

Exploration biologique des ostéoporoses

Jean-Claude Souberbielle¹ et Catherine Cormier²

¹ Service d'Explorations Fonctionnelles du Pr. G. FRIEDLANDER Hôpital Necker-Enfants malades, 75015 Paris, France

² Service de Rhumatologie du Pr. A. KAHAN, Hôpital Cochin, 75014 Paris, France

Auteur correspondant : Jean-Claude Souberbielle, jean-claude.souberbielle@nck.aphp.fr

Reçu le 29 novembre 2007

Résumé – Bien que les dosages biologiques ne participent pas au diagnostic d'ostéoporose, ils peuvent aider le clinicien pour : 1) identifier des causes d'ostéoporose secondaire, c'est-à-dire des maladies ou des anomalies biologiques qui peuvent induire ou aggraver une ostéoporose. Le bilan biologique à pratiquer dans ce but n'a pas encore fait l'objet d'un consensus. Il faut en effet trouver la juste mesure entre l'efficacité et le coût (prescrire un minimum d'examen tout en détectant un maximum d'anomalies). La majorité des experts s'accordent pour éliminer une pathologie tumorale et en particulier un myélome (électrophorèse des protéines, NFS, VS) et pour faire un bilan phospho-calcique incluant un dosage sanguin de calcium, phosphate, PTH et 25 hydroxy vitamine D. Ce bilan phospho-calcique permettra de détecter de nombreuses anomalies parmi lesquelles on retrouve deux conditions très fréquentes, l'hyperparathyroïdie primitive et le déficit en vitamine D. Des examens complémentaires sont toutefois très souvent nécessaires pour aboutir à un diagnostic définitif devant une anomalie des paramètres de base ; 2) évaluer l'efficacité (mais aussi l'observance) de certains traitements de fond de l'ostéoporose, en particulier les bisphosphonates. On se basera pour cela sur l'évolution après 3-6 mois de traitement de la concentration de certains marqueurs du remodelage osseux. Par exemple, une diminution de plus de 30 % de la concentration sérique de CTX (Télopeptide C-terminal du collagène de type 1) sera le témoin de l'efficacité d'un traitement anti-résorbeur.

Mots clés : Ostéoporose / hormone parathyroïdienne / vitamine D / marqueurs du remodelage osseux

Abstract – Daily clinical practice: Biological testing in osteoporosis.

Although biological testing has nothing to do with the diagnosis of osteoporosis, it can help the physician to: 1) identify secondary causes of low bone mass and/or fracture. There is however currently no consensus to define the biochemical parameters to be measured in this case. The cost-effectiveness of the biological evaluation, that is, measuring a minimum of parameters to detect a maximum of anomalies needs to be considered. Most experts agree that malignancy and especially a myeloma should be ruled out, and that an evaluation of calcium/phosphorus metabolism including the measurement of serum calcium, phosphate, PTH and 25 hydroxy-vitamin D should be performed. This allows to detect many anomalies including two very frequent conditions, primary hyperparathyroidism and vitamin D deficiency. Note however that complementary testing is generally needed to identify other diseases; 2) evaluate efficacy and observance of some osteoporosis treatments especially oral bisphosphonates. In this case, the evolution of the blood or urine level of some markers of bone turnover over a 3-6 month period after the initiation of therapy will be considered. For example, a decrease of more than 30% in the serum concentration of CTX (C-terminal telopeptide of type I collagen) will be regarded as a significant change indicating that treatment has reduced bone resorption.

Key words: Osteoporosis / biological testing / parathyroid hormone / vitamin D / markers of bone turnover

L'ostéoporose est un problème de santé publique important et en constante augmentation (en relation avec le vieillissement de la population). La pathogénie de l'ostéoporose est multifactorielle. On distingue en général les ostéoporoses dites « primitives », dues à un défaut d'acquisition osseuse pendant l'enfance et en particulier pendant la période pubertaire, à une perte osseuse post-ménopausique, à une perte osseuse liée à l'âge ou à un mélange de ces trois causes, et les ostéoporoses dites « secondaires » et consécutives à des pathologies ou à des traitements médicamenteux. L'os est un tissu en constant renouvellement grâce à un processus appelé remodelage. Le remodelage osseux correspond à la destruction (ou résorption) d'os « vieux » par les ostéoclastes suivie par la formation d'os « jeune », mieux à même de résister aux contraintes, par les ostéoblastes. Chez un adulte jeune, les ostéoblastes remplacent intégralement l'os détruit par les ostéoclastes. Dans certaines situations physiologiques (ménopause, vieillissement) ou pathologiques, cela n'est plus vrai et chaque cycle de remodelage a pour conséquence un micro-déficit osseux entraînant une perte osseuse plus ou moins importante. Les signaux initiateurs du remodelage osseux sont largement transmis par le sang et le remodelage touche plus souvent l'os trabéculaire, plus vascularisé, que l'os cortical. Les mécanismes responsables de la perte osseuse dans l'ostéoporose primitive sont théoriquement spécifiques de différentes périodes de la vie (par exemple le déficit en œstrogènes dans la période post-ménopausique ou la carence vitamino-calcique chez les sujets de plus de 70 ans) mais ils peuvent en fait cohabiter à tout âge.

