

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA
ȘCOALA DOCTORALĂ**

REZUMAT

**STUDIUL OSTEOPOROZEI PRIN UTILIZAREA
BIOMARKERILOR**

CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:

Prof.univ.dr. LILIANA NOVAC

STUDENT-DOCTORAND:

PAVEL OANA ROXANA

CRAIOVA

2016

CUPRINS

CUVINTE CHEIE

INTRODUCERE

STADIUL CUNOAȘTERII:

Capitolul I. STANDARDE EPIDEMIOLOGICE PENTRU SCREENINGUL OSTEOPOROZEI

Capitolul II. PATOGENIA OSTEOPOROZEI

Capitolul III. MARKERII BIOCHIMICI AI TURNOVER-ULUI OSOS

Capitolul IV. DIAGNOSTICUL ȘI TRATAMENTUL OSTEOPOROZEI

CONTRIBUȚII PROPRII:

Capitolul I. SCOPUL, OBIECTIVELE ȘI MOTIVAȚIA CERCETĂRII

Capitolul II. MATERIAL ȘI METODĂ

Capitolul III. REZULTATELE OBȚINUTE

- *Investigațiile metabolice*
- *Markerii biochimici ai turnover-ului osos*
- *Investigațiile hormonale*
- *Absorbțimetria duală cu raze X(DEXA)*
- *Evaluarea riscului de fractură*
- *Studiul histopatologic*
- *Studiul biostatistic*

Capitolul IV. DISCUȚIA ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR

CONCLUZII FINALE

BIBLIOGRAFIE

CUVINTE CHEIE:osteoporoză,biomarkerii turnover-ului osos,risc de fractură,DEXA

INTRODUCERE:

Osul este un țesut dinamic care suferă un proces continuu de remodelare prin intermediul a două procese opuse, formarea de os nou și respectiv resorbția osului vechi. În condiții normale, formarea și resorbția osoasă sunt cuplate, astfel încât cantitatea de os resorbită este egală cu cantitatea de os nou formată.

Când degradarea și formarea osului nu sunt echilibrate (când mai mult os este distrus decât format) se produce diminuarea masei osoase.

În consecință, osteoporoza (boală al cărui nume provine din latină și înseamnă "os poros") este definită ca o afecțiune sistemică a scheletului, caracterizată prin: scăderea masei osoase,deteriorarea microarhitecturii țesutului osos,creșterea fragilității masei osoase și exagerarea riscului de fractură.

Osteoporoza este în general recunoscută ca o problemă importantă de sănătate publică din cauza morbidității semnificative și a costurilor aferente complicațiilor sale, și anume fracturile de șold, coloană vertebrală, antebraț și alte segmente ale scheletului. Osteoporoza este o boală complet asimptomatică până în momentul în care determină o fractură. Altfel spus, manifestările sale clinice sunt cele ale fracturilor cu care se complică, indiferent la care sediu apar acestea. Este una dintre puținele situații din patologia medicală, în care o boală debutează clinic prin principala sa complicație și astfel această stare de lucruri face dificil, dar nu imposibil, diagnosticul precoce.

Studiile epidemiologice arată că cel puțin jumătate din populația cu fracturi osteoporotice face parte din persoanele cu osteopenie (densitate osoasă scăzută), care cuprind un segment mai mare al populației decât cele cu osteoporoză.

În practica de zi cu zi, există o nevoie urgentă pentru clinicieni de a avea un model care estimează riscul absolut de fractură la pacienții lor, deoarece deciziile cu privire la posibilitatea de a trata sau nu pacienții cu medicamente antiosteoporotice trebuie să se bazeze pe eficacitatea acestor medicamente, dar de asemenea și pe riscul de fractură.

În toate situațiile de deficit estrogenic apare o creștere a remodelării osoase, având ca urmare alterarea microarhitecturii osoase și pierderea de masă osoasă. Acest lucru este mai evident după menopauză.

Dozarea biomarkerilor osoși este utilă în a demonstra metabolismul dinamic al osului.

Dozările seriate ale markerilor osoși se pot folosi pentru monitorizarea răspunsului la tratament.

Studiile clinice au arătat corelația dintre markerii formării și resorbției osoase și rata de pierdere osoasă.

Markerii osoși pot fi priviți ca un factor de risc pentru pierderea rapidă osoasă din postmenopauză.

