

## Menopausa, osteoporosi, diagnosi integrata complementare: review della letteratura

G. LOMBARDI, G. DI LEONE, M. DE CUPIS, M. MINOZZI, P. AVITTO

**RIASSUNTO:** Menopausa, osteoporosi, diagnosi integrata complementare: review della letteratura.

G. LOMBARDI, G. DI LEONE, M. DE CUPIS, M. MINOZZI, P. AVITTO

*La menopausa, dovuta alla definitiva cessazione dei cicli mestruali derivante dalla perdita della funzione ovarica, è caratterizzata da un'intensa sintomatologia riguardante una vasta serie di funzioni a carattere metabolico, psicologico, sessuale. Abbiamo concentrato la nostra attenzione sul ruolo della carenza estrogenica nell'etiopatogenesi dell'osteoporosi post-menopausale, rilevando come la perdita di massa ossea, poiché interessa principalmente il tessuto trabecolare, influenza direttamente la densità e la resistenza dell'osso. Nella valutazione della BMD (Body Mass Density), abbiamo utilizzato sia la DXA (densitometria ossea a doppio raggio X) (sul tratto lombosacrale), ritenuta il gold standard nella diagnosi di osteoporosi, sia la densitometria ossea ultrasonografica (a livello del calcagno), tecnica meno costosa, più veloce e totalmente priva di rischi, che ha dimostrato precisione ed affidabilità comparabili alle metodiche che utilizzano radiazioni ionizzanti.*

**SUMMARY:** Menopause, osteoporosis, complementary integrated diagnosis: review of literature.

G. LOMBARDI, G. DI LEONE, M. DE CUPIS, M. MINOZZI, P. AVITTO

*Menopause, caused by the definitive cessation of menstruation due to the loss of ovarian function, is characterized by a severe symptomatology which concerns metabolic psychological and sexual functions. We focused our attention on the role of estrogen deficiency in the etiopathogenesis of post-menopausal osteoporosis, considering how the loss of bone mass, which primarily interests the trabecular tissue as it directly influences bone resistance and density.*

*In the BMD (Body Mass Density) evaluation, we used DXA (Dual energy X-ray absorptiometry) (on the lumbosacral segment), which is considered the gold standard in the diagnosis of osteoporosis and ultrasonic bone densitometry (on the calcaneus). It is an inexpensive technique, faster, without risks and has proven accuracy and reliability comparable to the methods that use ionizing radiations.*

KEY WORDS: Menopausa - Osteoporosi - DXA - Densitometria ossea ultrasonografica.  
Menopause - Osteoporosis - DXA - Ultrasonic bone densitometry.

## Cenni sulla menopausa e sull'osteoporosi

Per **menopausa** si intende la definitiva cessazione dei cicli mestruali derivante dalla perdita della funzione follicolare ovarica. La diagnosi è basata sull'assenza di mestruazioni per 12 mesi.

Il climaterio è una fase di transizione della vita riproduttiva, nella quale l'attività secretoria dell'ovaio si riduce progressivamente per l'esaurirsi del patrimonio follicolare e dell'insensibilità alla stimolazione gonadotropinica da parte dei follicoli residui. Nel climaterio

devono essere incluse sia le fasi che precedono la menopausa (pre-menopausa), sia quelle che la seguono (post-menopausa).

L'età media della menopausa fisiologica è di circa 50 anni. Oltre quella spontanea, la menopausa può essere **indotta**, se consegue a trattamenti iatrogeni, quali asportazione chirurgica di entrambe le ovaie, con conservazione o asportazione dell'utero; **attinica**, per esposizione delle ovaie alle radiazioni ionizzanti; **chemioterapica**, se dovuta all'azione di farmaci antitumorali; **precoce**, se la cessazione dei cicli mestruali avviene prima dei 40 anni.

Il declino della funzione ovarica si ripercuote su una vasta serie di funzioni a carattere metabolico, psicologico, sessuale.

Per quanto riguarda la funzione ipotalamo-ipofisaria

ria, si osserva un'elevata secrezione di gonadotropine (GnRH-dipendente), soprattutto di FSH, che persiste elevato per diversi anni dopo la menopausa. Le concentrazioni di LH, anch'esse aumentate, subiscono oscillazioni nel corso della giornata, dipendenti dal tasso circolante di estrogeni. Si hanno numerose modificazioni nella produzione di estrogeni e progesterone. L'estradiolo è prodotto in modo inadeguato; solo a volte, infatti, provoca il picco di LH. Il progesterone raggiunge livelli di concentrazione bassissimi, con inadeguatezza della funzione luteinica.