Si la biologie ne participe pas au diagnostic d'ostéoporose, qui est basé sur la mesure de la densité minérale osseuse (DMO), elle peut par contre aider le clinicien pour :

- rechercher / éliminer une cause d'ostéoporose secondaire,
- l'aider dans sa décision thérapeutique dans certaines situations,
- suivre l'efficacité (mais aussi évaluer l'observance) d'un traitement.

1 Recherche d'une cause d'ostéoporose secondaire

Le remodelage osseux est un phénomène complexe régulé par de très nombreux facteurs locaux (cytokines, facteurs de croissance...) et systémiques (hormones). Si un ou plusieurs de ces facteurs dysfonctionnent, il peut apparaître une ostéoporose. Devant une ostéoporose, un certain nombre de facteurs de risque surajoutés à la carence oestrogénique et à l'âge seront identifiés lors de l'interrogatoire

(par exemple un antécédent d'aménorrhée prolongée, d'anorexie, de traitement au long cours par les corticoïdes, d'immobilisation, etc.), mais il faut savoir que d'autres facteurs peuvent n'avoir jamais été diagnostiqués et être révélés par l'ostéoporose. Le fait de traiter une cause d'ostéoporose secondaire a en général pour conséquence d'augmenter la DMO. Au contraire, le fait d'ignorer une cause d'ostéoporose secondaire peut avoir une influence négative sur l'efficacité de certains traitements à visée osseuse. L'incidence des causes d'ostéoporose secondaire restées non diagnostiquées n'est pas connue mais varie certainement suivant la population. Elle semble importante dans l'ostéoporose masculine, chez la femme ostéopénique en période de « péréménopause » et plus généralement chez la femme ménopausée ostéoporotique sans facteurs de risque évidents (par exemple une femme ostéoporotique de 60 ans sans antécédent particulier, et ayant eu un traitement hormonal substitutif bien suivi et à bonne dose depuis la ménopause). Alors qu'un bilan biologique minimal devrait être pratiqué devant toute ostéoporose, la réalité est bien différente comme le rapportent toutes les enquêtes sur le sujet.

Il n'existe pas à l'heure actuelle de consensus sur la définition du bilan biologique pour éliminer une ostéoporose secondaire. Les paragraphes qui suivent sont des propositions.

a) Bilan systématique à faire devant toute ostéoporose

Ce bilan aura pour but :

- d'éliminer un processus tumoral ou infiltratif et en particulier un myélome (NFS-plaquettes, VS, électrophorèse des protéines et protéinurie des 24 heures),
- d'éliminer une anomalie du métabolisme phosphocalcique : calcémie, phosphatémie et calciurie des 24 heures, dosage de la parathormone (PTH), dosage de la 25OH vitamine D. Afin d'éviter les fausses hyper- ou hypocalcémies, il est fortement conseillé d'effectuer une correction de la calcémie par la protidémie ou mieux par l'albuminémie. Il est également conseillé d'ajouter la mesure de la créatinine urinaire (pour documenter la validité du recueil des 24 heures) et du sodium (Na) urinaire (une hypernatrurie pouvant expliquer une hypercalciurie). Il faut noter toutefois que, bien qu'à notre avis la mesure de la calciurie des 24 heures soit importante et permette de détecter de nombreuses anomalies, le recueil des urines des 24 heures dans de bonnes conditions est délicat et peut être une importante source d'erreurs. C'est la raison pour laquelle la mesure de la calciurie des 24 heures n'a pas été conseillée en première intention par les experts français de

Tableau 1. Situations à éliminer chez des patients normocalcémiques ayant une PTH sérique élevée avant d'envisager le diagnostic d'hyperparathyroïdie primitive normocalcémique.

