferiram em suas atividades sociais (como visitar amigos, parentes, etc.)?

	Sempre	A maior parte do tempo	Alguma parte do tempo	Uma pequena parte do tempo	Nunca
	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5

11. O quanto VERDADEIRA ou FALSA é cada uma das seguintes afirmações para você?

Definitivamente verdadeira	A maioria das vezes verdadeira	Não sei	A maioria das vezes falsa	Definitivamente falsa
▼	▼	▼	▼	▼

- a Eu costumo adoecer um pouco mais facilmente do que outras pessoas..... 1..... 2..... 3..... 4..... 5
- b Eu sou tão saudável quanto qualquer outra pessoa que conheço 1..... 2..... 3..... 4..... 5
- c Eu acho que minha saúde vai piorar..... 1..... 2..... 3..... 4..... 5
- d Minha saúde é excelente 1..... 2..... 3..... 4..... 5

Muito obrigado por responder a este questionário!