

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES

SECRETARIA DE SALUD PÚBLICA DEL ESTADO DE SONORA

HOSPITAL GENERAL DEL ESTADO DE SONORA

“Dr. Ernesto Ramos Bours”

**“DISMINUCION DE OSTEOCITOS EN LA CORTICAL  
MEDIO POSTERIOR SUPRATROCANTERICA DE FEMUR  
PROXIMAL EN OSTEOPOROSIS”**

PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALIDAD EN

ORTOPEDIA

**TESIS**

PRESENTA:

DR. AGUSTIN TELLEZ DUARTE

ASESOR:

DR. DAVID LOMELI ZAMORA

MTRO. JOSE MIGUEL NORSAGARAY MENDIVIL

HERMOSILLO, SONORA AGOSTO 2011



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
SECRETARIA DE SALUD PÚBLICA DEL ESTADO DE SONORA  
HOSPITAL GENERAL DEL ESTADO

“Dr. Ernesto Ramos Bours”

## **TESIS**

“DISMINUCION DE OSTEOCITOS EN LA CORTICAL MEDIO POSTERIOR  
SUPRATROCANTERICA DE FEMUR PROXIMAL EN OSTEOPOROSIS”

Dra. Carmen Zamudio

Jefa de Enseñanza Médica e Investigación.

Dr. Reginaldo Cadena Vega

Jefe del Servicio de Ortopedia y Traumatología

Dr. David Lomelí Zamora

Profesor Titular del Curso de Ortopedia y Asesor de Tesis

Mtro. José Miguel Norsagaray Mendivil

Asesor de Tesis

Dr. Agustín Téllez Duarte

Residente de Ortopedia

## AGRADECIMIENTOS.

A mis abuelos Jorge y Beatriz a quienes perdí en estos difíciles años, y gracias a mi abuelo Jorge que hoy puedo estar aquí libre y terminar mi especialidad, mi abuelo que al final me demostró con su amor incondicional lo que es ser un hombre de verdad sin temor a la sociedad, cumplido y cabal hasta el último de día de su vida un ejemplo a seguir. A mi abuela por su amor de segunda madre sus incontables llamadas dándome consuelo en los momentos difíciles, consejo para salir de las dificultades y fuerza para mantenerse a nuestro lado a pesar de su dolorosa condición. Descansen en paz los Extraño.

A mis Padres Agustín y Araceli sin su apoyo, cariño, protección y sacrificios durante los momentos más difíciles de mi vida me han permitido llegar a donde me encuentro y me permiten seguir creciendo con la bendición de su compañía en mi vida.

A mi Hermano Alejandro mi mejor y más leal amigo gracias a quien hoy todavía cuento con proyectos vivos en mi vida, y con quien he tenido la fortuna de compartir los logros, los sacrificios, miedos y fracasos en la vida quien a su dedicación y amor hoy la vida me sonrío y puedo terminar mi especialidad sin salir a lo desconocido, gracias Alex.

A mi novia Sagrario que me cobijo en los momentos más difíciles, me cuida en la enfermedad, y me protege en todo momento perdonando mis debilidades, gracias por tu amor, fe, y apoyo incondicional.

A mis compañeros residentes quienes fueron mis compañeros y amigos todos ellos son parte esencial de mi desarrollo como residente.

Al Dr. David Lomelí, Dr. Reginaldo Cadena y Dra. Carmen Zamudio quienes me protegieron y dieron oportunidades extraordinarias en los momentos difíciles para no perder mi especialidad y poder crecer como persona.

A los médicos adscritos del Servicio de Ortopedia y otros servicios por ser maestros míos y darme la oportunidad de aprender de ellos.

A todo el personal del Hospital General del Estado porque sin ellos no tendríamos el complemento necesario para poder desarrollarnos profesionalmente, además de encontrarse algunos amigos míos entre ellos.

## INDICE

	Página
Índice	5
1.Marco Teórico	8
1.1 Introducción	8
1.2 Generalidades	9
1.3 Calcar	10
1.4 Definición de Osteoporosis	11
1.5 Índice de Singh	14
1.6 Métodos Diagnósticos	15
2. Planteamiento del Problema	17
2.1 Objetivos	17
2.2 Justificación	18
3. Hipótesis	20
3.1 Hipótesis Positiva	20
3.2 Hipótesis Nula	20
4. Descripción General del Estudio	20
4.1 Método	20
4.2 Criterios de Inclusión	22
4.3 Criterios de Exclusión	22
4.4 Criterios de Eliminación	22
4.5 Tamaño de la Muestra	22
4.6 Tipo de Estudio	22
4.7 Estrategia Estadística	23
4.8 Aspectos Éticos	23
4.9 Recursos	23
4.9.1 Recursos Humanos	23
4.9.2 Recursos Materiales	23

5. Resultados	24
5.1 Análisis de Resultados	25
5.2 Análisis de Lagunas Laminares con el Objetivo 40X/0.65 $\infty$ /0.17	31
5.3 Análisis de Resultados Numéricos	37
5.4 Análisis Estadístico	41
6. Discusión.	43
7. Conclusión.	45
8. Bibliografía	47

***“Los Ojos No ven lo que la Mente no Sabe”***

Proverbio Moro.

## CAPITULO 1. MARCO TEORICO.

### 1.1 INTRODUCCION

La alteración imagenológica de la enfermedad osteoporótica, es bien reconocida radiológicamente y con ayuda de la densitometría ósea. Se denomina osteoporosis a 2.5 desviaciones estándar por debajo de la normal en la DEXA (Absorción Dual de Rayos X).

Actualmente el cuadro clínico y la historia de fracturas elaboran el diagnóstico de osteoporosis. Que constituye el Standard de Oro para construir el diagnóstico. (Singh, cols. J. Bone Joint Surg. 1970; 52A; 457-467)

En la mayor parte de la literatura solo se hace mención del problema estructural inorgánico de la osteoporosis. Se menciona que el número de células óseas dígase osteocitos es de 20,000 a 80,000 por  $\text{mm}^3$  en el hueso normal (Roger Dee, Lawrence C. Hurst Principles of Orthopaedic Practice Second Edition Ed. Mc Graw Hill 1997).

Es el propósito de este trabajo determinar el número de osteocitos en el hueso osteoporótico mediante un estudio en pacientes con esta patología al realizar un conteo de células "Osteocitos" obtenidos de la Cortical Medio-Posterior Proximal la cual es parte del Calcar femoral. Consideramos que sin este complemento el estudio anatomopatológico de la estructura disminuida en la osteoporosis estaría incompleto. Además siendo los osteocitos los que mantienen formando colágena que después se calcificara, es lógico suponer que la falta de ellos ocasionara la osteoporosis y no el proceso inverso, que la falta de estructura propicia la falta de osteocitos.

## 1.2 GENERALIDADES

Existen dos tipos de hueso en el fémur el Cortical y el Trabecular, el hueso trabecular ha sido ampliamente estudiado en la literatura, estudiamos el Hueso Cortical de la Cortical Medio Posterior del tercio proximal femoral en este ensayo.

El Hueso Cortical se encuentra principalmente en los huesos largos está conformado a nivel microscópico por osteonas o unidades funcionales del hueso estas a su vez están conformadas por un conducto de Havers en su centro por donde discurre la microcirculación sanguínea y terminaciones nerviosas, son paralelos a la orientación diafisaria del hueso largo estos conductos pueden unirse entre sí por conductos perpendiculares que llamamos conductos de Volkman.

Los Conductos de Havers son rodeados por láminas concéntricas de hueso como los anillos del tronco de un árbol. Entre estas láminas encontramos pequeños orificios que son llamados “Lagunas” o bien Lacuna Laminae o Lagunas Laminares estos espacios contienen a los osteocitos, células precursoras de la formación de colágena o llamémosla matriz ósea, sobre la cual se adhieren las moléculas de hidroxapatita y los oligoelementos que le dan su fortaleza como es el calcio, estas células son las responsables de mantener este patrón de láminas concéntricas para la adecuada distribución de cargas fisiológicas del hueso y su capacidad para cargar al cuerpo.

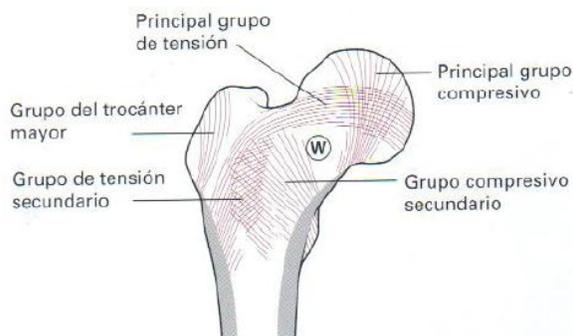
Cada osteona tiene de 7 a 8 anillos concéntricos, su tamaño varía de 300 a 200 micras en extensión. Siendo cada osteocito de aproximadamente 10 micras de tamaño. (Bullough PG, cols, Scientific Foundations of Orthopaedic Traumatology. Philadelphia, Saunders, 1980).

Todo esto es rodeado por una capa histológica llamada periostio para la periferia y endostio. Aquí vamos a observar pericitos y osteoblastos precursoras de nuevas células, así como bordes en cepillo donde células multinucleadas remodelan el hueso llamadas osteoclastos.

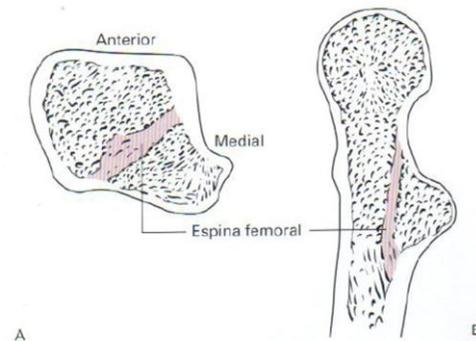
En este microuniverso que encontramos en cada uno de los huesos largos se ha reportado una densidad celular normal por milímetro cúbico de 20,000 a 80,000 células. (Roger Dee, Lawrence C. Hurst Principles of Orthopaedic Practice Second Edition Ed. Mc Graw Hill 1997).

### 1.3 CALCAR.

El Calcar está formado por la cortical medioposterior del fémur proximal y su trabecularidad en la porción esponjosa de la metafisis proximal del hueso donde observamos una distribución de la misma de acuerdo a las fuerzas de carga que este hueso lleva descritas por Ward en 1838, aquí encontramos una trabecula especialmente grande llamada la columna de Bigelow, (Harty M. J. Bone Joint Surg. 1957; 39A; 625-630).



Rockwood pag. 1590 Cap.38 Fig. 38.9

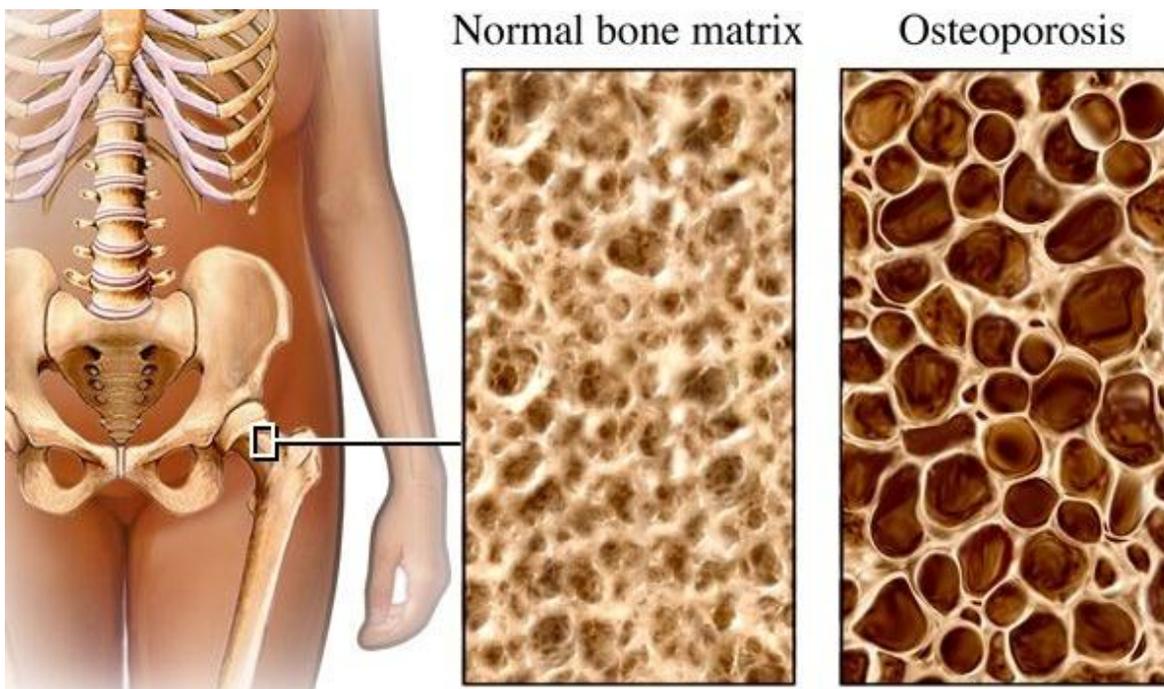


Rockwood pag. 1591 Cap. 38 Fig. 38.11

#### 1.4 DEFINICION DE OSTEOPOROSIS

La Osteoporosis de acuerdo a la OMS (Organización Mundial de la Salud) se define como hueso poroso o 2.5 desviaciones estándar por debajo de la media, esta es en relación a la densidad en huesos de pacientes jóvenes.