- Insuffisance en vitamine D définie par une concentration sérique de 25OHD < ou = à 30
- Très faibles apports calciques alimentaires
- Malabsorption, en particulier maladie cœliaque
- Prise de bisphosphonates (actuelle ou dans les 6 derniers mois)
- Prise d'anticonvulsivants (pouvant induire une insuffisance en vitamine D)
- Hypercalciurie de type « rénale », authentifiée par un test de charge calcique
- Prise de diurétiques de l'anse
- Insuffisance rénale dont la définition en terme de débit de filtration glomérulaire doit être précisée (<30 ml/mn)
- Faibles apports alimentaires en protides

l'ostéoporose lors d'un projet de mise en place de recommandations par la Haute Autorité de Santé.

- de documenter la fonction rénale (créatinine) et hépatique (phosphatases alcalines). Une élévation de l'activité des phosphatases alcalines permettra également de suspecter une ostéomalacie.

b) Bilan non systématique à n'effectuer que si il existe des symptômes ou signes évocateurs

- recherche d'une hyperthyroïdie (TSH) chez les patientes ayant des signes cliniques évocateurs, mais aussi chez celles recevant une thérapie par les hormones thyroïdiennes à visée de freination de la TSH et certains le proposent chez toutes les femmes âgées (>70 ans?) même asymptomatiques ;
- recherche d'un hypercorticisme (cortisolurie des 24 heures) ;
- recherche d'une maladie cœliaque (anticorps anti-endomysium, anti-transglutaminase).

c) Cas particulier de l'ostéoporose masculine

En plus des examens cités plus haut, il conviendra d'éliminer :

- un hypogonadisme (testostéronémie, FSH, LH mais la stratégie diagnostique varie d'une école à une autre),
- une hémochromatose (dosage de ferritinémie ...).

d) Examens à pratiquer si le bilan initial est perturbé

Devant une hypercalcémie, une PTH haute (ou normale haute) sera dans l'extrême majorité des cas le reflet d'une hyperparathyroïdie primitive, pathologie fréquente en particulier chez les femmes

ménopausées et dont le traitement actuel est chirurgical. Ce diagnostic est important car l'ostéoporose densitométrique, quel que soit le site de mesure de la DMO, a été considérée lors d'une conférence de consensus récente comme un nouveau critère de décision chirurgicale chez des patients ayant une hyperparathyroïdie primitive. Des examens de localisations, échographie parathyroïdienne et scintigraphie au MIBI, permettront de guider le geste opératoire mais leurs négativités n'écartent pas le diagnostic d'hyperparathyroïdie primitive (Bilezikian *et al.*, 2002). Si la moindre ambiguïté diagnostique existe, il faudra faire pratiquer un test de charge calcique dans une unité spécialisée. Lorsque, au contraire, devant une hypercalcémie, la PTH est basse, il faudra alors chercher une cause d'hypercalcémie « non parathyroïdienne » (lyse osseuse, sécrétion de PTHrP, granulomatose, intoxication à la vitamine D, hyperthyroïdie, etc.) et prescrire de nouveaux examens complémentaires pour lesquels une exploration en milieu spécialisé peut être nécessaire. Devant une hypocalcémie ou une normocalcémie, une PTH haute sera dans l'immense majorité des cas le reflet d'une hyperparathyroïdie secondaire pour laquelle encore une fois il faudra trouver une étiologie. En dehors de l'insuffisance rénale, les causes les plus fréquentes d'hyperparathyroïdie secondaire sont les anomalies de la vitamine D, les malabsorptions (maladie cœliaque dont la fréquence semble sous-estimée), la prise d'anticonvulsivants, de bisphosphonate, de diurétique de l'anse et l'hypercalciurie rénale (tableau 1).