STADIUL CUNOAȘTERII:

Capitolul I -“Standarde epidemiologice pentru screeningul osteoporozei” prezintă definiția și clasificarea osteoporozei, date recente despre incidența și screeningul osteoporozei precum și despre influența acestora asupra calității vieții.

Capitolul II -“Patogenia osteoporozei” trece în revistă structura și formarea osului, principalele mecanisme patogenice ale osteoporozei, precum și principalii factori implicați în osteoporoză.

Capitolul III -“Markerii biochimici ai turnover-ului osos” prezintă date despre biomarkerii osteoformării și ai resorbției osoase, principalii factori implicați în biovariabilitatea acestora, și date recente despre aspectele clinice legate de markerii osoși.

Capitolul IV- “Diagnosticul și tratamentul osteoporozei” trece în revistă principalele metode de screening și de diagnostic al osteoporozei, evaluarea riscului de fractură de fragilitate osteoporotică, precum și date recente despre mijloacele terapeutice folosite.

CONTRIBUȚII PROPRII:

Capitolul I. SCOPUL, OBIECTIVELE ȘI MOTIVAȚIA CERCETĂRII

SCOPUL lucrării este de a studia rolul biomarkerilor turnover-ului osos în diagnosticul de osteoporoză, precum și implicarea lor în monitorizarea eficacității tratamentului antiosteoporotic.

OBIECTIVELE SPECIFICE pe care ne propunem să le realizăm prin această cercetare sunt:

- Evaluarea biomarkerilor turnover-ului osos la pacientele luate în studiu
- Evaluarea densității minerale osoase, scorului T și a riscului de fractură la pacientele cu osteoporoză de postmenopauză
- Evaluarea din punct de vedere histopatologic a modificărilor turnover-ului osos asociate osteoporozei postmenopausale

- Evaluarea corelațiilor dintre valorile serice ale biomarkerilor turnover-ului osos și vârstă, BMD, scor T inițial, riscul de fractură
- Evaluarea variației valorilor serice ale biomarkerilor turnover-ului osos după 6 luni/1 an de tratament antiosteoporotic la pacientele luate în studiu
- Evaluarea corelației între vârstă, vârsta menopauzei, numărul de ani de la instalarea menopauzei și variația markerilor osoși la 6 și la 12 luni de tratament
- Evaluarea variației scorului T, a BMD și a riscului de fractură la 1 an de tratament antiosteoporotic
- Evaluarea corelațiilor între variația BMD, scor T, riscului de fractură și variația markerilor osoși la 12 luni de tratament
- Evaluarea markerilor osoși, a BMD, scor T, risc de fractură, diferențiat, în funcție de tratamentul folosit, la 12 luni de terapie antiosteoporotică
- Evaluarea corelațiilor dintre valorile serice inițiale ale markerilor osoși și răspunsul BMD, scorului T și al riscului de fractură la terapia antiosteoporotică
- Evaluarea corelațiilor dintre variația BMD, scor T, riscului de fractură și variația markerilor osoși la 12 luni de tratament.

Capitolul II. MATERIAL ȘI METODĂ

Cazurile luate în studiu au fost selectate prin ambulatoriul de specialitate Endocrinologie și internate în Clinica de Endocrinologie a Spitalului Clinic Județean de Urgență din Craiova în perioada 2011– 2015.

Pe parcursul acestei perioade menționate, pacientele au fost introduse în studiu prin semnarea unui consimțământ informat, fiind supuse unui protocol de investigare stabilind setul de parametri cuantificabili, specifici, de urmărire a cazurilor.

Pentru stabilirea diagnosticului etiologic au fost folosite **criteriile clinice** (anamneză, examen obiectiv) și **paraclinice**.

Cercetarea metabolismului osos s-a efectuat prin studiul markerilor biochimici ai turnover-ului osos: osteocalcina serică și crossLaps, care au fost evaluate în laboratorul de biochimie al Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova, pe serurile prelevate de la pacienții internați în Clinica de Endocrinologie din Craiova în cadrul Programului Național de Osteoporoză.

Măsurarea nivelului plasmatic al osteocalcinei s-a efectuat prin electrochemiluminiscență (ECLIA).