Lo cual representa hueso frágil por pérdida de la masa que lo conforma entendiéndose dicha masa compuesta por hueso cortical y hueso trabecular.



En el hueso normal existe un fenómeno de remodelado continuo, con reabsorción del hueso viejo y formación de hueso nuevo, y este remodelado cumple principalmente dos funciones, siendo una ayudar con otros órganos a mantener estable el nivel de calcio en sangre, y la otra ir modificando el trabeculado y en la distribución de las láminas del hueso cortical de los huesos para que soporten cargas fisiológicas. A partir de los 35 años se inicia la pérdida de pequeñas cantidades de densidad ósea. Múltiples enfermedades o hábitos de vida pueden

incrementar la pérdida de hueso ocasionando osteoporosis a una edad más precoz. Algunas mujeres tienen predisposición a la osteoporosis por una densidad ósea disminuida.

Estudios previos han demostrado que la actividad física que genera cargas fisiológicas son benéficas para la adecuada formación de hueso cortical y trabecular.

Lo que coincide con la disminución en la actividad física de las personas al llegar a la quinta y sexta décadas de la vida donde abandonan el deporte y las actividades de carga disminuyendo a su vez la exposición a la luz del Sol.

Además de perderse con el tiempo la capacidad de lograr una oxigenación adecuada de los tejidos además de la formación de radicales libres, y por último el desgaste del DNA y su pérdida de capacidad reconstitutiva con el paso del tiempo.

En estudios recientes se ha estudiado el papel de actividad de los receptores de membrana celular para el 1-25 dihidroxicolecalciferol, o vitamina D3, calcitonina, calcitriol, hormona tiroidea, entre muchos otros, así como el papel genético del RANK-1 y RANK 2 en los pacientes con osteoporosis.

El interés por las compañías farmacéuticas de vender sus medicamentos y productos ha llevado a la creación de un falso sentido de seguridad en algunos medicamentos.

Esto nos lleva a la pregunta que hicimos en nuestro estudio que es ¿Es la disminución de células la causa de la aparición de la osteoporosis? Y más específicamente ¿Si no encontramos células en el hueso para que recetamos medicamentos encaminados a aumentar su función y no su regeneración?

La célula es la unidad funcional de todo tejido, sin ella no puede este tejido funcionar, el hueso para poder soportar las fuerzas fisiológicas del cuerpo ocupa una remodelación constante de su matriz de colágena y de hidroxiapatita misma que es realizada por la función de los osteocitos y su remodelación por los osteoclastos. La ausencia de los primeros conllevaría a la formación de hueso disfuncional lo que se interpreta en la incapacidad del hueso de cargar las fuerzas fisiológicas y secundariamente a la aparición de fracturas.

En este estudio demostramos la disminución en el número de células en la región de mayor carga del cuerpo y con mayor morbilidad, mortalidad en la población de la tercera edad.

Estudiamos el Calcár en su zona cortical medial posterior atravesando al entramado trabecular medial. (Harty M. J. Bone Joint Surg. 1957; 39A; 625-630)

En Base a este conocimiento Singh y cols 280 en el año de 1970. Crearon una medida sencilla y barata usando radiografías simples con alta sensibilidad 90% aunque especificidad baja 35% para diagnosticar la osteoporosis y calificarla de manera sencilla mediante un índice que utilizaremos en nuestro estudio como método de detección por su alta sensibilidad.

## 1.5 INDICE DE SINGH. (J.Bone Joint Surg. 1970; 52A; 457-467)

### **Grado VI:**

Todos los grupos trabeculares normales son visibles

Extremo superior del fémur parece estar completamente ocupado por hueso esponjoso.

### **Grado V:**

Resistencia a la tracción principales y trabéculas de compresión principal es acentuada;

El triángulo de Ward parece importante.

### **Grado IV:**

Trabéculas de tracción principales se reducen notablemente, pero aún se puede seguir desde la corteza lateral a la parte superior del cuello femoral.

### **Grado III:**

Hay una ruptura en la continuidad de la tensión principal de trabéculas frente al trocánter mayor;

Este grado indica osteoporosis definida;

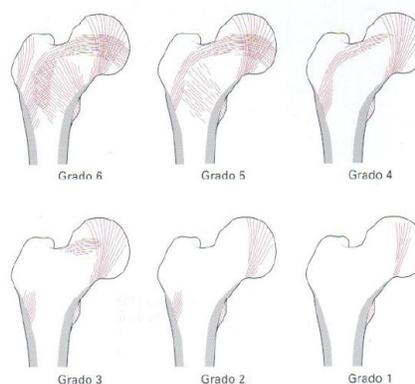
### **Grado II:**

Sólo trabéculas de compresión principales sobresalen;

Trabéculas restantes han sido absorbidos en esencia;

### **Grado I:**

Trabéculas de compresión principales son marcadamente reducidos en número y ya no son importantes. Se Observa de la siguiente manera:



## 1.6 METODOS DIAGNOSTICOS

El Gold Standard para la Osteoporosis es la combinación de una buena valoración clínica, Rayos X simples y TAC usando unidades Hounsfield.

Aunque el método más popular es el establecido por Erikson y Wide usando el DEXA (Densitometría por Absorción Dual de Rayos X en el cuello femoral) encontrando su utilidad valorando la densidad ósea. Aunque su sensibilidad es del 70% y su especificidad del 53%.

La TAC mediante el uso de las unidades Hounsfield ha demostrado ser de gran utilidad. La mejor Sensibilidad 95% es reportada en el cuestionario SCORE, a pesar de este tener una especificidad baja, siendo así la mejor combinación detección mediante el SCORE, Rayos X y diagnóstico mediante TAC aunque por su costo DEXA sigue siendo ampliamente utilizado.

A pesar de estos avances en la tecnología radiológica en la detección de la osteoporosis se ha encontrado que la mayoría de los diagnósticos se realizan muy tarde una vez ya presentada una fractura.

En cuanto al tratamiento preventivo de la osteoporosis, se ha demostrado que aplicando la terapia hormonal sustitutiva en pacientes postmenopáusicas acreditando el efecto “curativo” de los estrógenos el cual pongo en tela de juicio debido a que diversos estudios sobre los estrógenos demuestran mejoría en la circulación y por ende mejora la perfusión de los tejidos, fenómeno que me llama la atención puesto que nos puede estar generando una falsa conceptualización del verdadero papel de los estrógenos en la prevención de la osteoporosis.

También se conoce el efecto de los bifosfonatos al mejorar la adherencia de calcio al hueso ayudando a su almacenamiento en los huesos movilizándolo del compartimento sérico al hueso.

Se habla del uso de nuevas técnicas quirúrgicas “preventivas” de las fracturas osteoporóticas como es el caso de xifoplastía que consiste en la

inyección transpedicular, percutánea de cemento (polimetilmetacrilato) en la región trabecular de las vértebras para “fortalecer” la estructura intrínseca de las vértebras. Aunque diversos estudios han demostrado mediante modelos matemáticos que la distribución de cargas en las vértebras se da en las paredes de las mismas y no en su cuerpo central, además el polimetilmetacrilato al fraguar sube su temperatura a los 90 grados centígrados temperatura que mata las células vecinas además de ocasionar alteraciones a nivel vascular. Este procedimiento también se está realizando en algunas intervenciones para el cuello femoral, zona ricamente vascularizada.

Es mi parecer que estamos recurriendo a medidas desesperadas para resolver una patología cuyo origen es una alteración en la unidad funcional de los tejidos, la célula.

Encontramos que la falta de células es la responsable de formar nuevo hueso funcional y mantener la organización cortical de las láminas.

Así como también es mi propósito mediante este estudio sentar el antecedente para futuros estudios de nuevos tratamientos usando terapia de remplazo celular en hueso osteoporótico. Y pueda ser una adecuada justificación para dichos estudios.

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Existe una relación entre la proporción de células (osteocitos) y la osteoporosis, llámese disminución en la calidad y cantidad de estructura inorgánica ósea.

### 2.1 OBJETIVOS

Primario: Contamos células “osteocitos” en el hueso de pacientes con osteoporosis.

Secundarios:

- a) Determinar la proporción de lagunas “vacías” y las lagunas “ocupadas” por osteocitos.
- b) Si la disminución de osteocitos está presente en el hueso osteoporótico.
- c) En el presente estudio abre una línea de investigación hacia la muerte programada de las células dentro de sus lagunas.

## 2.2 JUSTIFICACIÓN:

Se decide realizar este estudio ya que no encontramos en la literatura estudios previos de cuantificación de osteocitos en zona de carga y/o la cortical medial del calcar en hueso osteoporótico.

Por definición, la osteoporosis es una disminución de la masa ósea y de su resistencia mecánica, por la pérdida de hidroxapatita (que es la forma en la que se encuentra el calcio en los huesos) y del trabeculado óseo que le confiere resistencia mecánica. De acuerdo a la OMS.

La osteoporosis es una enfermedad silenciosa hasta que se produce una fractura, tanto de manera espontánea, como ante un mínimo golpe. Por eso lo importante de la prevención primaria, ya que se puede impartir un tratamiento antes que un evento así ocurra.

"El 50% de las mujeres tendrá osteoporosis. Una investigación realizada el año último por la International Osteoporosis Foundation (IOF), sobre una base de 1071 médicos y 559 mujeres posmenopáusicas, se lee: una de cada dos mujeres sufrirá osteoporosis en algún momento de su vida. Declarada enfermedad por la Organización Mundial de la Salud en 1994, hoy amenaza con producir más de 6 millones de fracturas de cadera en 2050, contra el total de 1,7 millón contabilizado por la IOF en 1990. Este mal, que afecta principalmente a las mujeres luego de la menopausia, se caracteriza por la pérdida significativa de hueso, el deterioro de su arquitectura y el aumento de la susceptibilidad a las fracturas, vertebrales o no vertebrales. Hoy, entre el 30 y el 40% de las mujeres y alrededor del 13% de los hombres están en peligro de fracturarse.

El futuro se percibe frágil cuando se comprueba que la mayoría de los tratamientos se prescribe cuando una mujer ya ha experimentado su

primera fractura. El incremento de la expectativa de vida hizo crecer la enfermedad, sobre todo en el sexo femenino. La edad de la menopausia no varió, pero como la mujer vive más tiempo, transcurren muchos más años en deficiencia estrogénica, un hecho íntimamente relacionado con la osteoporosis."

Existe una serie de medicamentos que se recomiendan porque estimulan a los osteoblastos o frenan a los osteoclastos sin embargo las pruebas para ver la función de las células son indirectas basándose en la imagenología. La cual para resultar visible por estos métodos implica que la osteoporosis alcance un 40%.

### 3. PLANTEAMIENTO DE HIPÓTESIS

#### 3.1 POSITIVA.

El número de células “osteocitos” en hueso de cortical posteromedial de la cadera de pacientes osteoporóticos es menor a 5,000 en lamelar.

#### 3.2 NULA.

El número de células “osteocitos” es de 20,000 o más hueso osteoporótico.

### 4. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO:

#### 4.1 METODO:

Se incluyeron 6 pacientes en este estudio que presenten osteoporosis mediante el uso de tres criterios: edad, índice de masa corporal, fractura de baja energía la cual se define como caída desde su propia altura o aparición de la misma ante el estrés de cargas fisiológicas, siendo fracturas de cadera intertrocantérica o del cuello femoral y densidad ósea valorada mediante el índice de Sighn integrando al estudio los pacientes con índice menor a 3.

Todos los pacientes recibieron una valoración preoperatoria por el servicio de medicina interna y anestesiología descartando comorbilidades y enfermedades cronicodegenerativas en estos pacientes.

Se sometieron a una intervención quirúrgica para osteosíntesis de cadera con placa tipo DHS (Dinamic Hip Screw) o bien para Hemiartroplastía de cadera con prótesis de Thompson. Bajo consentimiento informado usando el formato establecido por la Secretaria de Salud del Estado de Sonora y el Hospital General del Estado.

Técnica de Obtención de la Muestra Histopatológica.