Contrairement à l'idée initiale, le statut vitaminique D d'un(e) patient(e) peut être insuffisant alors qu'il n'existe pas d'ostéomalacie avec tableau biologique évocateur (hypocalcémie, hypophosphatémie, élévation des phosphatases alcalines et de la PTH) (Holick, 2007). L'insuffisance en vitamine D peut être responsable d'une « simple » hyperparathyroïdie secondaire modérée (PTH modérément augmentée ou normale haute sans autre anomalie) pouvant aggraver le risque de fracture chez le sujet âgé. Cette situation,

extrêmement fréquente en France, bénéficiera d'une supplémentation en vitamine D associée à une optimisation des apports calciques alimentaires qui permettra une diminution de la concentration de PTH et réduira le risque de fractures périphériques. Il faut souligner le fait qu'un bilan phospho-calcique minimal ignore en général l'insuffisance en vitamine D (calcémie et phosphatémie normales, calciurie normale ou basse mais souvent peu informative) et que le seul examen biologique permettant de faire ce diagnostic est le dosage de la 25 hydroxy vitamine D (25OHD). Rappelons qu'il existe deux formes de vitamine D, la vitamine D₂ et la vitamine D₃, et que, si ces deux produits sont utilisés pour supplémenter les patients, il faut que les dosages de 25OHD reconnaissent les 2 formes (25OHD₂ et 25OHD₃) de la même manière. Bien qu'il n'existe pas encore de consensus définitif quand à la définition des valeurs souhaitables de 25OHD, une concentration minimale de 30 ng/mL (75 nmol/L) est défendue par une majorité d'experts pour définir un état de « suffisance » en vitamine D (Dawson-Hughes *et al.*, 2005). C'est en effet la concentration de 25OHD en-dessous de laquelle la PTH augmente en général à l'échelon d'une population et cette valeur-seuil minimale de 30 ng/mL (75 nmol/L) permet de « profiter » d'effets de la vitamine D dépassant largement le seul domaine de la régulation du métabolisme phospho-calcique, comme par exemple la prévention de certains cancers (Lappe *et al.*, 2007) et maladies auto-immunes ou la prévention des chutes grâce à un effet positif sur le muscle (Bischoff-Ferrari *et al.*, 2004). Pour atteindre et maintenir cette concentration seuil de 30 ng/mL, il semble clair que les apports nutritionnels conseillés (ANC) pour la vitamine D sont insuffisants, en particulier chez les sujets âgés qui s'exposent peu au soleil mais aussi du fait de difficultés d'observance (Vieth *et al.*, 2007). Comme les patients qui ont une insuffisance en vitamine D ont une PTH sérique moyenne supérieure à ceux qui n'ont pas d'insuffisance en vitamine D et que leur concentration sérique de PTH diminue lorsqu'on leur prescrit de la vitamine D, nous avons récemment proposé de ne considérer que des sujets n'ayant pas d'insuffisance en vitamine D pour établir des valeurs de référence pour la PTH sérique (Souberbielle *et al.*, 2001). Ceci suppose donc que la 25OHD doit être mesurée préalablement dans la population de référence recrutée, et que les sujets qui ont une concentration de 25OHD inférieure au seuil définissant l'insuffisance en vitamine D soient éliminés. En appliquant cette théorie, nous avons démontré que la limite supérieure des valeurs de référence de PTH devenait environ 30 % plus basse que celle utilisée habituellement et qui avait été établie dans une population en bonne santé mais chez qui le statut vitaminique D n'avait pas été évalué (46 ng/L au lieu de

65 ng/L avec le dosage que nous avons utilisé). Dans un groupe de 708 patients ostéoporotiques consécutifs chez qui nous avons effectué un bilan phosphocalcique extensif, nous avons ensuite montré que ces nouvelles « normes » de PTH n'induisaient pas d'excès de valeurs faussement élevées alors qu'elles permettaient plus souvent qu'auparavant de trouver des PTH sériques hautes chez des patients ayant une hyperparathyroïdie primitive authentifiée (Souberbielle *et al.*, 2003). Cependant devant une élévation de la PTH avec une normocalcémie, on éliminera scrupuleusement toutes les causes d'élévation secondaire de la PTH. On fera un couple calcium-PTH après correction d'une éventuelle insuffisance en vitamine D. Si aucune cause d'hyperparathyroïdie secondaire n'est retrouvée, on pourra envisager le diagnostic d'hyperparathyroïdie primitive normocalcémique et pratiquer un test de charge calcique ou test de Pak (Maruani *et al.*, 2003). Ce test, qui mesure le calcium ionisé confronté au taux de PTH et qui a pour but de déterminer une étiologie pour une hypercalciurie, permet aussi de mieux affirmer (ou infirmer) un diagnostic d'hyperparathyroïdie primitive face à des anomalies biologiques modérées. Il est nécessaire dans ce cas d'obtenir, en plus des échantillons habituels, un prélèvement sanguin 2 heures et 4 heures après la prise de calcium. On mesurera sur ces échantillons la calcémie ionisée et la PTH. On obtient ainsi 3 couples calcium ionisé/PTH et on s'intéresse également au freinage de la PTH lorsque la calcémie augmente (une absence de freinage de la PTH face à une calcémie qui augmente peut être le reflet d'un dysfonctionnement parathyroïdien). Ce diagnostic d'hyperparathyroïdie primitive normo-calcémique est important car les patients atteints ont, semble-t-il, une atteinte osseuse souvent importante et devraient bénéficier du traitement chirurgical (Lowe *et al.*, 2007).