Evaluarea densității minerale osoase în vederea depistării osteoporozei s-a făcut prin absorbtionometrie duală cu raze X. Absorbtiometria duală cu raze X (DEXA) este considerată "standardul de aur" pentru diagnosticul osteoporozei.

Diagnosticul de osteopenie și osteoporoză se stabilește conform criteriilor recomandate de Organizația Mondială a Sănătății pe baza valorii scorului T:

- DMO normală: scorT \pm 1DS;
- Osteopenie: scorT între -1 și -2,5DS;
- Osteoporoză: scorT sub -2,5DS;
- Osteoporoză severă de fragilitate: scorT sub -2,5DS în prezența unei fracturi.

Evaluarea riscului de fractură s-a făcut prin metoda FRAX.

Studiul histopatologic s-a efectuat pe fragmente de țesut osos recoltate în urma intervenției chirurgicale, respectiv capul și colul femural, tratate special și colorate cu hematoxilină-eozină și tricromicul cu verde lumină Goldner-Szekely.

Pentru **prelucrarea datelor** s-au folosit programul Microsoft Excel (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA), împreună cu suita XLSTAT pentru MS Excel (Addinsoft SARL, Paris, Franța) și programul IBM SPSS Statistics 20.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA).

Parametrii mășurați pentru subiecții incluși în acest studiu au fost stocați în fișiere Excel.

Prelucrarea secundară a datelor, calcularea parametrilor statistici fundamentali, media și deviația standard, a raportului lor – coeficientul de variație și reprezentarea lor grafică a fost efectuată cu programul Excel, cu ajutorul comenzilor Pivot Tables, Functions-Statistical, Chart și modulului Data Analysis. Pentru realizarea testelor de normalitate a datelor (Shapiro-Wilks și Anderson-Darling) și a testelor Student și ANOVA s-au folosit comenzi din modulul XLSTAT.

Capitolul III. REZULTATELE OBȚINUTE

ANALIZA GENERALĂ A PACIENTELOR STUDIATE

Pacientele au fost repartizate în funcție de criteriul instalării menopauzei în:

- 75 de paciente cu osteoporoză și menopauză fiziologică, cu vârste între 52-79 ani, dintre care:
 - 8 paciente cu menopauză fiziologică precoce
 - 67 paciente cu menopauză fiziologică
- 22 de paciente cu menopauză chirurgicală, cu vârste între 45-80 ani, dintre care:
 - 6 paciente cu menopauză chirurgicală instalată pînă la vârsta de 40 de ani

→ 16 paciente cu menopauză chirurgicală instalată peste vârsta de 40 de ani.

ANALIZA BIOSTATISTICĂ A PACIENTELOR STUDIAȚE

Analiza cazurilor studiate, urmărind anamneza și examenul clinic ne-a permis evidențierea datelor căutate în studiu. Prelucrarea datelor s-a realizat prin intermediul analizei statistice realizată prin utilizarea unor indicatori statistici aplicați la cazuistica studiată. Determinarea valorilor serice inițiale ale osteocalcinei și β -crosslaps la toate pacientele luate în studiu a evidențiat valori corespunzătoare (sau mai mari) perioadei de postmenopauză.

La toate pacientele s-a calculat prin metoda DEXA scorul T și BMD, stabilindu-se astfel diagnosticul de osteoporoză, iar prin intermediul algoritmului FRAX-riscul de fractură de fragilitate, vertebrală sau non-vertebrală.

Studiul histopatologic a evidențiat reducerea semnificativă a numărului de osteocite și osteoplaste, mai ales în lamelele interne ale osteoanelor, canalelele Havers lărgite cu vascularizație săracă și linii de microfracturi mai abundente la nivelul sistemelor interhaversiene. Atât la nivelul sistemelor haversiene, cât și a sistemelor interhaversiene s-au remarcat procese de demineralizare osoasă.