Se obtiene muestra de la cortical medio-posterior mediante, el uso de fluoroscopia, se realiza con broca de 3.2 una perforación en la cortical lateral del fémur, seguido se introduce punzón recto dentado a través del mismo en dirección a la cortical posteromedial recolectando en su interior mediante rotación a baja velocidad tejido

trabecular y cortical de esta región una vez terminada dicha recolección de tejido se introduce en un vaso de 200ml estéril de plástico con formol al 10% en su interior la muestra empujándola del interior del punzón con su guía interna metálica obteniendo en todos los casos un cilindro de tejido de 3mm de diámetro y 2 centímetros en promedio de longitud. Procurando tomar la muestra a 2.5 cm de distancia del trazo de fractura.

Dichas muestras fueron enviadas al departamento de patología donde se introdujeron con cuidado en Dical para su descalcificación por 7 días.

Conseguida dicha descalcificación, fueron introducidas en parafina, donde se formaron cubos que fueron sometidos al micrótopo obteniendo micro cortes, estos, se colocan en portaobjetos y son sometidos al proceso de deshidratación y tinción con hematoxilina eosina.

Se colocaron en el microscopio óptico compuesto de tipo Motic BA200 en objetivos de 10X/0.25 y  $\infty$ /0.17 y luego en el 40X/0.65  $\infty$ /0.17 donde se tomaron microfotografías digitalizadas de todas las muestras.

Posteriormente fueron contadas las células por 3 observadores el primero es un médico residente de patología en su tercer año con experiencia en muestreo y observación de las mismas, El Segundo es un médico residente de tercer año de ortopedia y el Tercero es médico residente de ortopedia en su cuarto año en en microfotografías digitalizadas.

Cada uno de los observadores llenaron tablas de observación donde se valoraron 3 rubros: Número de Lacuna Laminae totales, Número de Lacuna Laminae con osteocito en su interior y Lacuna Laminae vacías.

Reportamos los resultados mediante la valoración de las tablas que fueron analizadas mediante la Correlación de Pearson y la prueba con T de Student. Comparando el número de Lacunas Laminae vacías vs Lacuna Laminae con Osteocitos determinando cuantas células se encontraron presentes y ausentes.

#### 4.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

Se seleccionarán a los pacientes que presenten osteoporosis diagnosticados por la presencia de fractura de baja energía (caída desde su propia altura), en la cadera, así como a los pacientes que no hayan sido referidos con esa patología.

#### 4.3 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

Se excluirán los pacientes que presenten referencias con antecedentes de patologías óseas infecciosas, VIH, sífilis, enfermedades de la colágena o bien enfermedades óseo-deformante.

Cualquier error en el manejo de las muestras obtenidas ya sea en la técnica de obtención, descalcificación o tinción.

#### 4.4 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN:

Deseo del paciente de ser excluido del estudio, violación a cualquiera de los 30 puntos en la declaración de Helsinki (Seúl 2008), pérdida, destrucción o daño de la muestra durante su proceso.

#### 4.5 TAMAÑO DE LA MUESTRA:

Se seleccionaron 6 pacientes con presencia de fracturas a nivel de la cadera de tipo intracapsular o extracapsular ocasionada por un mecanismo traumático de baja energía en todos los casos fue caída desde su propia altura.

#### 4.6 TIPO DE INVESTIGACIÓN:

Prospectiva, Trasversal, Observacional y Descriptiva.

#### 4.7 ESTRATEGIA ESTADÍSTICA:

Se utilizaron tablas cuantitativas y cualitativas, valoradas mediante Kappa, seguido se usó la correlación de Pearson para valorar la relación entre los resultados, así reportamos un valor para P. Finalizamos con una “comparación de medias en muestras independientes” usando la “t de student”.

#### 4.8 ASPECTOS ÉTICOS:

Durante este estudio se cumplieron con los 30 puntos establecidos en la declaración de Helsinki (Seúl 2008).

Se utilizó el formato de Consentimiento informado establecido por la Secretaría de Salud del Estado de Sonora y autorizada por el Hospital General del Estado “Ernesto Ramos Bours”. Informando al paciente sobre el estudio y la inocuidad de la obtención de la muestra así como los riesgos que esta implica.

Este estudio no recibió ningún patrocinio ni beneficio económico de ningún tipo.

#### 4.9 RECURSOS:

4.9.1 Humanos: 6 pacientes con edades de los 75 a los 100 años de edad, con presencia de fractura en cadera intra o extra capsular ocasionadas por mecanismo de baja energía. Sin patologías crónico-degenerativas, infecciosas o deformantes asociadas. Cirujano Ortopedista, Anestesiólogo, Enfermera instrumentista, Enfermero Circulante.

4.9.2 Materiales: Equipo de disección quirúrgica, Trocar dentado de 3.5 mm de diámetro, perforador manual tipo batidora. Vasos estériles con formol al 10%, micrótopo, cera para fijación, alcohol, hematoxilina-eosina. Portaobjetos, cubreobjetos, microscopio óptico compuesto. Cámara Digital.

## 5. RESULTADOS.

Del mes de Febrero al mes de Julio del 2011 se realizo la selección de pacientes y la recolección de muestras a partir del calcar de fémur, en 6 pacientes de sexo masculino y femenino de los 75 a los 100 años de edad con presencia de fractura de cadera intracapsular y extracapsular.

Se entregaron las muestras al médico patólogo sin especificar el diagnóstico de cada paciente únicamente se le informó la localización de donde se obtuvo cada muestra. Respetando la característica de estudio ciego de nuestro estudio.

A estas se les proceso mediante hematoxilina eosina y se observaron en el microscopio óptico compuesto tomando microfotografías digitales a los campos de 10X y de 40X, logrando 19 fotografías digitales.

El lente de 10X/0.25  $\infty$ /0.17 nos permite ver una distancia focal efectiva a 16.5mm aproximada de 2mm<sup>2</sup> mientras que el lente de 40X/0.65  $\infty$ /0.17 nos da una distancia focal efectiva de 4.5mm y un campo visual aproximado de 500 $\mu$ <sup>2</sup>.

Cada campo fotografiado fue seleccionado de la zona en la muestra donde se observara hueso de tipo cortical.

Fotografías Digitales de Campos a 10X se observo alteración evidente en el 100% del patrón en anillos de la osteona observando alteración en su alineación, en su relación entre ellas así como una disminución en el contenido celular en las lacuna lacunae de cada osteona. Los conductos de Havers se observan amplios en su extensión.

Para el cálculo por centímetro cúbico utilizamos la fórmula volumétrica clásica de

