



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

TESIS DOCTORAL

Características estructurales del hueso trabecular de cabeza femoral: diferencias entre hueso fracturado y hueso no fracturado.

Juan Manuel Sánchez Siles

Directores: Dr. Enrique Guerado Parra

Dr. Iskandar Tamimi Mariño

Programa de Doctorado de Biomedicina, Investigación Traslacional y Nuevas Tecnologías en Salud.

Universidad de Málaga, 2022



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

AUTOR: Juan Manuel Sánchez Siles

 <https://orcid.org/0000-0002-0056-9569>

EDITA: Publicaciones y Divulgación Científica. Universidad de Málaga



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional:

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode>

Cualquier parte de esta obra se puede reproducir sin autorización pero con el reconocimiento y atribución de los autores.

No se puede hacer uso comercial de la obra y no se puede alterar, transformar o hacer obras derivadas.

Esta Tesis Doctoral está depositada en el Repositorio Institucional de la Universidad de Málaga (RIUMA): riuma.uma.es



UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

Facultad de Medicina

**Programa de Doctorado de Biomedicina, Investigación
Traslacional y Nuevas Tecnologías en Salud.**

TESIS DOCTORAL

**Características estructurales del hueso
trabecular de cabeza femoral: diferencias entre
hueso fracturado y hueso no fracturado.**

DOCTORANDO:

Juan Manuel Sánchez Siles

DIRECTORES:

Dr. Enrique Guerado Parra

Dr. Iskandar Tamimi Mariño

2022

Autor: Juan Manuel Sánchez Siles.

ORCID iD

<https://orcid.org/0000-0002-0056-9569>



DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DE LA TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR

D./Dña JUAN MANUEL SÁNCHEZ SILES

Estudiante del programa de doctorado PROGRAMA DE DOCTORADO DE BIOMEDICINA, INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL Y NUEVAS TECNOLOGÍAS EN SALUD de la Universidad de Málaga, autor/a de la tesis, presentada para la obtención del título de doctor por la Universidad de Málaga, titulada: CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES DEL HUESO TRABECULAR EN HUMANOS: DIFERENCIAS ENTRE HUESO FRACTURADO Y HUESO NO FRACTURADO.

Realizada bajo la tutorización de PROF. DR. ENRIQUE GUERADO PARRA y dirección de PROF. DR. ENRIQUE GUERADO PARRA/DR. ISKANDAR TAMIMI MARIÑO (si tuviera varios directores deberá hacer constar el nombre de todos)

DECLARO QUE:

La tesis presentada es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, conforme al ordenamiento jurídico vigente (Real Decreto Legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo.

Igualmente asumo, ante a la Universidad de Málaga y ante cualquier otra instancia, la responsabilidad que pudiera derivarse en caso de plagio de contenidos en la tesis presentada, conforme al ordenamiento jurídico vigente.

En Málaga, a 1 de MAYO de 2022

Fdo.: JUAN MANUEL SÁNCHEZ SILES Doctorando/a	Fdo.: DR. ENRIQUE GUERADO PARRA Tutor/a
FDO: DR. ISKANDAR TAMIMI MARIÑO Director/a	FDO: DR. ENRIQUE GUERADO PARRA Director/a

Enrique Guerado Parra, Catedrático de Ortopedia y Traumatología de la Universidad de Málaga vinculado como Director de la Unidad Clínica de Cirugía Ortopédica, Traumatología y Rehabilitación del Hospital Universitario Costa del Sol de la Junta de Andalucía,

Informo que:

D. Juan Manuel Sánchez Siles ha realizado, bajo mi dirección de doctorado, el trabajo “Características estructurales del hueso trabecular en humanos: diferencias entre hueso fracturado y hueso no fracturado”. **D. Juan Manuel Sánchez Siles**, junto con los directores de doctorado, ha planificado el trabajo, ha redactado el proyecto, obtenido los consentimientos e intervenido quirúrgicamente a pacientes, ha obtenido y procesado en primera instancia las muestras, ha coordinado el equipo que las ha procesado posteriormente, así como ha realizado trabajo de campo para comprender la obtención de resultados en estos procesos especializados y situarlos de forma que se pudieran alcanzar conclusiones. Los resultados los ha discutido con los directores de doctorado, a los que les ha presentado un texto ordenado y coherente, corrigiéndolo meticulosamente tras la discusión. Finalmente ha editado el texto que ha sido nuevamente corregido con los directores hasta obtener esta versión final.