e) Argumentaires : quelle biologie minimale à réaliser devant une ostéoporose ?

Le seul article apparaissant récemment (< ou = 5 ans) dans une revue de haut niveau et abordant le choix des paramètres biologiques à mesurer chez une femme ménopausée ostéoporotique pour éliminer une cause d'ostéoporose secondaire a été publié en 2002 (Tannenbaum *et al.*, 2002). Il aborde l'aspect coût-efficacité et préconise la mesure systématique de la calcémie, de la calciurie des 24 heures et de la PTH ainsi que de la TSH chez les patientes traitées par hormones thyroïdiennes. Cet article est accompagné d'un éditorial soulignant l'importance que le comité de rédaction accorde à cette problématique (Wagnan & Marcus, 2002). Une lettre publiée dans la même revue et commentant le travail de Tannenbaum souligne l'importance de mesurer systématiquement dans cette situation la 25OHD

en plus des examens proposés, du fait de la grande fréquence de l'insuffisance en vitamine D (Barzel, 2003).

2 Utilisations des marqueurs du remodelage osseux

On les classe en marqueurs de formation (Ostéocalcine, Phosphatase alcaline osseuse, PINP) et marqueurs de résorption (désoxypyridinoline ou DPD et les télopeptides CTX ou NTX).

Les techniques de dosages sont fiables et reproductibles, à condition de respecter certaines précautions (prélèvement le matin à jeun, à distance d'une fracture) : le coefficient de variation biologique (CV) pour les marqueurs sériques est de 10 à 15 %, et pour les marqueurs urinaires de 15 à 25 %. On peut donc calculer la plus petite variation significative ($PPVS = 2,77 \times CV$) qui est inférieure à la variation observée sous la plupart des traitements de l'ostéoporose, ce qui permet donc l'utilisation de ces marqueurs à l'échelon individuel. Lorsque l'on utilisera les marqueurs osseux chez la femme en post ménopause, les valeurs de référence devront être établies chez les femmes de 30 à 50 ans non ménopausées.

Ces marqueurs ont deux utilisations possibles d'une part l'aide à la décision thérapeutique, d'autre part le suivi thérapeutique.

a) Aide à la décision thérapeutique :

Si la décision de traiter ne pose en général pas de problème devant une ostéoporose avec fracture vertébrale, ou devant une densitométrie très basse, il n'en est pas de même dans d'autres situations. Le clinicien s'appuiera alors sur les données de la densitométrie (DMO) sur l'existence de facteurs cliniques de risque de fracture, et sur l'existence d'une élévation des marqueurs osseux. En effet, une concentration d'un marqueur spécifique de la résorption osseuse au dessus des valeurs de référence préménopausiques prédit un risque de perte osseuse rapide, et surtout une augmentation de risque fracturaire indépendamment de la DMO ce qui peut inciter à proposer un traitement. La normalité des marqueurs osseux pourra être, à l'inverse, une incitation à l'abstention thérapeutique avec surveillance, en corrigeant tous les facteurs de risques accessibles à une correction.

b) Suivi thérapeutique :

La reproductibilité de la technique de DMO ne rend possible le suivi qu'après un délai d'au moins deux ans de traitement, et l'augmentation de la DMO n'explique qu'une faible proportion du bénéfice antifracturaire vertébral (4 à 28 %). La variation des marqueurs osseux est rapide en trois