$$V = (a) (a) (a) = a^3$$

## 5.1 ANALISIS DE RESULTADOS

### Muestra 1

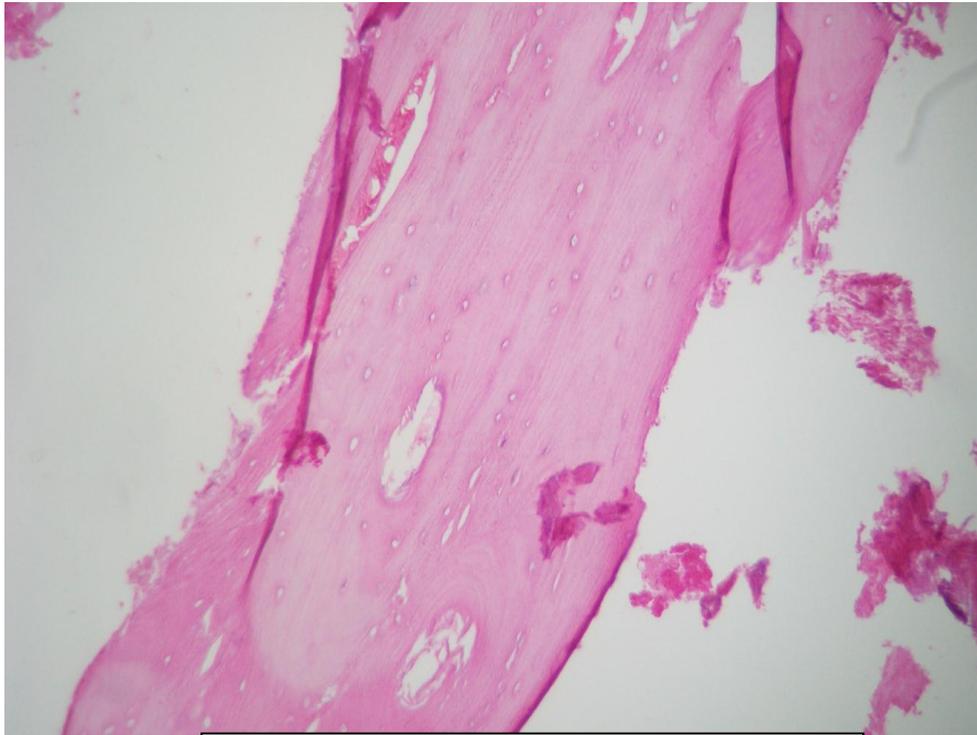


Fig. 1 Vista con Objetivo de 10X/0.25 ∞/0.17

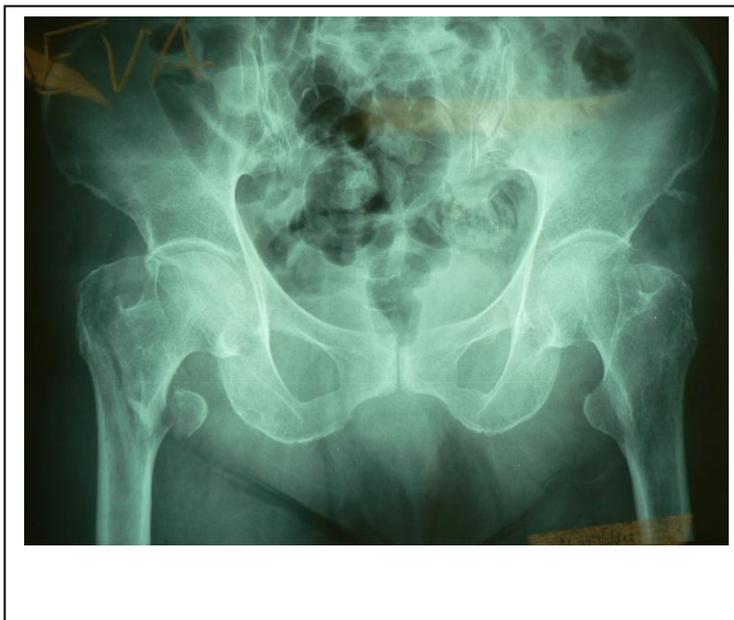


Fig. 1.2 AP de Pelvis

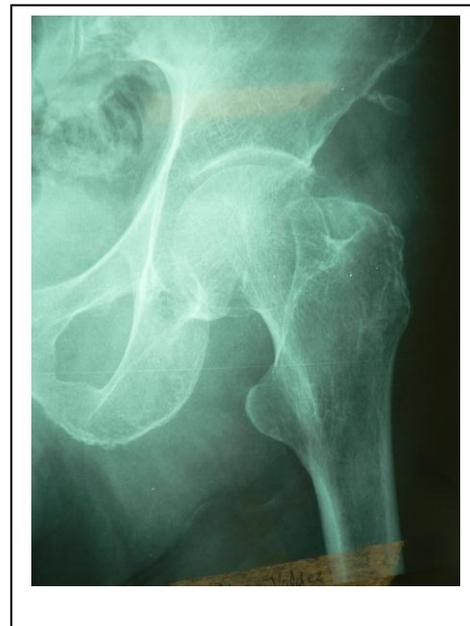


Fig. 1.3 Índice de Singh grado 3

Muestra 2

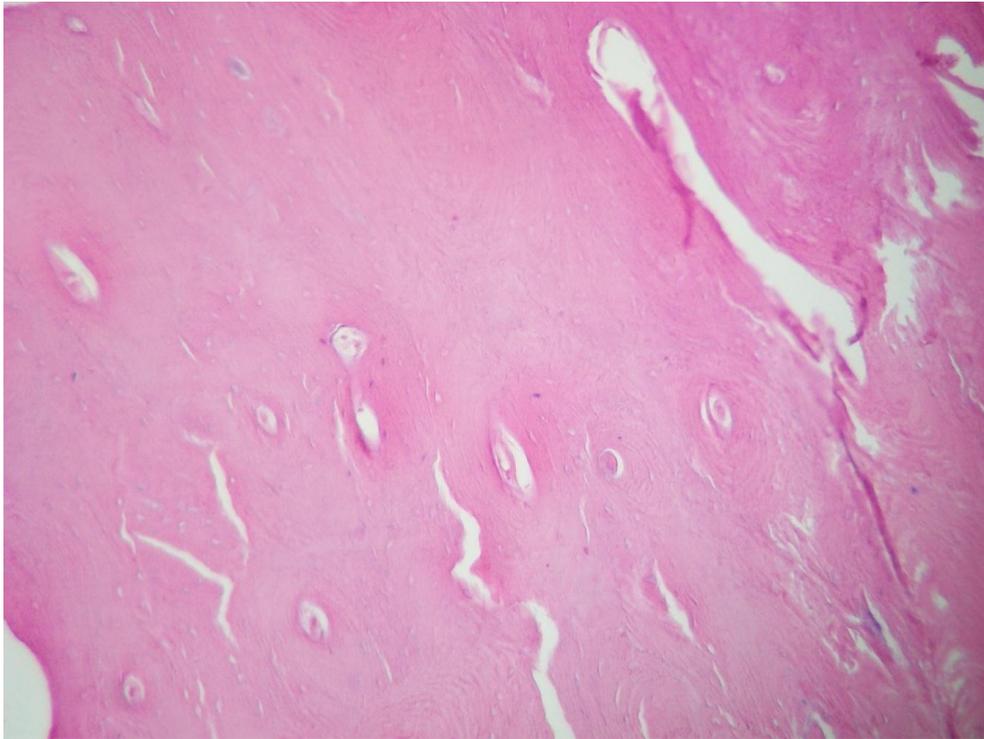


Fig. 2 Vista con Objetivo de 10X/0.25 ∞/0.17



Fig. 2.2 AP de Pelvis



Fig. 2.3 Índice de Singh grado 3

Muestra 3

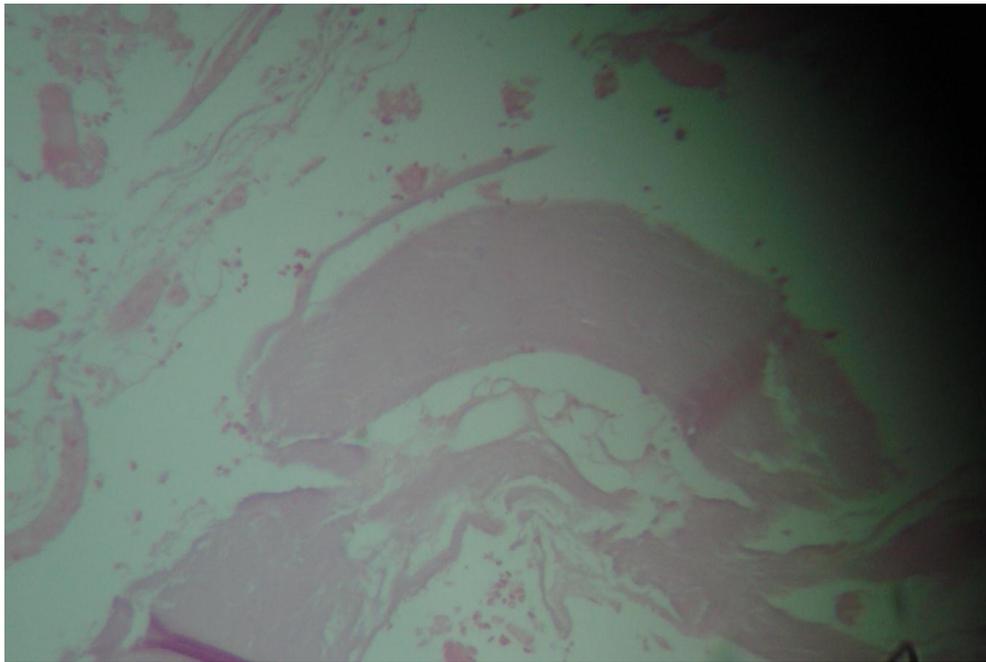


Fig. 3 Vista con Objetivo de 10X/0.25 ∞/0.17



Fig. 3.2 AP de Pelvis



Fig. 3.3 Índice de Singh grado 3

Muestra 4

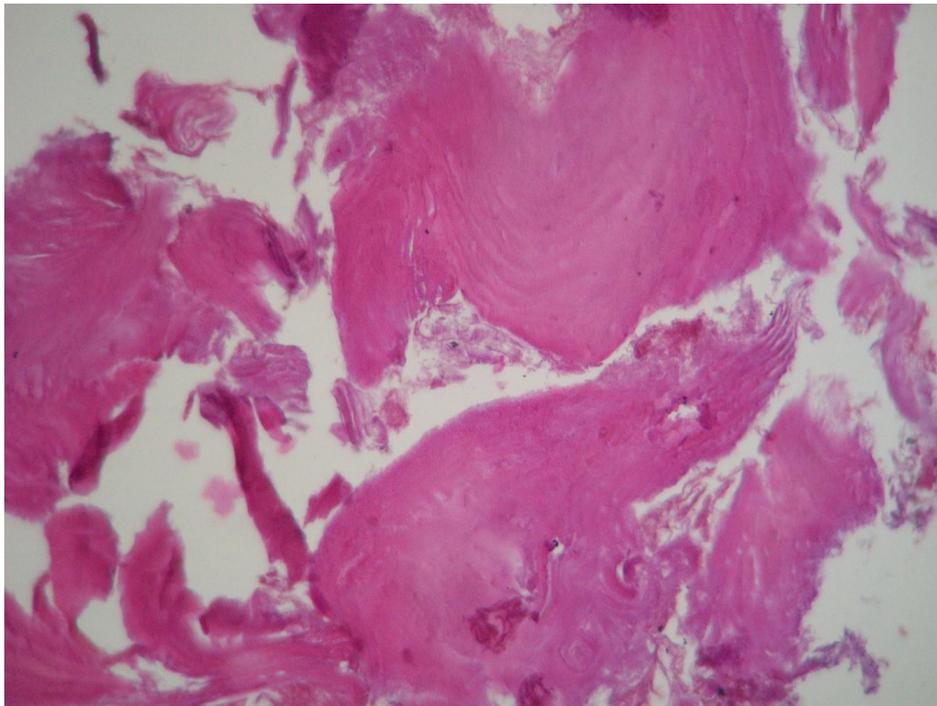


Fig. 4 Vista con Objetivo de 10X/0.25 ∞/0.17

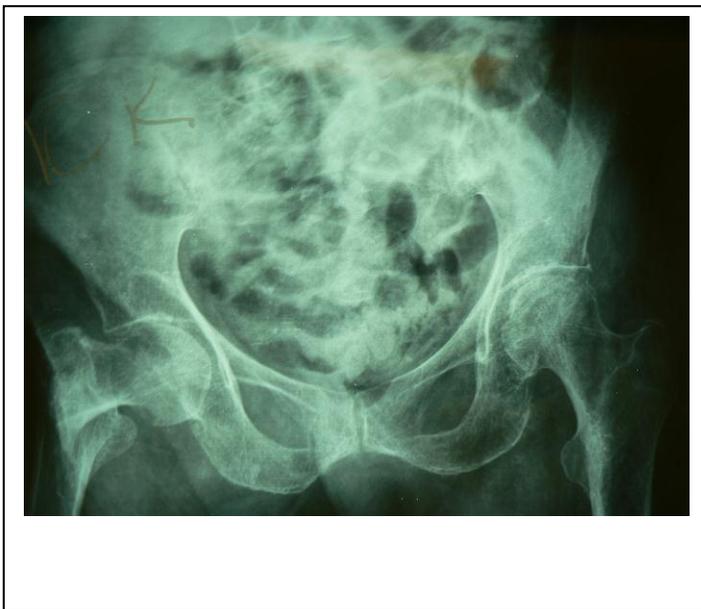


Fig. 4.2 AP de Pelvis



Fig. 4.3 Índice de Singh grado 3

Muestra 5

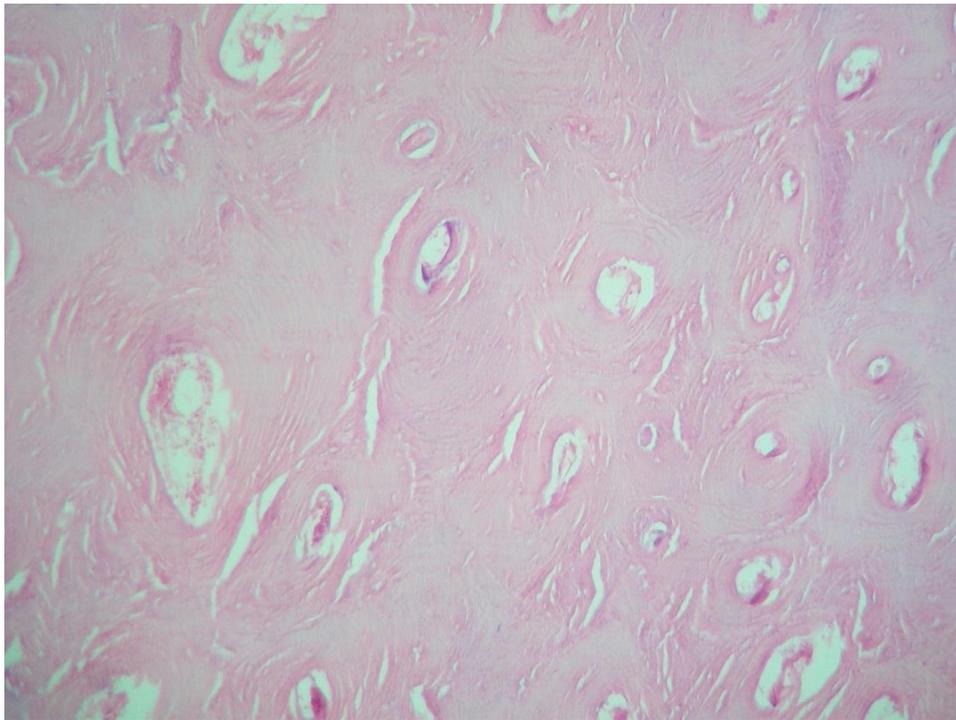


Fig. 5 Vista con Objetivo de 10X/0.25  $\infty$ /0.17