Lo stato ipoestrogenico menopausale si manifesta con segni e sintomi di mancanza ormonale a carico dei tessuti contenenti i recettori per gli estrogeni, come l'ovaio, l'endometrio, l'epitelio vaginale, l'uretra, l'ipotalamo e l'epidermide. Tali sintomi, inclusi nella "sindrome menopausale", sono rappresentati da: disturbi vasomotori (le cosiddette vampate), atrofia urogenitale, insonnia, cefalea, vertigini, palpitazioni cardiache, sintomi psicologici come stanchezza, nervosismo, depressione ed infine, alterazioni della sfera sessuale.

Ben chiaro risulta, inoltre, il ruolo della carenza estrogenica nell'insorgenza dell'**osteoporosi post-menopausale**.

L'osteoporosi è una malattia caratterizzata da un'alterazione della resistenza ossea secondaria ad un deterioramento della microarchitettura del tessuto osseo, che porta ad un'aumentata fragilità ossea e conseguente aumento del rischio di fratture. La malattia può instaurarsi lentamente, decorrendo asintomatica e rendendosi manifesta con il realizzarsi della frattura, anche spontanea. Si tratta di una malattia a patogenesi multifattoriale, ed anche a predisposizione genetica.

La **menopausa chirurgica** determina un'immediata riduzione degli estrogeni e una comparsa di una sintomatologia più intensa. Ugualmente, una **menopausa precoce** può determinare una riduzione della massa ossea con qualche anno di anticipo rispetto a quanto avviene normalmente. La **familiarità** è un altro fattore di rischio osteoporotico, sia perché condiziona la massima densità ossea raggiungibile, il cosiddetto "picco di massa ossea", sia perché recenti studi stanno evidenziando l'esistenza di alterazioni genetiche in qualche modo correlate all'insorgenza della patologia. Un altro fattore di rischio è rappresentato da un'alimentazione inadeguata con **scarso apporto di calcio**. Ciò assume importanza notevole, non solo in età adulta ma anche durante l'infanzia e l'adolescenza, al fine di poter ottenere un adeguato picco di massa ossea e quindi una maggiore riserva di osso. Inoltre, nelle persone anziane, una dieta carente di calcio peggiora ulteriormente l'assorbimento intestinale di tale minerale, di per sé fisiologicamente rallentato. Anche l'**eccesso di proteine** alimentari introdotte con la dieta favorisce una maggiore perdita di calcio con le urine. Peraltro, una **strut-**

**tura corporea esile, la sedentarietà, il fumo e l'eccessiva assunzione di alcolici**, costituiscono ulteriori fattori di rischio per l'osteoporosi. Ricordiamo inoltre, come alcune patologie quali l'**ipertiroidismo** o le alterazioni mestruali con **prolungati periodi di amenorrea** nonché l'impiego di **farmaci** quali i cortisonici, gli anticonvulsivanti, le metilxantine, possano anch'essi agire nell'aumentare il rischio di osteoporosi.

A seconda che si consideri il meccanismo patogenetico, l'età d'insorgenza, l'associazione con altre patologie, i distretti scheletrici interessati, possiamo dividere le osteoporosi in primitive e secondarie; queste ultime possono essere a loro volta sistemiche o distrettuali (Tab. 1).

Le osteoporosi **giovane ed idiopatica** presentano una patogenesi ancora assai oscura. Quella giovanile si manifesta durante l'epoca dello sviluppo ed è spesso di tipo transitorio, con recupero dopo pochi anni. L'osteoporosi **post-gravidica** è meno rara. Può essere facilitata da una dieta povera di calcio durante gli ultimi mesi di gravidanza, o da una inefficiente regolazione ormonale del metabolismo calcico.