En virtud de ello, el texto que se presenta a continuación carece de conflictos de interés y cumple con los requisitos científicos y éticos para la obtención del título de Doctor en Medicina.

Málaga, 20 de Mayo de 2022.

Prof. Dr. Enrique Guerado Parra

Iskandar Tamimi Mariño, Profesor asociado de Ortopedia y Traumatología de la Universidad de Málaga, vinculado como Facultativo Especialista de área de la Unidad Clínica de Cirugía Ortopédica y Traumatología del Hospital Regional Universitario de Málaga de la Junta de Andalucía,

Informo que:

D. Juan Manuel Sánchez Siles ha realizado, bajo mi dirección de doctorado, el trabajo “Características estructurales del hueso trabecular en humanos: diferencias entre hueso fracturado y hueso no fracturado”. **D. Juan Manuel Sánchez Siles**, junto con los directores de doctorado, ha planificado el trabajo, ha redactado el proyecto, obtenido los consentimientos e intervenido quirúrgicamente a pacientes, ha obtenido y procesado en primera instancia las muestras, ha coordinado el equipo que las ha procesado posteriormente, así como ha realizado trabajo de campo para comprender la obtención de resultados en estos procesos especializados y situarlos de forma que se pudieran alcanzar conclusiones. Los resultados los ha discutido con los directores de doctorado, a los que les ha presentado un texto ordenado y coherente, corrigiéndolo meticulosamente tras la discusión. Finalmente ha editado el texto que ha sido nuevamente corregido con los directores hasta obtener esta versión final.

En virtud de ello, el texto que se presenta a continuación carece de conflictos de interés y cumple con los requisitos científicos y éticos para la obtención del título de Doctor en Medicina.

Málaga, 20 de Mayo de 2022.

Prof. Dr. Iskandar Tamimi Mariño

CRÉDITOS

Esta Tesis Doctoral se trata de un proyecto multicéntrico que ha implicado a distintas instituciones nacionales e internacionales. La planificación, así como la selección e intervención quirúrgica de los pacientes, procesado inicial y almacenamiento de las muestras se han llevado a cabo en el Hospital Regional de Málaga, dependiente de la Consejería de Salud y Familias de la Junta de Andalucía. El análisis densitométrico, cristalográfico por difracción de rayos X y por microtomografía computadorizada se han llevado a cabo en los laboratorios de experimentación de la Facultad de Odontología de la Universidad de McGill. Por último, el análisis de espectrometría mediante resonancia nuclear magnética en estado sólido con giro de ángulo mágico se han llevado en el departamento de radiología de la Facultad de Medicina de Harvard y el Hospital General de Massachusetts. Cada centro ha contribuido a este proyecto con los recursos personales y materiales a su alcance.

Además, este Proyecto ha sido financiado por el Instituto Canadiense de Investigación para la Salud. Convocatoria 2014. Proyecto Investigación MOP-130560.

**PUBLICACIONES RELACIONADAS CON LA TESIS
DOCTORAL.**

Los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral han sido publicados en los siguientes artículos científicos originales:

JM Sánchez Siles, I Tamimi-Mariño, ARG Cortés, JL Ackerman, D González Quevedo, E Guerado, F Yaghoubi, MN Abdallah, H Eimar, M Laurenti, A Al-Subaie, F Tamim.

Título: Age related changes in the bone microstructure in patients with femoral neck fractures.

Revista (Año, Volumen): Injury (2020, 51).