Analiza biostatistică ne-a evidențiat următoarele:

- la pacientele cu menopauză precoce luate în studiu există o corelație slabă între markerii osoși și vârstă, respectiv numărul de ani de la instalarea menopauzei, luând în considerare primul prag statistic ($r > 0,3$).
- la pacientele cu menopauză precoce există o corelație între valoarea medie a osteocalcinei și β -crosslaps seric și riscul de fractură majoră, vertebrală sau non-vertebrală: $r = 0,474$; $r = 0,378$ pentru osteocalcina serică și $r = 0,345$, $r = 0,245$ pentru β -crosslaps.
- există o corelație inversă între IMC și riscul de fractură osteoporotică ($r = -0,299$; $p = 0,003$ respectiv $r = -0,356$; $p = 0$), adică un IMC cu atât mai crescut este asociat cu un risc mai scăzut de fractură, corelație mai puternică în cazul celor cu menopauză precoce.
- există o corelație directă între riscul de fractură și numărul de ani trecuți de la instalarea menopauzei ($r = 0,495$ respectiv $r = 0,591$).

- există o corelație puternică($r=0,795;p=0,001$ respectiv $r=0,859;p=0$) între vârsta pacientei și riscul de fractură osteoporotică,vertebrală sau nonvertebrală,mai puternică în cazul celor cu menopauză precoce.
- există o corelație puternică între BMD și scorul T inițial($r=0,906$)cu diferențe mici în favoarea pacientelor cu menopauză peste 40 de ani

După stabilirea tuturor acestor date,la toate pacientele luate în studiu s-a instituit tratament antiosteoporotic:23 de paciente (16 paciente cu osteoporoză și menopauză naturală și 7 paciente cu osteoporoză și menopauză chirurgicală) tratament cu ranelat de stronțiu,14 paciente (10 paciente cu osteoporoză și menopauză naturală și 4 paciente cu osteoporoză și menopauză chirurgicală)-terapie de substituție hormonală și 60 paciente (49 paciente cu osteoporoză și menopauză naturală și 11 paciente cu osteoporoză și menopauză chirurgicală)-tratament cu bifosfonați. De menționat că toate pacientele au primit terapie cu suplimente de calciu (800-1200 mg/zi) și de vitamina D (500-1000 UI/zi).

La 6 luni de la inițierea tratamentului,la toate pacientele luate în studiu s-a efectuat bilanțul biochimic,cu repetarea dozărilor pentru osteocalcină și β -crosslaps seric,evidențiindu-se o scădere medie de 29,75% pentru osteocalcină și de 29,77% pentru β -crosslaps față de valorile serice inițiale.

La 12 luni de la inițierea tratamentului, la toate pacientele luate în studiu s-a efectuat bilanțul biochimic,cu repetarea dozărilor pentru osteocalcina și β -crosslaps seric, evidențiindu-se o scădere medie de 39,84% pentru osteocalcină și de 39,31% pentru β -crosslaps față de valorile serice inițiale.

Pentru sublotul pacientelor cu menopauză precoce,variația nivelelor serice ale markerilor turnover-ului osos după 12 luni de tratament se corelează puternic($r=0,649;p=0,012;r=0,506$)cu vârsta pacientelor și cu vârsta menopauzei($r=0,534;p=0,049;r=0,338$),cu o discretă diferență în favoarea markerilor osteoformării.

După 12 luni de tratament s-a determinat din nou,prin măsurătoare DEXA ,scorul T și BMD la toate pacientele luate în studiu,evidențiindu-se o creștere medie de 3,31% a scorului T și de 2,35% a BMD.

Pe baza acestor rezultate,analiza biostatistică ne-a evidențiat următoarele:

- Valorile serice inițiale ale markerilor osteoformării se corelează mai bine cu scăderea riscului de fractură decât cele ale markerilor resorbției osoase.

- există o corelație inversă între scăderea nivelelor serice ale osteocalcinei și β -crosslaps la 12 luni de tratament și creșterea BMD($r=-0,193;p=0,05;r=-0,201;p=0,048$) și a scorului T($r=-0,214;p=0,035;r=-0,135;p=0,042$).
- variațiile markerilor osoși la 12 luni de tratament antiosteoporotic se corelează atât cu BMD ($r=0,476;r=-0,256$) și scorul T($r=0,248;r=-0,142$),cât și cu variațiile BMD și ale scorului T($r=0,362;r=0,197$)
- Există o corelație între variația markerilor osoși și scăderea riscului de fractură ($r=-0,556;p=0,039;r=-0,556;p=0,039;r=0,377;r=0,376$).Această corelație este mai puternică pentru sublotul de paciente cu menopauză precoce .

CONCLUZII FINALE:

1)În ultimele decenii,osteoporoza a devenit o problemă de sănătate publică în întreaga lume,având o incidență tot mai mare datorită creșterii speranței de viață.