L'osteoporosi **post-menopausale** è caratterizzata da una perdita di osso trabecolare; quella **senile** invece, è

TABELLA 1

| Osteoporosi primitive               |   | Giovanile<br>Idiopatica dell'età adulta<br>Post-gravidica<br>Post-menopausale<br>Senile |
|-------------------------------------|---|---|
| Osteoporosi secondarie sistemiche   | Malattie endocrine                                    | Cushing<br>Ipertiroidismo<br>Iperparatiroidismo, etc.                                   |
|                                     | Malattie gastrointestinali                            | Malassorbimenti<br>Gastrectomia<br>Epatopatie, etc.                                     |
|                                     | Malattie ematologiche                                 | Mieloma multiplo<br>Leucemie, etc.  |
|                                     | Malattie del tessuto connettivo                       | Osteogenesi imperfetta<br>Sindrome di Marfan, etc.                                      |
|                                     | Malattie reumatiche                                   | Artrite reumatoide<br>Altre malattie del collagene                                      |
|                                     | Da farmaci  | Corticosteroidi<br>Antiepilettici<br>Eparina, etc.                                      |
|                                     | Da ridotto stimolo meccanico                          |   |
| Osteoporosi secondarie distrettuali | Post-traumatiche<br>Da disuso<br>Algo-neuro-distrofie |   |

legata ai processi d'invecchiamento ed è caratterizzata da riduzione della componente corticale e di quella trabecolare dell'osso. Ricordiamo che anche quando lo scheletro si è formato, nella vita adulta, continua il processo di rimodellamento osseo che si concretizza in un bilancio tra apposizione ossea operata dagli osteoblasti e riassorbimento controllato dagli osteoclasti. Il declino della secrezione estrogenica influenza direttamente l'attività osteoclastica che viene aumentata, a fronte di un'attività osteoblastica lievemente diminuita. Come già detto, la perdita di massa ossea secondaria al deficit estrogenico riguarda maggiormente il tessuto trabecolare, in quanto l'attività di rimodellamento osseo inizia sulla superficie ossea e il tessuto trabecolare è caratterizzato da un'ampia area di superficie, pari a circa l'80% di quella totale scheletrica. Le fratture avvengono più precocemente in siti scheletrici in cui il tessuto trabecolare contribuisce maggiormente alla resistenza ossea; pertanto le fratture vertebrali sono la conseguenza più comune e precoce del deficit di estrogeni.

La carenza estrogenica influisce anche sull'omeostasi del calcio con importanti implicazioni sul metabolismo osseo:

- accelerazione della perdita ossea;
- diminuita secrezione del paratormone con ipocalcemia;
- aumentata secrezione di calcitonina;
- diminuita produzione di 1,25-diidrossicolecalciferolo;
- ridotto assorbimento di  $Ca^{++}$ ;
- aumentata escrezione urinaria di  $Ca^{++}$  e idrossiprolina.

La diagnosi dell'osteoporosi si avvale di metodiche strumentali integrate da valutazioni ematochimiche. La disponibilità di tecnologie atte a misurare la densità ossea permette, ora, un'accurata valutazione delle pazienti con osteoporosi stabilizzata e di quelle a rischio per lo sviluppo dell'osteoporosi. La metodica di riferimento è la MOC (Mineralometria Ossea Computerizzata), un'indagine che permette una valutazione della densità e della struttura del tessuto osseo, che può essere eseguita sia con la DXA (densitometria ossea a doppio raggio X), sia con una recentissima tecnica ad ultrasuoni non invasiva e totalmente priva di rischi.

La prima tecnica misura siti specificamente interessati dalle fratture osteoporotiche (vertebre lombari e porzione prossimale del femore), oltre che l'intero scheletro, calcolando il contenuto minerale osseo (*Bone Mineral Content*, BMC). Dal rapporto tra BMC e l'area di proiezione della porzione ossea su cui si esegue la scansione, si ottiene la densità minerale ossea (*Bone Mineral Density*, BMD), che rappresenta il parametro usato ai fini diagnostici.

I valori della BMD sono attualmente interpretati in tutto il mondo secondo i criteri stabiliti dall'OMS. La BMD di un soggetto, in una data sede scheletrica, viene confrontata con valori di riferimento correlati e il risultato viene espresso in forma di *T-score* e di *Z-score*. Il primo valore indica lo scostamento rispetto al picco di massa ossea (che si raggiunge durante il terzo decennio di vita). Lo *Z-score*, invece, è un valore che indica lo scostamento rispetto al valore medio di soggetti sani di pari età e sesso.

Secondo l'OMS, i valori di BMD si definiscono:

- *Normali* con T-score superiore a  $-1$  DS (Deviazione Standard);
- *Positivi per osteopenia* con T-score compreso tra  $-1$  e  $-2,5$  DS;
- *Positivi per osteoporosi stabilizzata* con T-score uguali o inferiori a  $-2,5$  DS;
- *Indicativi di osteoporosi severa o conclamata* con T-score inferiore a  $-2,5$  DS, in presenza di una o più fratture da fragilità ossea documentata.