à six mois, et explique plus de 50 % de l'effet anti-fracturaire vertébral et non vertébral. L'amplitude de la variation des marqueurs osseux est différente en fonction du type de médicament. Les marqueurs diminuent de plus de 50 % sous bisphosphonate, de 35 à 40 % sous raloxifène et de moins de 10 % sous ranelate de strontium. Du fait de la variabilité des dosages, la surveillance à l'échelon individuel sera donc impossible sous ranelate de strontium et plus facile sous bisphosphonate que sous raloxifène. Une diminution inférieure à la PPVS pourrait alors inciter à proposer une densitométrie après deux ans de traitement pour dépister des patientes perdues, alors que si la diminution est franche, le contrôle densitométrique se fera seulement en fin de séquence thérapeutique (après 4 à 5 ans de traitement). Sous téraparotide, on constate une augmentation de 200 % du marqueur de formation, le PINP. Plusieurs travaux ont étudié l'influence de la mesure des marqueurs du remodelage osseux sur l'observance aux traitements inhibiteurs de la résorption et en particulier les bisphosphonates. La démonstration (et l'explication) d'une diminution significative d'un marqueur de la résorption osseuse (le NTX urinaire en l'occurrence) a eu pour conséquence une amélioration de l'adhérence à un traitement par Risedronate par comparaison à ce qui était constaté chez des patients traités par le même bisphosphonate mais qui ne bénéficiaient pas d'un suivi par les marqueurs (Delmas *et al.*, 2007). Dans un autre travail, cette amélioration de l'observance sous Risedronate a également été retrouvée mais n'était pas supérieure au gain d'observance consécutif à un entretien avec une infirmière « de recherche » (Clowes *et al.*, 2004).

Références

- Barzel U. Recommended testing in patients with low bone density. *J Clin Endocrinol Metab* [Letter], 2003, 88, 1404–1405.
- Bilezikian J., Potts J.T., El-Hadj Fulheihan G., Kleerekoper M., Neer R., Peacock M., Rastad J., Silverberg S., Udelsman R., Wells S. Summary statement from a workshop on asymptomatic primary hyperparathyroidism: a perspective for the 21st century. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87, 5353–5361.
- Bischoff-Ferrari, Dawson-Hughes B., Willet W., Staehelin H., Bazemore M., Zee R., Wong J. Effect of vitamin D on falls. A meta-analysis. *JAMA*, 2004, 291, 1999–2006.
- Clowes J.A., Peel N.F., Eastell R. The impact of monitoring on adherence and persistence with antiresorptive

- treatment for postmenopausal osteoporosis : a randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89, 1117–1123.
- Dawson-Hughes B., Heaney R., Holick M., Lips P., Meunier P.J., Vieth R. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int*, 2005, 16, 713–716.
- Delmas P., Vrijens B., Eastell R., Roux C., Pols H.A., Ringe J.D., Grauer A., Cahall D., Watts B. Effect of monitoring bone turnover markers on persistence with risedronate treatment of postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92, 1296–1304.
- Holick M. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007, 357, 266–281.
- Lappe J., Travers-Gustafson D., Davies K.M., Recker R., Heaney R. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr*, 2007, 85, 1586–1591.
- Lowe H., McMahon D.J., Rubin M., Bilezikian J., Silverberg S. Normocalcemic primary hyperparathyroidism: further characterization of a new clinical phenotype. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92, 3001–3005.
- Maruani G., Hertig A., Paillard M., Houillier P. Normocalcemic primary hyperparathyroidism : evidence for a generalized target-tissue resistance to parathyroid hormone. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 4641–4648.
- Souberbielle J.C., Cormier C., Kindermans C., Gao P., Cantor T., Forette F., Baulieu EE. Vitamin D status and redefining serum parathyroid hormone reference range. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86, 3086–3090.
- Souberbielle J.C., Lawson-Body E., Hammadi B., Sarfati E., Kahan A., Cormier C. The use in clinical practice of parathyroid hormone normative values established in vitamin D-sufficient subjects. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88, 3501–3504.
- Tannenbaum C., Clark J., Schwartzman K., Wallenstein S., Lapinsky R., Meier D., Luckey M. 2002 Yield of laboratory testing to identify secondary contributors to osteoporosis in otherwise healthy women. *J Clin Endocrinol Metab*, 87, 4431–4437.
- Vieth R., Bischoff-Ferrari H., Boucher B., Dawson-Hughes B., Garland C.F., Heaney R., Holick M., Hollis B., Lamberg-Allardt C., McGrath J.J., Norman A., Scragg R., Whiting S., Willett W., Zittermann A. The urgent need to recommend an intake of vitamin D that is effective. *Am J Clin Nutr*, 2007, 85, 649–650.
- Wagnan R., Marcus R. Beyond bone mineral density- Navigating the laboratory assessment of patients with osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87, 4429–4430.