2) Pierderea osoasă legată de vârstă este asimptomatică, iar morbiditatea dată de osteoporoză este secundară fracturilor de fragilitate care apar.

3) Identificarea femeilor aflate în postmenopauză cu risc ridicat de fracturi este o prioritate,fapt deosebit de important pentru femeile din postmenopauza precoce care pot beneficia de o intervenție timpurie pentru a menține sau a crește masa osoasă și, astfel, de a reduce riscul de fracturi

4)Dozarea markerilor osoși,atât cei ai osteoformării,cât și cei ai resorbției osoase,este utilă în a demonstra metabolismul dinamic al osului.

5)Deoarece aproximativ 30% dintre pacienții cu fracturi de fragilitate nu au scor T de osteoporoză,este nevoie de noi mijloace de diagnostic pentru identificarea persoanelor cu risc de fractură.

6)Dozarea biomarkerilor turnover-ului osos este eficientă în identificarea acelor femei cu pierdere osoasă mai rapidă,acest lucru fiind important, deoarece acest grup răspunde mai bine la terapia antiresorbtivă.

7)Există o corelație între valorile serice ale biomarkerilor și BMD în timpul tratamentului cu bifosfonat, asocierea fiind mai puternică odată cu avansarea în vârstă.

8)Biomarkerii turnover-ului osos pot fi folosiți pentru a monitoriza eficacitatea tratamentului înainte ca modificările DMO să poate fi evaluate.

9)Variațiile anticipate ale valorilor lor serice pot fi folosite pentru a determina eficacitatea clinică a tratamentului și pentru a crește complianța pacientului.

10)Utilizarea biomarkerilor turnover-ului osos alături de BMD poate îmbunătăți predicția riscului de fractură la femei în postmenopauză, acest risc fiind crescut la cele cu BMD scăzut și /sau markeri crescuți.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ:

1. AACE. Medical guidelines for clinical practice for the diagnosis and treatment of postmenopausal osteoporosis, *Endocr. Pract.* 2010;16(3):1-37.
2. Ana Carolina Veiga Silva , Maria Inês da Rosa , Bruna Fernandes , Suéli Lumertz , Rafaela Maria Diniz , Maria Eduarda Fernandes dos Reis Damiani.Factors associated with osteopenia and osteoporosis in women undergoing bone mineral density test, *Rev. Bras. Reumatol.* vol.55 no.3 São Paulo May/June 2015.
3. Bauer DC,Garnero ,Hochberg MC et al.Pretreatment levels of bone turnover and the antifracture efficacy of alendronate:the fracture intervention trial.*J Bone Miner Res* 2006;21:292-299.
4. Bergmann P, Body JJ, Boonen S, Boutsen Y, Devogelaer JP, Goemaere S, Kaufman JM, Reginster JY, Gangji V, Members of the Advisory Board on Bone Markers: Evidence-based guidelines for the use of biochemical markers of bone turnover in the selection and monitoring of bisphosphonate treatment in osteoporosis: a consensus document of the Belgian bone club. *Int J Clin Pract* 2009, 63(1):19–26.
5. Castiglioni S, Cazzaniga A, Albisetti W, Maier JAM, Magnesium and Osteoporosis: Current State of Knowledge and Future Research Directions, *Nutrients.* 2013; 5(8): 3022–3033.
6. Clarke B. Normal Bone Anatomy and Physiology, *Clin J Am Soc Nephrol.* Nov 2008; 3(3): S131–S139.
7. Compston JE, Flahive J, Hosmer DW, Watts NB, Siris ES, Silverman S, Saag KG, Roux C, Rossini M, Pfeilschifter J, Nieves JW, Netelenbos JC, March L, LaCroix AZ, Hooven FH, Greenspan SL, Gehlbach SH, Díez-Pérez A, Cooper C, Chapurlat RD, Boonen S, Anderson FA Jr, Adami S, Adachi JD; GLOW Investigators. Relationship of weight, height, and body mass index with fracture risk at different sites in postmenopausal women: the

Global Longitudinal study of Osteoporosis in Women (GLOW). *J Bone Miner Res.* 2014 Feb;29(2):487-93.

8. Das S., Crockett J. Osteoporosis-a current view of pharmaceutical prevention and treatment. *Journal of Drug Design, Development and Therapy.* 2013;7:435–448.