Fig. 5.2 AP de Pelvis



Fig. 5.3 Índice de Singh grado 3

Muestra 6

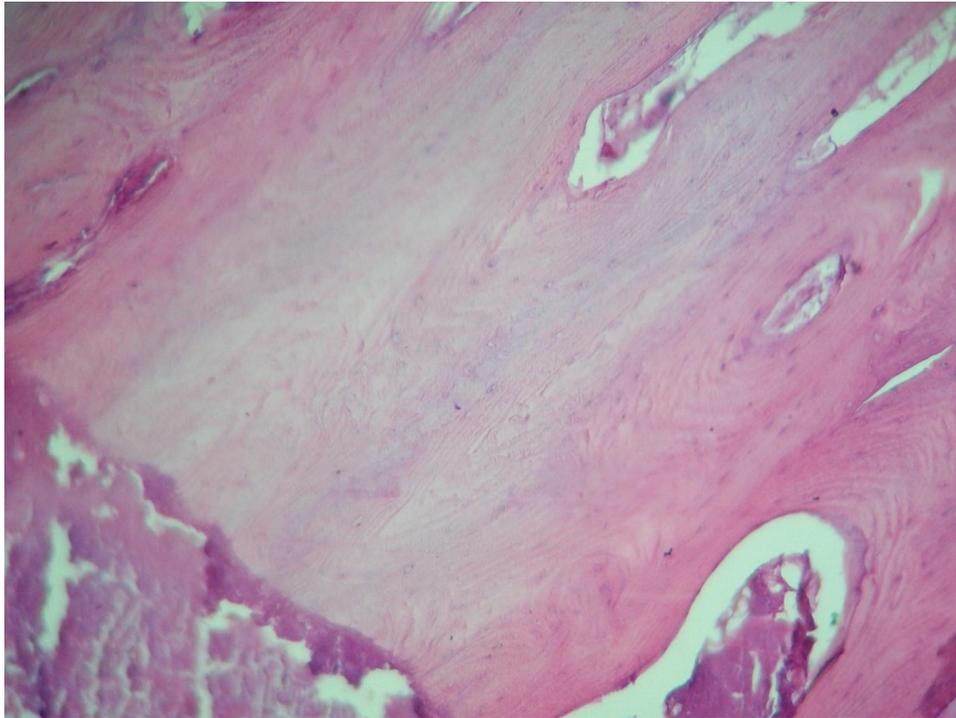


Fig. 6 Vista con Objetivo de 10X/0.25 ∞/0.17

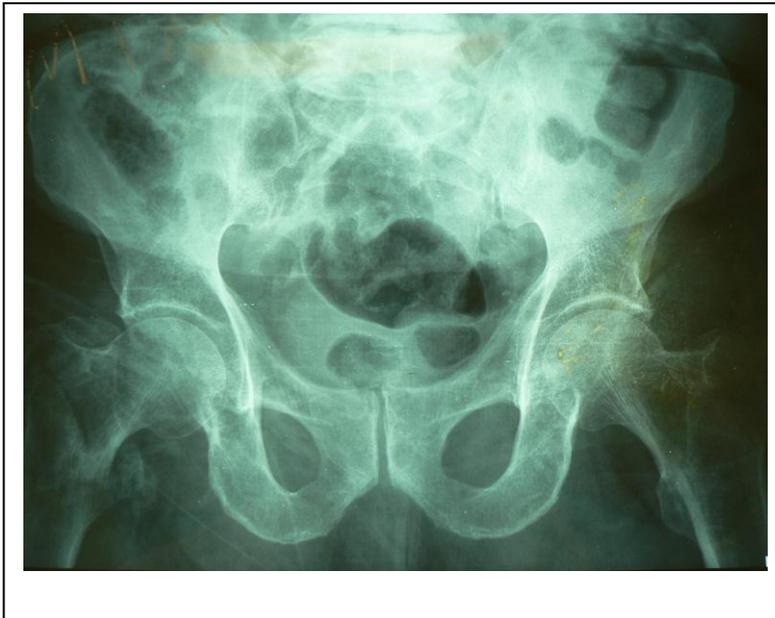


Fig. 6.2 AP de Pelvis

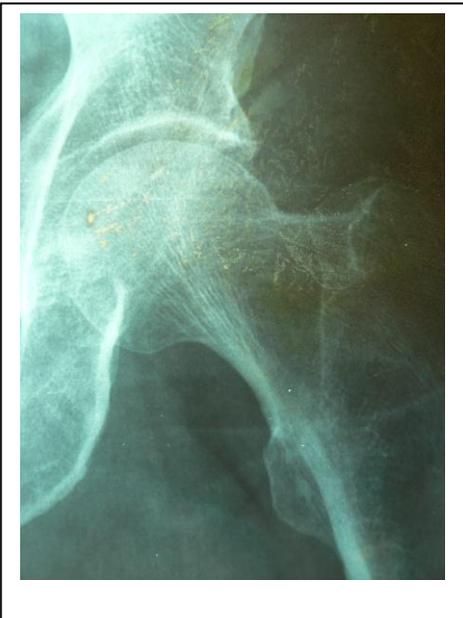


Fig. 6.3 Índice de Singh grado 3

## 5.2 ANÁLISIS DE LAGUNAS LAMINARES CON EL OBJETIVO 40X/0.65 $\infty$ /0.17

En las muestras con los campos con el objetivo de 40X se observa un área de  $250 \mu^2$  donde podemos observar a más detalle que a pesar de que en el objetivo de 10X donde se observa un área de  $500 \mu^2$  aparentaba una distribución celular normal esta alterado el patrón laminar al observar más de cerca cada lacuna lacunae además de encontrarse en su mayoría vacías.

### Muestra 1

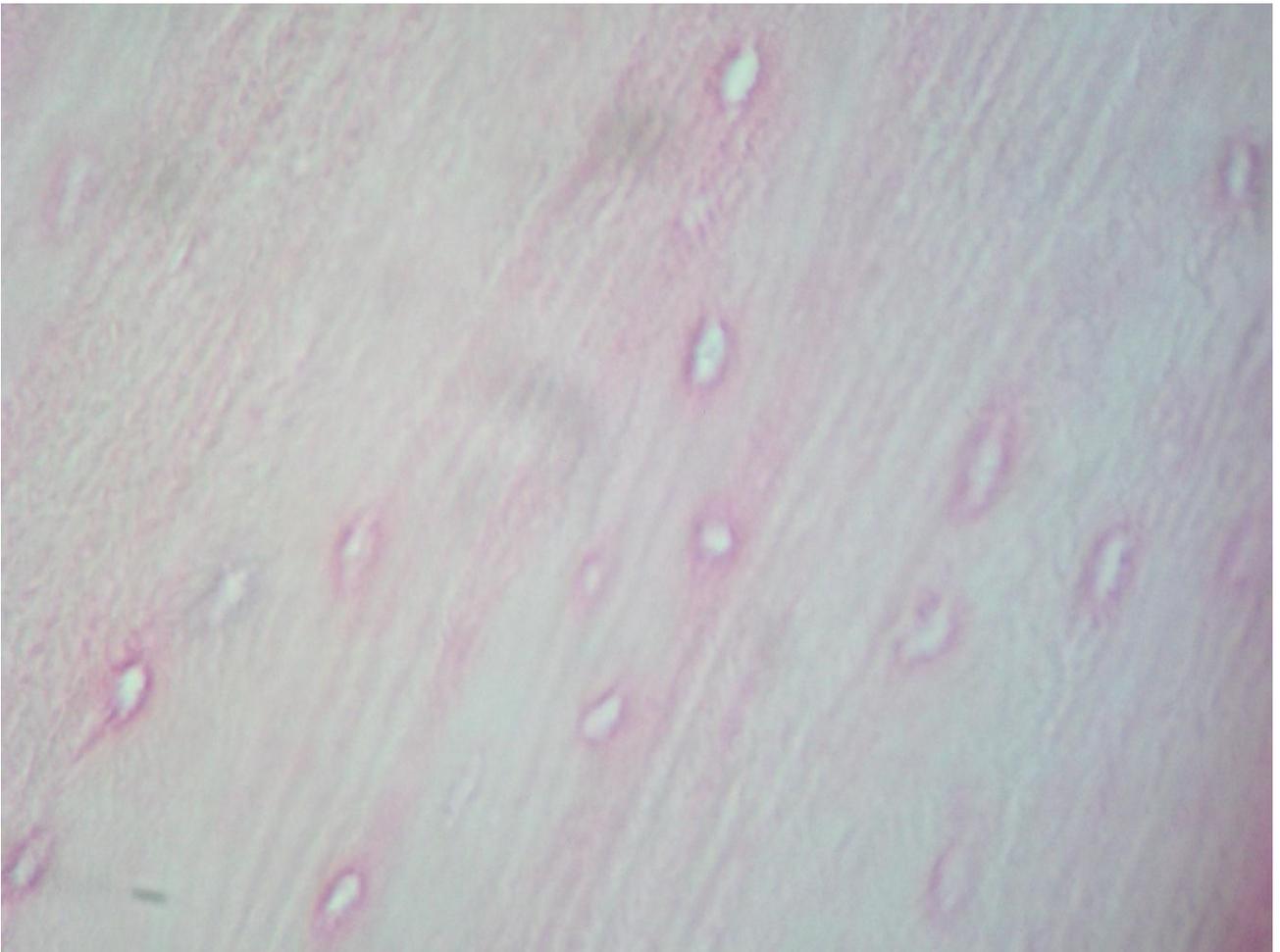


Fig. 1.4 Objetivo de 40X/0.65  $\infty$ /0.17. Se observa el patrón de las láminas levemente alterado y las Lacuna Laminae vacías en su mayoría.