AGRADECIMIENTOS.

El camino que lleva a completar una Tesis Doctoral es sin duda una experiencia personal y profesional llena de altibajos, pero como todo camino arduo, el llegar al final produce una satisfacción difícilmente descriptible.

Quizá los aprendizajes más claros que he adquirido en este tiempo son: que una Tesis Doctoral te abre una nueva manera de ver el universo clínico, y que culminar un proyecto así sería imposible sin la ayuda de no pocas personas que durante este tiempo me han acompañado. Es por ello que deseo mostrarles mi eterna gratitud.

En primer lugar a mi querido amigo y director de tesis, Dr. Iskandar Tamimi, que fue el que me contagió la pasión por el mundo de la investigación y con el que he compartido incontables horas para llevar a cabo este proyecto. Siempre le estaré agradecido por su apoyo incondicional y paciencia.

En segundo lugar a mi tutor de tesis, Prof. Dr. Enrique Guerado Parra, al cual admiro por su inmensa sabiduría, experiencia y capacidad de trabajo infinita. A él también quiero agradecerle su gran dedicación y sus directrices, piezas claves para culminar esta tesis.

En tercer lugar, a mis compañeros del servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología del Hospital Regional de Málaga, por haberme ayudado en la recogida de datos y muestras para el trabajo, así como por crear diariamente el

mejor de los ambientes de trabajo. Ellos hacen que me sienta orgulloso de pertenecer a la institución a la cual representamos.

En cuarto lugar, al Prof. Dr. Faleh Tamimi y todo su equipo de investigación en la Universidad de McGill, por hacerme partícipe de este proyecto y por haberme acogido durante dos semanas en su departamento y haberme enseñado en profundidad el material con el que trabajo diariamente, el hueso. También al Prof. Dr. Jerome Ackerman y Dr. Arthur Cortés por enseñarme algo tan complejo y apasionante como la RNM para el estudio del contenido mineral y orgánico del hueso.

En quinto lugar, a mis padres y hermanos, por educarme en los nobles valores del esfuerzo y la constancia. Sin estos valores no habría alcanzado esta meta.

Y, por último, a mi mujer, Claudia y mis hijos Miriam, Pablo y Juanma, por su inmenso amor que día a día me demuestran y por apoyarme todos estos años. Son ellos la luz de mi vida y a ellos les debo las fuerzas para acabar esta tesis.

ÍNDICE.

Abreviaturas	1
I. Resumen	3
II. Introducción	7
1. Estado de la cuestión	9
1.1. Anatomía del hueso	11
1.1.1. Anatomía del extremo proximal del fémur	12
1.2. Histología del hueso	15
1.2.1. Matriz ósea	15
1.2.2. Células del hueso	20
1.2.2.1. Osteoblasto	20
1.2.2.2. Osteocito	22
1.2.2.3. Osteoclasto	24
1.3. Fisiología del hueso	26
1.3.1. Modelado óseo	26
1.3.2. Remodelado óseo	27
1.3.3. Regulación hormonal ósea	29
1.4. Biomecánica ósea	34
1.4.1. Factores determinantes de la resistencia ósea	35
1.5. Patología ósea	37
1.5.1. Osteoporosis: concepto y perspectiva	37
1.5.1.1. Fisiopatología de la osteoporosis	41
1.5.1.2. Fractura de cadera	47
1.5.2. Artrosis	50
1.5.2.1. Artrosis de cadera	50
2. Hipótesis y justificación	53
3. Objetivos	57
3.1. Objetivo primario	59
3.2. Objetivos secundarios	59