La seconda metodica, utilizzata anche dal nostro Centro, è la misurazione quantitativa ad ultrasuoni che, in base alle più recenti ricerche, ha dimostrato affidabilità e precisione comparabili alle metodiche che utilizzano radiazioni ionizzanti.

Già da diverso tempo, ricercatori e clinici si pongono l'obiettivo di ottenere con la misura ultrasonografica una quantificazione attendibile della densità minerale ossea e informazioni sulla struttura e resistenza meccanica dell'osso. Il tema della densità ossea è stato comunque il più clinicamente rilevante; pertanto gli studi di validazione della metodica sono stati eseguiti al fine di confrontare la metodica ad ultrasuoni con la già accettata e comunemente utilizzata tecnica di assorbimetria a raggi X (DXA). Questo è stato anche il nostro obiettivo.

## Discussione

Abbiamo, impiegato la *densitometria ossea ultrasonografica*, come tecnica alternativa e complementare alla DXA, per valutare la risposta al trattamento farmacologico e le variazioni nel tempo in un gruppo di 115 pazienti sottoposte per 5 anni a terapia ormonale sostitutiva. Lo *schema di terapia utilizzato* prevedeva la somministrazione ciclica per 3 settimane, per via transdermica, di 50 mcg/die di estradiolo abbinata alla somministrazione per 12 giorni di 5-10 mg/die di progesterone micronizzato, seguita da 1 settimana di sospensione.

L'indagine del tessuto osseo con la tecnica ultrasonografica non si limita necessariamente ad una misura della densità ossea; diversi studi, sia *in vitro* che *in vivo*, stanno dimostrando che la metodica ad ultrasuoni può

fornire altre utili informazioni come: la distribuzione della matrice mineralizzata all'interno dell'osso (connettività o lo spessore delle trabecole), la diversa resistenza al carico del tessuto osseo in funzione dell'orientamento trabecolare, l'elasticità dell'osso. Di conseguenza, i parametri dell'ecografia quantitativa ad ultrasuoni sono strettamente legati alla resistenza dell'osso.

## Principi fisici

Il range di frequenze utilizzato è compreso tra 200 kHz e 1.5 MHz ed è decisamente inferiore rispetto ai valori di frequenza usati comunemente in ecografia.

Il tessuto osseo ha un alto coefficiente di attenuazione dell'ultrasuono, che aumenta in modo esponenziale con il crescere della frequenza dell'onda, per cui nello studio dell'osso è necessario usare frequenze più basse rispetto all'ecografia delle parti molli. La metodica ultrasonografica genera impulsi di ultrasuoni che vengono trasmessi (trasversalmente o longitudinalmente) attraverso il tessuto osseo indagato. L'onda ultrasonora, trasmessa attraverso il segmento osseo, produce un impulso sinusoidale, che viene rilevato da una distinta sonda ricevente.

Quando l'osso viene sollecitato dall'onda ultrasonora, si genera al suo interno un movimento oscillatorio delle particelle di cui è costituito; tale moto coinvolgerà dapprima le parti più superficiali che hanno risentito della vibrazione ultrasonora, e in seguito verrà trasmesso a quelle adiacenti, ad opera delle forze elastiche che intervengono ogni volta che si verifica una variazione dalla posizione di equilibrio. Il moto oscillatorio si trasmette nel tessuto osseo modificando progressivamente le sue caratteristiche (frequenza, intensità, velocità di propagazione, etc.) a causa delle diverse forze elastiche, correlate alla disomogeneità e anisotropie dell'osso, al grado di rigidità della struttura mineralizzata, al numero di interfacce tra matrice mineralizzata e spazi midollari, alla connettività dell'osso trabecolare, alla porosità dell'osso corticale.

## Metodi e procedure

Per quanto riguarda la procedura, la paziente pone un piede, che non deve aver subito fratture, privo di edemi e di eccesso di adipe nella sede d'indagine, in una vasca piena d'acqua e gli ultrasuoni sono trasmessi lateralmente attraverso la porzione posteriore del calcagno. Il calcagno è costituito quasi interamente da osso trabecolare e ha il vantaggio di avere delle superfici esterne piatte, omogenee e parallele, consone quindi alla geometria di propagazione del fascio ultrasonoro. Le dimensioni del calcagno sono però superiori alle dimen-

sioni del fascio ultrasonoro; la regione di interesse analizzata dall'ultrasuono è quindi una piccola parte del calcagno. Purtroppo non avendo tale osso dei riferimenti anatomici adeguati, il riposizionamento delle sonde, nel follow-up, per l'indagine della medesima regione di interesse può essere difficoltoso nella pratica quotidiana e questo ne costituisce l'unico inconveniente.