## Muestra 2

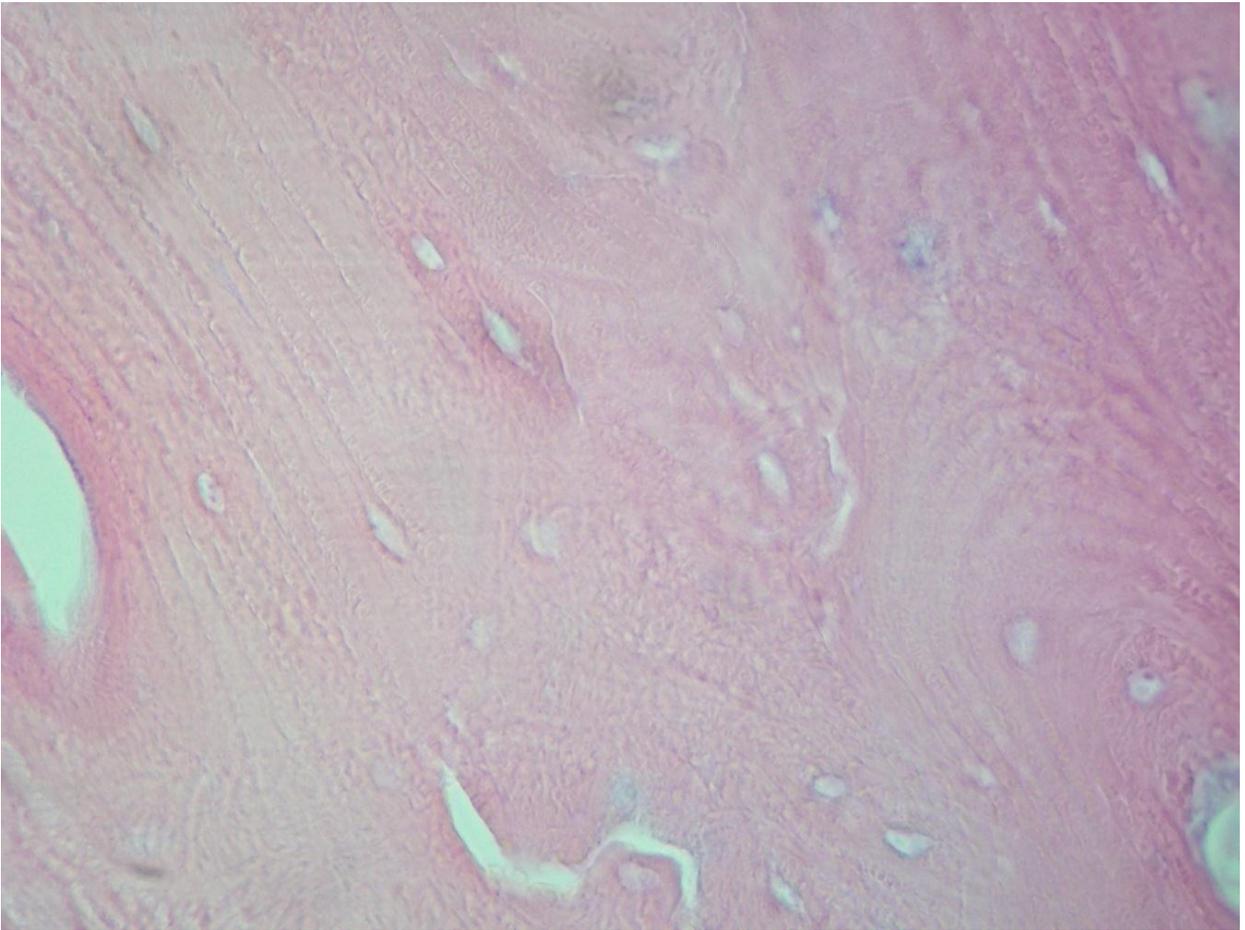


Fig. 2.4 Objetivo de 40X/0.65  $\infty$ /0.17

## Muestra 3

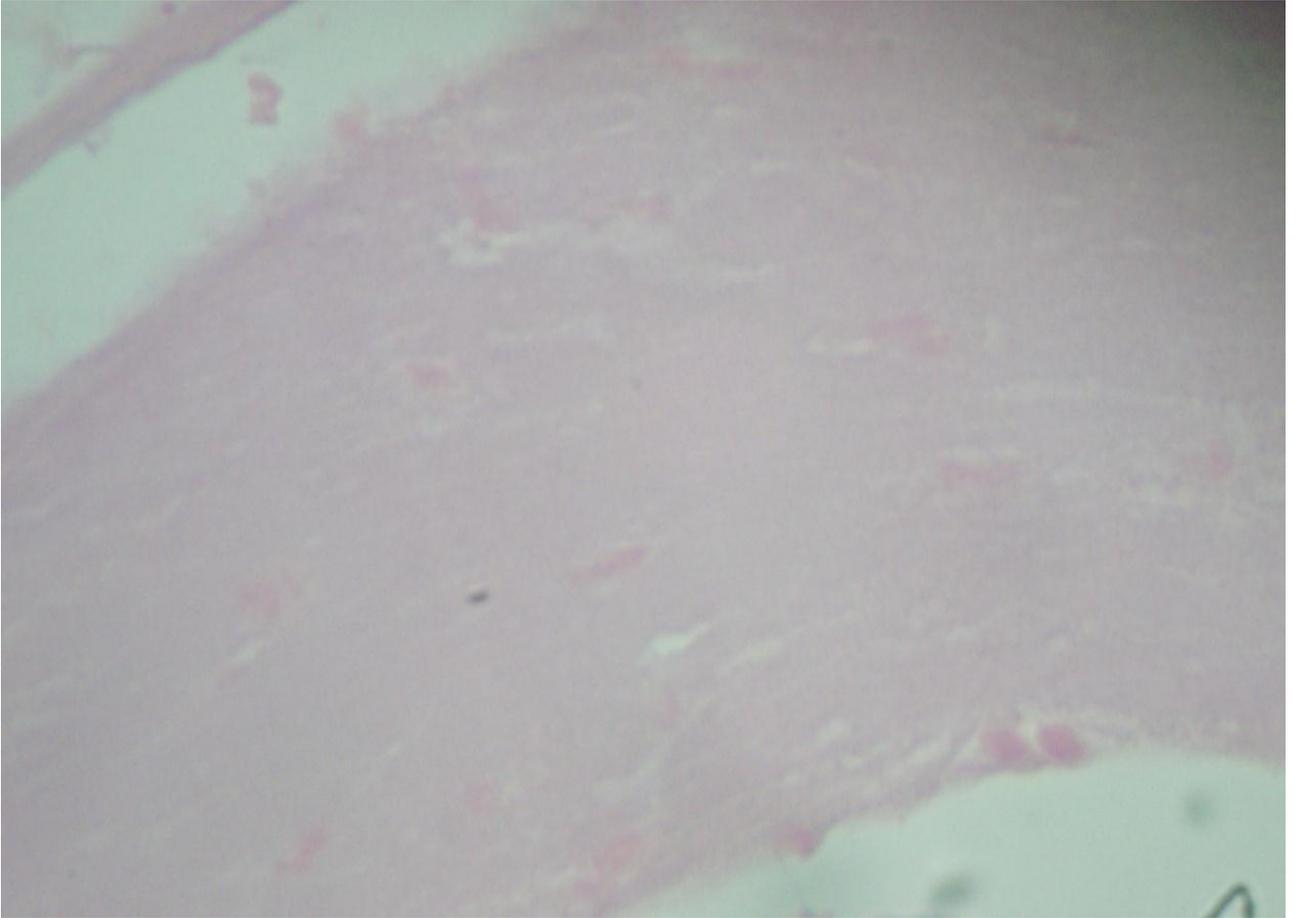


Fig. 3.4 Objetivo de 40X/0.65  $\infty$ /0.17

## Muestra 4

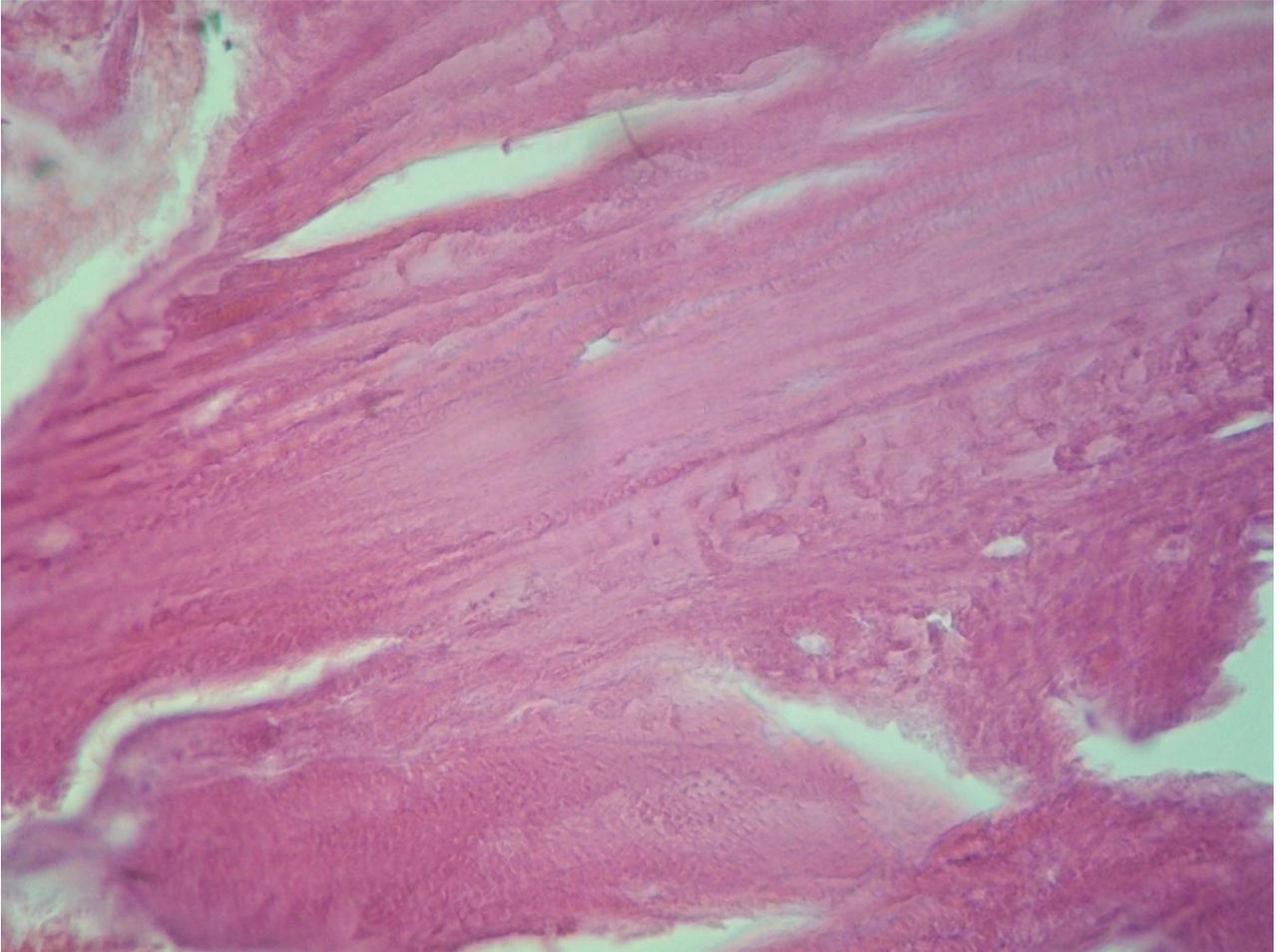


Fig. 4.4 Objetivo de 40X/0.65  $\infty$ /0.17

## Muestra 5

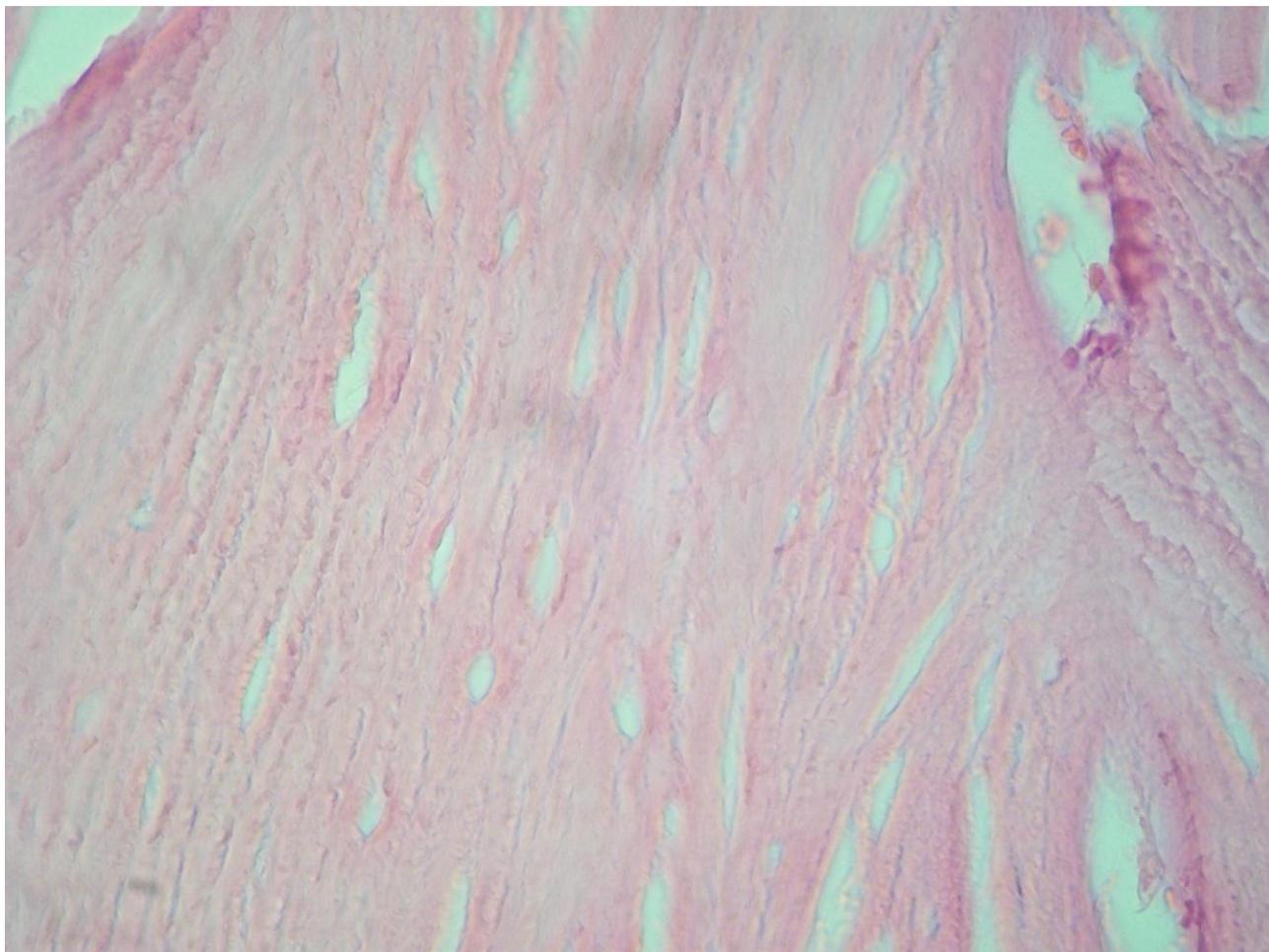


Fig. 5.4 Objetivo de 40X/0.65  $\infty$ /0.17

## Muestra 6

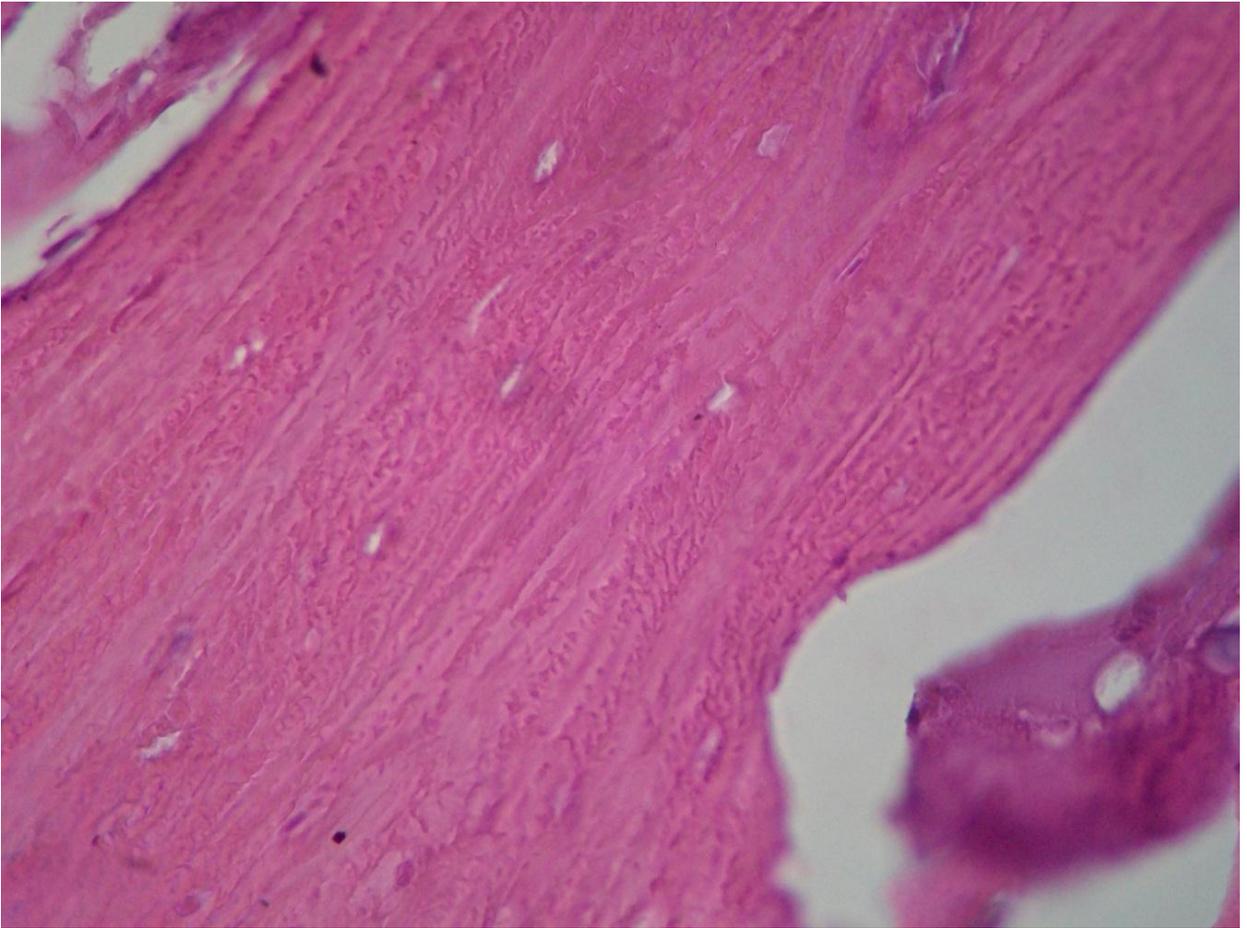


Fig. 6.4 Objetivo de 40X/0.65  $\infty$ /0.17

## 5.3 ANALISIS DE RESULTADOS NUMERICOS.

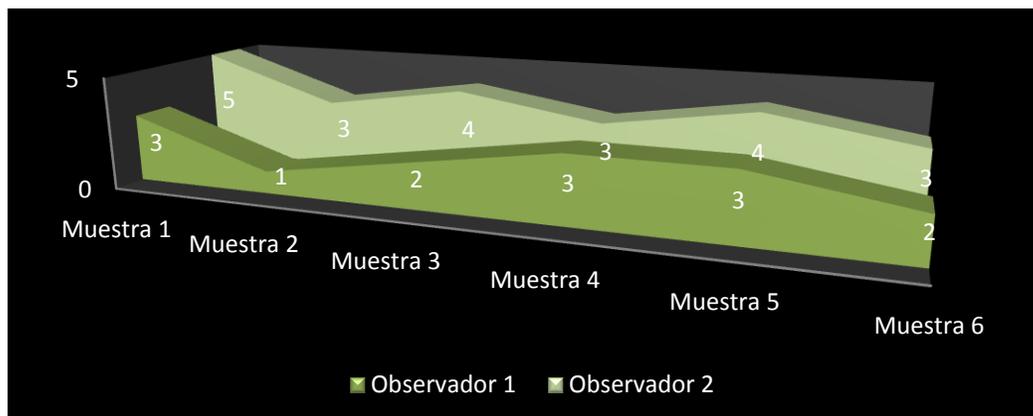
## Clasificación de Muestras por Índice de Singh