4. Material y método	61
4.1. Grupos de estudio.....	63
4.2. Fase reclutamiento	63
4.3. Criterios de selección.....	64
4.3.1. Criterios de inclusión	64
4.3.2. Criterios de exclusión	64
4.4. Variables del estudio.....	65
4.5. Procedimientos	66
4.5.1. Marco ético de la investigación.....	66
4.5.2. Consentimiento informado	67
4.5.3. Obtención de datos clínicos.....	67
4.6. Procesamiento de las muestras.....	68
4.7. Análisis de las muestras	70
4.7.1. Densitometría ósea.....	70
4.7.2. Microtomografía computadorizada	71
4.7.3. Difracción de rayos X.....	73
4.7.4. Espectrometría RNM-ES-MAS	77
4.8. Análisis estadístico	81
4.9. Esquema procesamiento y análisis del proyecto	82
5. Resultados	85
5.1. Datos demográficos	87
5.2. Densitometría ósea.....	90
5.3. Microtomografía computadorizada.....	92
5.4. Difracción de Rayos X	94
5.5. Espectroscopía de resonancia magnética en estado sólido	95
5.6. Correlaciones.....	96
5.6.1. DMO y microestructura ósea	96
5.6.2. Edad y microestructura ósea	101
5.6.3. Tamaño cristal y microestructura ósea	104

6. Discusión	109
6.1. Datos demográficos	111
6.2. Densitometría mineral ósea	113
6.3. Microtomografía computadorizada.....	115
6.4. Difracción de Rayos X	118
6.5. Espectroscopía de resonancia magnética en estado sólido ...	122
6.6. Correlación DMO y parámetros estructurales analizados	128
6.7. Correlación edad y parámetros estructurales analizados	130
6.8. Correlación cristalografía y RNM-ES	134
6.9. Fortalezas y limitaciones.....	135
7. Conclusiones.....	139
8. Perspectiva clínica y nuevas hipótesis.....	145
9. Bibliografía	151
10. Anexos	167
I. Imágenes.....	169
II. Tablas.....	171
III. Informe comité ético	173
IV. Estancia investigación Universidad McGill	175
V. Artículos relacionados con la Tesis Doctoral	177

Abreviaturas:

ADN:	Ácido Desoxirribonucleico.
BMP:	Proteína Morfogénica Ósea.
BMU:	Unidades Multicelulares Básicas.
CBFA1:	Core Binding Factor Alpha 1.
ClH:	Cloruro de Hidrógeno.
CMO:	Contenido Mineral Óseo.
DL:	Dislipemia.
DM:	Diabetes Mellitus.
DMO:	Densidad Mineral Ósea.
DRX:	Difracción de Rayos X.
DXA:	Absorciometría de Rayos X de Doble Energía.
ES:	Estado Sólido.
FC:	Fractura de cadera
FEA:	Análisis de Elementos Finitos
FGF:	Factor de Crecimiento Fibroblástico.
FNT- α :	Factor de Necrosis Tumoral α .
GC:	Glucocorticoides.
GH:	Hormona Crecimiento.
HA:	Hidroxiapatita.
HTA:	Hipertensión Arterial.
ICC:	Índice de Comorbilidad de Charlson.
IGF:	Factor de Crecimiento Insulínico.
IL:	Interleuquina.
IMC:	Índice de Masa Corporal.
MAS:	Giro de Ángulo Mágico.
M-CSF:	Factor Estimulador de Colonias de Macrófagos.
MicroTC:	Micro Tomografía Computadorizada.
MMP:	Metaloproteasas.

OA:	Osteoartrosis.
OARSI:	Sociedad Internacional para Investigación en Osteoartrosis.
OMS:	Organización Mundial de la Salud.
OP:	Osteoporosis.
OPG:	Osteoprotegerina.
PDGF:	Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas.
PTH:	Parathormona.
PTH1R:	Receptor tipo 1 para Parathormona.
PTHrp:	Péptido Relacionado Parathormona.
RANK:	Receptor Activador del Factor Nuclear Kappa.
RANK-L:	Ligando del Receptor Activador del Factor Nuclear Kappa.
SAS:	Servicio Andaluz de Salud.
SERM:	Moduladores Selectivos del Receptor de Estrógenos.
SNPS:	Sistema Nervioso Parasimpático.
SNS:	Sistema Nervioso Simpático.
RNM:	Resonancia Nuclear Magnética.
RNM-ES-MAS:	Resonancia Nuclear Magnética en Estado Sólido con Giro de Ángulo Mágico.
SD:	Desviación Estándar.
TC:	Tomografía Computadorizada.
TIMP:	Inhibidores Tisulares de Metaloproteasas.
TBS:	Score de Hueso Trabecular.
TFG- β :	Factor de Crecimiento Transformante β .