9. Delaney MF. Strategies for the prevention and treatment of osteoporosis during early postmenopause, *Am J Obstet Gynecol.* 2006 Feb;194(2 Suppl):S12-23.

10. Delmas PD (2000) Markers of bone turnover for monitoring treatment of osteoporosis with antiresorptive drugs. *Osteoporos Int* 11: Suppl 6: S66 – S76 .

11. Delmas PD, Eastell R, Garnero P (2000) The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. *Osteoporosis Int* 11(Suppl 6): 2 – 17.

12. Donaldson MG, Palermo L, Schousboe JT, et al. FRAX and risk of vertebral fractures: the fracture intervention trial. *J Bone Miner Res.* 2009;24:1793–1799.

13. Ettinger B, Black DM, Dawson-Hughes B, Pressman AR, Melton LJ 3rd. Updated fracture incidence rates for the US version of FRAX. *Osteoporos Int.* 2010 Jan;21(1):25-33.

14. Garnero P, Delmas PD. Contribution of bone mineral density and bone turnover markers to the estimation of risk of osteoporotic fracture in postmenopausal women. *J Musculoskeletal Neuronal Interact* 2004;4:50-63.

15. Garnero P, Hausherr E, Chapuy MC et al. Markers of bone resorption predict hip fracture in elderly women: the EPIDOS Prospective Study. *J Bone Miner Res* 1996;11:1531-1538.

16. Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. *Ann NY Acad Sci* 2006; 1092: 385-396.

17. Halldorsson BV, Bjornsson AH, Gudmundsson HT, Birgisson EO, Ludviksson BR, Gudbjornsson B. A clinical decision support system for the diagnosis, fracture risks and treatment of osteoporosis. *Comput Math Methods Med.* 2015;2015:189769.

18. Holecki M, Chudek J, Titz-Bober M, Więcek A, Zahorska-Markiewicz B, Duława J. Changes of bone mineral density in obese perimenopausal women during 5-year follow-up. *Pol Arch Med Wewn.* 2012;122(4):139-47.

19. Joseph A. Lorenzo , Ernesto Canalis ,Lawrence G. Raisz, *Metabolic Bone Disease, Williams text book of endocrinology, OSTEOPOROSIS, 12 th edition, 2011, pp.1318-1328.*

20. Kučkalić-Selimović E, Valjevac A, Hadžović-Džuvo A, Skopljak-Beganović A, Alimanovic-Alagić R, Brković A. Evaluation of bone remodeling parameters after one year treatment with alendronate in postmenopausal women with osteoporosis. *Bosn J Basic Med Sci.* 2011 Feb;11(1):41-5.

21. National Osteoporosis Foundation. Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis. Washington, DC: National Osteoporosis Foundation; 2014. accessed at <http://nof.org/files/nof/public/content/file/2791/upload/919.pdf>.
22. P. Garnero Biomarkers for osteoporosis management: utility in diagnosis, fracture risk prediction and therapy monitoring *Mol Diagn Ther*, 2008;12:157-170.
23. Pavel Oana Roxana, Mihaela Popescu, Liliana Novac, Laurențiu Mogoanță, Laurențiu Petrișor Pavel, Vicș Răzvan Marius, Magdalena Rodica Trăistaru. Postmenopausal osteoporosis-clinical, biological and hystopathological aspects. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*; 2016; 57 ;(1):121-130.
24. Pavel Oana Roxana, Liliana Novac, Mihaela Popescu, L.Pavel. Markers of bone turnover - Clinical Aspects, *Current Health Sciences Journal*,; 2015; 41, supplement 7, 5-10.
25. Pavel Oana Roxana , Liliana Novac , Mihaela Popescu, Laurentiu Pavel, Ionut Vasile. Association of DEXA, BMD and markers of bone turnover in management of osteoporosis; *Current Health Sciences Journal*; 2016; 42(2); 29-34.
26. Raisz LG. Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects, *J Clin Invest*. Dec 1, 2005; 115(12): 3318–3325.
27. Rubin KH, Friis-Holmberg T, Hermann AP, Abrahamsen B, Brixen K. Risk assessment tools to identify women with increased risk of osteoporotic fracture: complexity or simplicity? A systematic review. *J Bone Miner Res*, 2013; 28: 1701–1717.