Índice de Signh	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6	Media Total
Observador 1	3	1	2	3	3	2	
Observador 2	5	3	4	3	4	3	
Media	4	2	3	3	3.5	2.5	3

## Kappa (para cuantificar el índice de Singh)

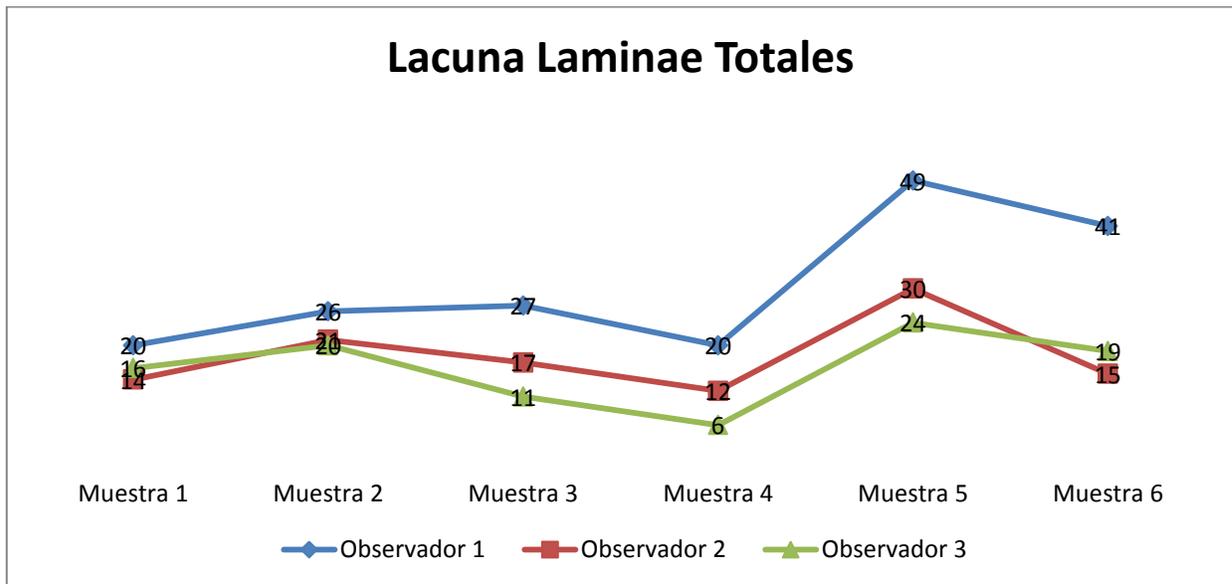
	Observador 2						
Observador 1	1	2	3	4	5	6	Marginal
1	3	1	2	3	3	2	14
2	5	3	4	3	4	3	22
Marginal	6	4	6	6	7	5	34

<b>ACUERDO OBSERVADO</b>	1.00			
<b>ACUERDO ESPERADO</b>	1.744			
<b>ÍNDICE KAPPA</b>	<b>ERROR ESTÁNDAR</b>	<b>I.C 95%</b>	<b>Fuerza de la concordancia</b>	
1.000	0.000	( 1.000 , 1.000 )	Muy Buena	



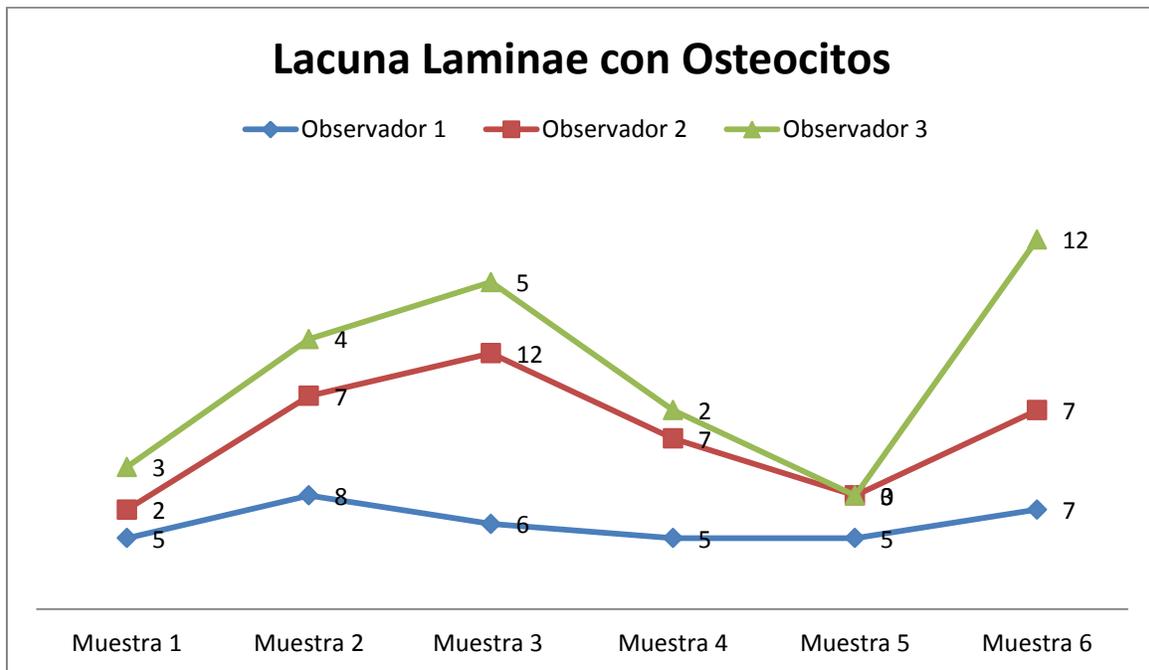
### Conteo de Lacuna Laminae

40 X	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6	Media
Observador 1	20	26	27	20	49	41	
Observador 2	14	21	17	12	30	15	
Observador 3	16	20	11	6	24	19	
<b>Promedio</b>	16.6	22.3	18.3	12.6	34.3	25	<b>21.5</b>



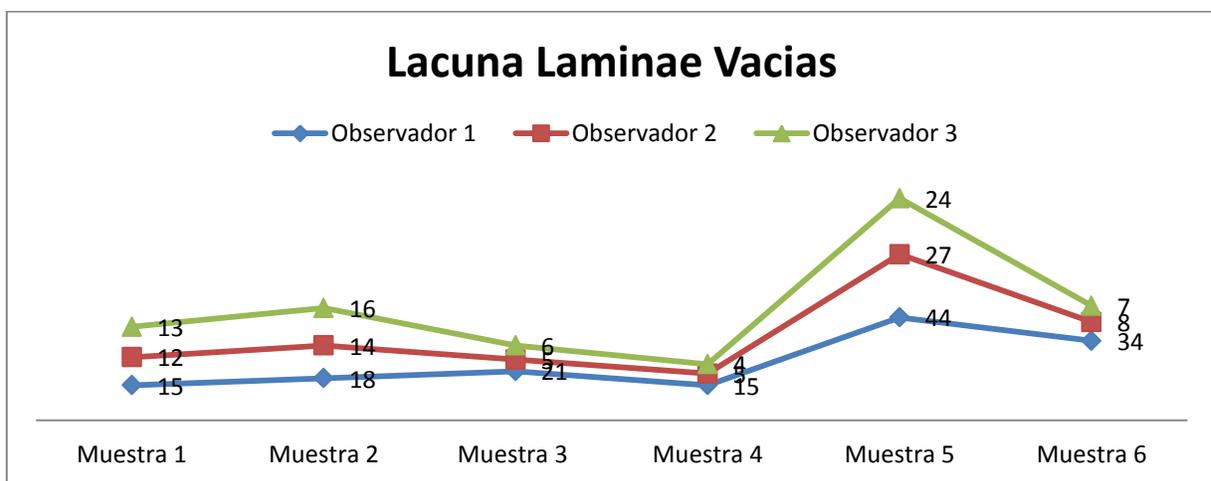
### Lacuna Laminae con Osteocitos

40X	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6	Media
Observador 1	5	8	6	5	5	7	
Observador 2	2	7	12	7	3	7	
Observador 3	3	4	5	2	0	12	
<b>Promedio</b>	3.3	6.3	7.6	4.6	2.6	8.6	<b>5.5</b>



### Lacuna Laminae Vacías

40X	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6	Media
Observador 1	15	18	21	15	44	34	
Observador 2	12	14	5	5	27	8	
Observador 3	13	16	6	4	24	7	
<b>Promedio</b>	13.3	16	10.6	8	31.6	16.3	<b>15.9</b>



**Índice de Kappa (para valorar el conteo celular)**

	Observador 3						
Observador 1	1	2	3	4	5	6	Marginal
1	5	8	6	5	5	7	36
2	3	4	5	2	0	12	26
Marginal	11	12	11	7	5	19	65

ACUERDO OBSERVADO	1.00
ACUERDO ESPERADO	2.00

ÍNDICE KAPPA	ERROR ESTÁNDAR	I.C 95%	Fuerza de la concordancia
1.000	0.000	( 1.000 , 1.000 )	Muy Buena

#### 5.4 ANALISIS ESTADÍSTICO

Se buscó mediante K la concordancia interobservador seleccionando dos observadores y valores de las mismas muestras y establecidos en tablas de 2X2 de todos los casos encontramos el mismo resultado del estudio encontrando concordancia muy buena. Se realiza la obtención de los promedios de los tres observadores por muestra para determinar el número de lacuna laminae observadas por campo observando 86 lacuna laminae por milímetro cuadrado, con o sin presencia de osteocitos, estas se convierten a un milímetro cúbico tomando en cuenta que cada Lacuna Laminae mide 10 micras en promedio encontrando los siguientes resultados.

**Lacuna Laminae Totales por  $\text{mm}^3 = 8,600$**

**Lacuna Laminae con Osteocitos por  $\text{mm}^3 = 2,200$**

**Las Lacuna Laminae vacías son más que las ocupadas siendo= 6400**

Del 100% de las Lacuna Laminae encontradas por milímetro cúbico sólo el 25.5% de lacunas laminae ocupadas por osteocitos. Para determinar la relación entre los valores y su P se decide realizar la Correlación de Pearson así como la t de student.

**Coefficiente de Correlación de Pearson.**

**Relación entre Lacuna Laminae totales y Lacuna Laminae Vacías= r 0.957**

$t_T = 1.943$

$t_c = 6.598$

$P = 0.05$

Intervalo de Confianza del 95%

Se rechaza la hipótesis nula

**Lacuna Laminae con Osteocitos = r - 0.148**

$t_T = 1.476$

$$t_c = 0.299$$

$$P = 0.10$$

Intervalo de Confianza del 90

**Índice de Singh con Osteocitos = r -0.71**

$$t_T = 2.05$$

$$t_c = 0.35$$

$$P = 0.05$$

Intervalo de confianza del 95%

**Índice de Singh con Lacuna Laminae Totales = r 0.17**

No existe relación

**Índice de Singh con Lacuna Laminae Vacías = r -0.039**

No existe relación

## 6. DISCUSIÓN.

Encontramos el índice de Kappa de 1 para la relación interobservador del índice de Singh su correlación con el número de células es este método de conteo celular es objetivo y sencillo. Por lo que respecta al índice de Singh y el índice Kappa resultado de 1 lo que nos hace pensar que no hay problema para utilizar esta medición.