Si ottengono dei parametri di misurazione media, non immagini. Uno di tali parametri è chiamato BUA (*Broadband Ultrasound Attenuation*), ovvero l'attenuazione degli ultrasuoni ad ampia banda, che misura la frequenza di attenuazione degli ultrasuoni: l'unità di misura di questo parametro è Decibel per Megahertz. Gli altri due parametri di velocità sono calcolati sulla base del tempo di transito. La velocità del suono (SOS, *Speed of Sound*), misurata in metri per secondi, rappresenta la velocità di transito calcolata dopo aggiustamento per i cambiamenti nella misurazione di base nell'acqua. La velocità degli US attraverso l'osso (UVB), misurata in metri per secondi, incorpora una stima della larghezza del calcagno basata sulla misurazione della riflessione per ogni lato del calcagno.

Il gruppo di 115 pazienti, che abbiamo analizzato, di età compresa tra i 49 e i 55 anni, in terapia ormonale sostitutiva, è stato sottoposto oltre che alla DXA, e comparativamente all'ultrasonografia, anche agli esami convenzionali, quali Pap-test, colposcopia, visita ginecologica, controllo ecografico con sonda endovaginale, esami di laboratorio ematochimici per il follow-up oncologico.

I dati ottenuti sono stati elaborati statisticamente usando le curve ROC (*Receiver Operating Characteristic*) ed i relativi valori AUC (*Area Under the Curve*) ed essi depongono per una stabilità della massa ossea riscontrata, anche se con parametri di riferimento differenti, in modo indipendente dall'apparecchiatura utilizzata. Abbiamo rilevato che *la misurazione ad ultrasuoni del calcagno ha predetto il rischio di frattura con un'accuratezza simile a quella della BMD a livello del tratto lombosacrale*, con aree sotto le curve ROC, rispettivamente, pari a 0,84 per la DXA assiale e 0,83 per l'ultrasonometria al calcagno.

Nei numerosi studi clinici presenti in letteratura si dimostra che la correlazione lineare fra i valori ultrasonografici e quelli densitometrici è positiva e statisticamente significativa. La possibilità di evidenziare con la tecnica ultrasonografica gli effetti delle terapie osteotrofiche è, invece, acquisizione recente. I parametri (BTT, *Bone Transmission Time*, e pSOS, *pure Speed of Sound*) hanno mostrato delle caratteristiche di precisione e stabilità temporale che permettono di eseguire il follow-up in modo efficace, purché, come per la DXA, il lasso di tempo tra una misura e l'altra sia congruo. Mauloni et al., in uno studio longitudinale su soggetti in terapia con HRT, tenendo in considerazio-

ne la precisione della metodica e le variazioni attese nel tempo, hanno calcolato che è richiesto un intervallo temporale di 18 mesi fra una misura e la successiva.

## Conclusioni

Concludendo, sulla base delle nostre osservazioni, pur tenendo presente l'esiguo numero di casi e la durata del trattamento con terapia ormonale sostitutiva delle pazienti, possiamo affermare che non abbiamo riscontrato un aumento d'incidenza nelle pazienti al follow-up oncologico, per patologie maligne della mammella e per patologie dell'endometrio. Inoltre, la terapia sostitutiva ha dato risultati soddisfacenti per il con-

trollo dell'osteoporosi, supportati dai dati verificati mediante l'apparecchio ultrasonografico e comparati con la DXA.

Per quanto riguarda i metodi ultrasonografici, invece, possiamo dire che essi sono sicuramente meno costosi, più veloci e privi di radiazioni.

Sulla base di rilievi preliminari, sembra che predicano il rischio di frattura in modo efficiente come la DXA; tuttavia, anche i nostri risultati si pongono in linea con la letteratura internazionale da cui si evince che è possibile utilizzare le due metodiche da noi adoperate solo in maniera complementare, in considerazione del fatto che l'una è indirizzata strettamente ad una valutazione quantitativa dell'osso (densità ossea) e l'altra allo studio dei suoi aspetti qualitativi.