Podemos observar en la correlación de Pearson que el valor de coeficiente fue de  $r = 0.957$  entre las lacuna lacunae vacías, se realizó una inferencia estadística para revisar el comportamiento de este coeficiente de correlación (0.95) con una  $P < 0.05$  y conservo un valor positivo en términos de la "t de student", el valor crítico de la t en las tablas de probabilidad es de 6.869, mientras que el valor calculado de la  $t_c$  fue de 6.598 Rechazando la hipótesis nula conservando la hipótesis positiva. Con un Intervalo de Confianza del 95% para decir que hay una tendencia de las Lacuna Laminae a encontrarse sin células en su interior, lo que quiere decir que están desapareciendo los osteocitos de las Lacuna Laminae.

Podemos observar para la correlación de Pearson que el valor del coeficiente fue de  $-0.148$  entre las lacuna lacunae con osteocitos es decir es una correlación negativa donde si un valor aumenta el otro disminuye, se realizó inferencia estadística para revisar el comportamiento de este coeficiente de correlación ( $r = -0.148$ ) con una  $P < 0.10$  con una  $t_c$  de 0.299 donde no se rechaza la Hipótesis positiva, observando buena correlación. La  $t_T = 1.476$  la correlación entre los osteocitos y las lacuna laminae negativa, lo que significa que la presencia de osteocitos en las lacuna laminae es de relación a la inversa entra más lacuna laminae menos osteocitos y entre más osteocitos más lacuna laminae los que es hasta cierto punto obvio. El intervalo de confianza es del 90%.

Se observa una correlación de Pearson para el índice de Singh y el número de Osteocitos mantiene una relación negativa lo que concuerda con la calificación del índice que va de mayor a menor, guardando una relación de  $r = -0.71$  con una  $P = 0.05$  y un intervalo de confianza del 95%.

Aunque en cuanto al índice de Singh y las Lacunas Laminae y Lacunas Totales no se encuentra relación entre ellas.

Esto nos quiere decir que se puede sospechar la disminución en el número celular en relación a índice de Singh menores a 3 más no se puede sospechar el número de Lacuna Laminae vacías, ni totales en su caso.

Estos resultados corroboran que en pacientes con osteoporosis, así como una radiografía con índice de Singh de 3 o menor, presenta 95% de probabilidad de tener de pérdida de su contenido celular en fémur proximal.

## 7. CONCLUSIONES

Se encontró mediante la valoración de Kappa que la relación entre observadores es moderada por lo que el método de conteo de osteocitos mediante hematoxilina eosina no es el método idóneo para poder valorar los osteocitos en el tejido óseo debido a la variación que pueda existir en el criterio de los observadores por lo que nuestros resultados deberán en futuros estudios ser revalorados mediante otras técnicas de conteo celular donde se pueda eliminar esta variable como pudiera ser la citometría de flujo.

Se logró corroborar en todas las muestras analizadas que existe un gran número de Lacuna Laminae vacías con el objetivo de 40X/0.65  $\approx$  0.17 lo que en el objetivo de 10X/0.25  $\approx$  0.17 nos resulta engañoso puesto que vistas las osteonas a esta distancia no se puede apreciar el contenido de las lagunas, más vistas de cerca corroboramos dos situaciones.

Concluimos que si existe una disminución significativa de células en la cortical medio-posterior del calcar en pacientes osteoporóticos.

Un gran número de encuentran vacías, segundo el patrón de las láminas se observa alterado en la periferia de estas lagunas vacías. Lo que podemos referir como un hallazgo adicional.

La ausencia de osteocitos en el hueso cortical nos deja en una situación vulnerable puesto que las terapias farmacológicas actualmente existentes van a actuar sobre los osteocitos restantes dejando unas cuantas células en una situación funcional limitada, además de que en los sitios donde menos osteocitos se encuentren no habrá ningún efecto de dichos fármacos.

En este estudio nos permite utilizar las radiografías comunes utilizando el índice de Singh como una sospecha diagnóstica de una disminución celular en la cortical media posterior del calcar.

La desaparición de las células de sus Lagunas Laminares puede ser una nueva línea de investigación para futuras generaciones donde vale la pena estudiar que ocasiona la muerte de dichas células.

Algunas hipótesis de la desaparición de estas células pueden venir en mente como son la isquemia del tejido por las condiciones vasculares cambiantes ocasionadas por la edad de los pacientes. Y la mejoría en el flujo sanguíneo observada a la administración de terapia hormonal de remplazo

¿El estrés de las cargas a nivel del calcar pueden ocasionar la formación de radicales libres que destruyan a las células? ¿La destrucción del DNA de reconstrucción secundario a la pérdida de sus telomerasas con la edad?

Todas son preguntas y más podrán ser resueltas en futuras investigaciones.

## 8. BIBLIOGRAFIA

1. Changes in Trabecular Pattern of the Upper End of the Femur as an Index of Osteoporosis. Singh Index. J. Bone Joint Surg. 1970; 52A; 457-467
2. Bone histology in young adult osteoporosis. Ellen Hills, cols.; J Clin Pathol 1989; 42:391-397
3. Bone biology and the pathogenesis of osteoporosis. R. Graham G. Russell, cols. Curr Opin Rheumatol 18 (supl): S3-S10. 2006
4. Fractures of the hip and osteoporosis. T. Linder, cols; J Bone Joint Surg 2009; 91-B: 294-303
5. 2002 clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis society of Canada. Jaques P. Brown, cols; CMAJ Nov 12, 2002; 167(10 supl)
6. Interventions to Improve Osteoporosis Treatment Following Hip Fracture. Michael J. Gardner, MD, cols; J Bone Joint Surg (2005); vol 87-A; num ; pp 3-7
7. Undertreatment of osteoporosis in the oldest old? A nationwide study of over 700,000 older people. Kristina Johnell, Johan Fastbom; Arch Osteoporos (2009); 4: 17-23
8. Transmissibility of 15-Hertz Vibrations to the Human Hip and Lumbar Spine: Determining the Physiologic Feasibility of Delivering Low-Level Anabolic Mechanical Stimuli to Skeletal Regions to Greatest Risk of Fractures Because of Osteoporosis. Clinton Rubin, PhD; cols; Spine; vol 28, num 23, pp 2621-2627
9. Development of a Clinical Workflow Tool to Enhance the Detection of Vertebral Fractures. Alan Brett, PhD, cols; Spine (2009); Vol. 34, num 22; pp 2437-2443
10. Osteoporosis Associated with Neutralizing Autoantibodies against Osteoprotegerin. Philip L. Riches, M.R.C.P., cols; N Engl J Med 2009; 361: 1459-65
11. Osteoporosis in chronic Obstructive Pulmonary Disease Patients. Niklas rye Jogensen and Peter Schwarz; Curr Opin Pulm Med 14:122-127

12. A Comparison of the Effects of alendronate and Alfacalcidol of Bone Mineral Density Around the Femoral Implant and in the Lumbar Spine After Total Hip Arthroplasty. Naoyuki Iwamoto MD, cols, J Bone Joint Surg Am. 2011; 93:1203-9
13. Different Approaches to Bone Densitometry. Ignac Fogelman and Glen M. Blake; J Nucl Med 2000; 41: 2015-2025
14. Factors Affecting the stability of screws in human cortical osteoporotic bone. O. C. Thiele, cols; J Bone Joint Surg 2007; 89-B: 701-5
15. Reconciling Quantitative Ultrasound of the Calcaneus with X-Ray-Based Measurements of the Central Skeleton. Michael Ayers, cols, J Bone and Mineral Research; Vol. 15; num 9, 2000.
16. The Value of Routinely Performing a bone Biopsy During Percutaneous Vertebroplasty in Treatment of Osteoporotic Vertebral Compression Fractures. Sander Paul Jan Muijs, MD, cols; Spine Volume 34, Number 22, pp 2395-2399. 2008
17. Inverse Relation Between Osteoporosis and Spondylosis in Postmenopausal Women As Evaluated by Bone Mineral Density and Semiquantitative Scoring of Spinal Degeneration. Naohisa Miyakoshi, MD; cols.; Spine, 2003, vol 28, num 5, pp 492-495.
18. Biopsy of Osteoporotic Vertebral Compression Fractures During Kyphoplasty. R. Todd Allen MD; cols; Spine, 2009, vol 34, num 14, pp 1486-1491
19. Effect of Osteoporosis on Morphology and Mobility of the Lumbar Spine. Zhengy Yang PhD, cols; Spine (2009); vol 34, num 3, pp E115-E121
20. Prevention, Diagnosis, and Treatment of glucocorticoid Induced Osteoporosis by Rheumatologists in a Latin American City. Carlo V. Caballero-Uribe, MD, cols; J Clin Rheumatol (2008); 14: 153-155
21. Transient Migratory Osteoporosis Rapid Response to Pamidronate Treatment. Sara Carty, MBBS, MRCP, cols; J Clin Rheumatol 2007; 13: 138-139
22. The Osteoporosis Self-Assessment Screening Tool: A Useful Tool for the Orthopaedic Surgeon. J Bone Joint Surg Am. (2007); 89; 765-72

23. Spinal Curvatures and Quality of Life in Women with Vertebral Fractures Secondary to Osteoporosis. Bernard Cortet, MD, cols; Spine (1999); vol 24, num 18, pp 1921-1925
24. Osteoporosis. Problema Clínico de Actualidad. Juan Guzman Cruz, cols; An Med (Mex) 2008; 53 (2): 87-99
25. Performance of the Osteoporosis Self-assessment Screening Tool for Osteoporosis in American Men. Robert A. Adler, MD, cols; Mayo Clin Proc. 2003; 78:723-727
26. A simple Tool to Identify Asian Women at Increased Risk of Osteoporosis. L. K. H. Koh, cols; Osteoporosis Int (2001) 12: 699-705
27. Effective initiation of Osteoporosis Diagnosis and Treatment for Patients with Fragility Fracture in an Orthopaedic Environment. Earl R. Bogoch, cols; J Bone Joint Surg Am. 2006; 88: 25-34
28. Ensayo Aleatorio del efecto de alendronate sobre el riesgo de fracturas en mujeres con fracturas vertebrales existentes. Dennis M Black, cols; Lancet 1996; 348: 1535-41
29. Efectos de Ibandronato oral, diario o intermitente, sobre el riesgo de fracturas por osteoporosis posmenopáusica. Charles H Chesnut III, cols; J Bone Miner Res 2004; 19: 1241-1249
30. The Inpatient Consultation Approach to Osteoporosis Treatment in Patients with a Fracture. Is Automatic Consultation Needed? Elizabeth A. Streeten, cols; J Bone Joint Surg Am. 2006; 88: 1968-1974
31. Instructional Course Lectures, the American Academy of Orthopaedic Surgeons- Osteoporosis: Diagnosis and Treatment\*. Joseph M. Lane, cols; J Bone Joint Surg Am. 1996; 78: 618-32
32. Calcium Deficiency and Osteoporosis: Observations in one Hundred And Sixty-six patients and Critical Review of the Literature. B. Lawrence Riggs, cols.; J Bone Joint Surg Am. 1967; 49: 915-924
33. Effective Osteoporosis Education in the Outpatient Orthopaedic Setting. Jeff E. Schulman, MD, cols.; J Bone Joint Surg 2007; vol 89-A, num 2; pp301-306

34. The Coexistence and Characteristics of osteoarthritis and osteoporosis. JH Healey, cols.; J Bone Joint Surg 1985; Vol. 67-A, num 4, pp 586-592
35. Transient Painful Osteoporosis of the Lower Extremities. Nikolaus D. Langloh, cols; J bone Joint Surg Am 1973; 55: 1188-1196
36. Bone Mineral in the Radius and Vertebral Osteoporosis in an Insured Population: A Correlative Study Using 125I Photon absorption and Miniature Roetgenography. Naomi F. Goldsmith, cols; J Bone Joint Surg Am 1973; 55: 1276-1293
37. Clinical Considerations in Premenopausal Osteoporosis. Margaret L. Gourlkay MD, cols.; Arch Intern Med 2004; 164: 603-614
38. Osteoporosis, Osteomalacia, and the Skeletal System. James A. Nicholas, cols.; J Bone Joint Surg Am 1963; 45: 391-405
39. Distinguishing transient osteoporosis from avascular necrosis of the hip. JJ Guerra and ME Steinberg. J Bone Joint Surg Am 1995; 77: 616-624
40. Femoral Trabecular-Pattern index and bone mineral content measurement by photon absorption in senile osteoporosis. MR Khairi, cols.; J Bone Joint Surg Am 1976; 58:221-226
41. Resection of the Radial Head for Fracture of the Radial Head. Don A. Coleman, MD, cols.; J Bone Joint Surg 1985, vol 69-A, No 3, pp 385-397
42. Roger Dee, Lawrence C. Hurst Principles of Orthopaedic Practice Second Edition Ed. Mc Graw Hill 1997
43. Osteoporosis in Men. The effects of Gender on skeletal Health. Regis O'Keefe; J Bone Joint Surg Am. 2001; 83:316-320