## Bibliografia

1. BARKMANN R, KANTOROVICH E, SINGAL C, HANS D, GENANT HK, HELLER M, GLÜER CC: *A new method for quantitative ultrasound measurements at multiple skeletal sites*. J Clin Densitom 3: 1-7, 2000.
2. BARKMANN R, LÜSSE S, STAMPA B, SAKATA S, HELLER M, GLÜER C-C: *Assessment of the geometry of human finger phalanges using quantitative ultrasound in vivo*. Osteoporos Int 11: 745-755, 2000.
3. BATTISTA S, DE TERLIZZI F, MÜLLER R, WÜSTER C: *Bone density and architecture: how do they affect ultrasound parameters? Presented at the 14th International Bone Densitometry Workshop*, Sept 3-7 2000, Warnemünde, Germany.
4. BENITEZ CL, SCHNEIDER DL, BARRETT-CONNOR E, SARTORIS DJ: *Hand ultrasound for osteoporosis screening in postmenopausal women*. Osteoporosis Int, 11: 203-210, 2000.
5. C. WÜSTER, ALBANESE C, DE ALOYSIO D, DUBOEU F, et al.: *Phalangeal osteosonogrammetry study (PhOS): age related changes, diagnostic sensitivity and discrimination power*. Journal of Bone and Mineral Research, Vol.15, N. 8, August, pp. 1603-1614, 2000.
6. DE TERLIZZI F, BATTISTA S, CAVANI F, CANÈ V, CADOSSO R: *Influence of bone tissue density and elasticity on ultrasound propagation: an in vitro study*. J Bone Min Res, 15: 2458-2466, 2000.
7. LOPEZ-RODRIGUEZ F, MEZQUITA-RAYA P, LUNA D, JDE, ESCOBAR-JIMENEZ F, MUNOZ-TORRES M: *Performance of quantitative ultrasound in the discrimination of prevalent osteoporotic fractures in a bone metabolic unit*. Bone 32, 5: 571-578, 2003.
8. FELTRIN GP, NARDIN M, MARANGON A, KHADIVI Y, CALDERONE M, DE CONTI G: *Quantitative ultrasound at the hand phalanges: comparison with quantitative computed tomography of the lumbar spine in postmenopausal women*. Eur Radiol 10: 826-831, 2000.
9. HANS D, NJEH CF, GENANT HK, MEUNIER PJ: *Quantitative Ultrasound in Bone, Status Assessment*. Rev Rhum 65:7-9, 1998.
10. HARTL F, TYNDALL A, KRAENZLIN M, BACHMEIER C, GUCKEL C, SENN U, HANS D, THEILER R: *Discriminatory ability of quantitative ultrasound parameters and bone mineral density in a population-based sample of postmenopausal women with vertebral fractures: result of the Basel Osteoporosis Study*. J Bone Miner Res 17: 321-330, 2002.
11. LIN JD, CHEN JF, CHANG HY, HO C: *Evaluation of bone mineral density by quantitative ultrasound of bone in 16.862 subjects during routine health examination*. Br. J. Radiol. 74, 883: 602-606, 2001.
12. KNAPP KM, BLAKE GM, SPECTOR TD, FAGELMAN I: *Differential effects of hormone replacement therapy on bone mineral density and axial transmission ultrasound measurements in cortical bone*. Osteopor. Int, 14: 4, 289-294, 2003.
13. MAULONI M, ROVATI LC, CADOSSO R, DE TERLIZZI F, VENTURA V, DE ALOYSIO D: *Monitoring Bone Effect of Transdermal Hormone Replacement Therapy by Ultrasound Investigation at the Phalanx. A Four Year Follow up Study*. Menopause, 7: 402-412, 2000.
14. NJEH CF, HANS D, FUERST T, GLUER CC, GENANT HK: *Quantitative Ultrasound: Assessment of Osteoporosis and Bone Status*. Martin Dunitz Ltd ed., London UK, 1999, pp 47-73.
15. BALIKIAN P, BURBANK K, HOULE J et al.: *Bone mineral density and broadband ultrasound attenuation with estrogen treatment of postmenopausal women*. J. Clin. Densitom. 1(1998), 1: 19-26.
16. ADAMI S, GIANNINI S, GIORGINO R et al.: *The effect of age, weight and lifestyle factors on calcaneal quantitative ultrasound: the ESPO study*. Osteopor. Int, 14: 3, 198-207, 2003.