I. Resumen.

Las fracturas de cadera en el anciano se deben a caídas en pacientes que sufren osteopenia y, por tanto, fragilidad ósea. La osteoporosis, es una enfermedad silente cuya primera manifestación clínica suele ser una fractura. En la práctica clínica habitual, el método diagnóstico para la fragilidad ósea es la absorciometría de rayos X de doble energía (DXA). La DXA aporta información sobre la cantidad de hueso, pero no sobre su calidad. La mayoría de las fracturas en estos individuos no cumplen con criterios densitométricos de osteoporosis. Por lo tanto, es lógico pensar que existen otras alteraciones estructurales en el hueso que pueden contribuir a su debilitamiento, y por tanto al riesgo de sufrir una fractura.

El objetivo de este trabajo consiste en estudiar las diferencias en cuanto a la microestructura y nanoestructura del hueso trabecular en pacientes con fractura de cadera con un grupo control cuyo diagnóstico era artrosis de cadera y que no sufrieron fractura de cadera.

Para ello, se reclutaron 31 pacientes con fractura de cadera y 42 con artrosis de cadera, interviniéndose quirúrgicamente mediante artroplastia de cadera. De las cabezas femorales obtenidas se extrajo una muestra de hueso trabecular, que se sometió a pruebas de absorciometría de rayos X de doble energía (DXA), micro-tomografía computadorizada (microTC), cristalografía por análisis espectroscópico de difracción de rayos X (DRX) y espectroscopia de

resonancia magnética en estado sólido con giro de ángulo mágico (MAS-RNM-ES).

Los resultados obtenidos mostraron las siguientes diferencias entre los grupos: 1) Los pacientes con fractura tuvieron una densidad mineral ósea (DMO) menor que los pacientes con coxartrosis. 2) Los pacientes con fractura de cadera presentaron menor masa ósea, con menos trabéculas y mayor separación entre ellas. 3) No se observaron diferencias entre ambos grupos en el tamaño de los cristales ni en la concentración de ^1H o ^{31}P . 4) La DMO se correlacionó con el resto de parámetros estructurales de distinta manera en ambos grupos: En el grupo de coxartrosis, la DMO se correlacionó positivamente con el contenido mineral del hueso (CMO), el volumen óseo y el número de trabéculas, y de forma negativa con la separación trabecular y la concentración de ^1H . En el grupo de fracturados, tan sólo se correlacionó de forma positiva con la CMO. 5) La edad se correlacionó en el grupo de fracturas de forma inversa con la concentración de ^1H , sin observarse correlación con el resto de parámetros estructurales. En el grupo de artrosis, no se halló ningún tipo de correlación estadísticamente significativa entre la edad y los parámetros estudiados.

En conclusión, los resultados mostraron que existen diferencias microestructurales entre el hueso trabecular de los pacientes con fractura de cadera respecto a los pacientes con artrosis de cadera. Los pacientes con fractura de cadera tuvieron una menor densidad ósea, un menor volumen óseo, un menor número de trabéculas y una mayor separación trabecular. No se

hallaron diferencias entre ambos grupos en cuanto al tamaño de los cristales ni a la concentración relativa de contenido mineral ni orgánico. La DMO reflejó un comportamiento dispar entre los grupos de estudio. Mientras que en el grupo de artrosis de cadera se relacionó con la microestructura ósea y la concentración relativa de proteínas en el hueso, en el de fracturas de cadera no tuvo relación con dichos parámetros. Por tanto, probablemente, la DMO podría ser más útil en pacientes que no han sufrido fractura, ya que aporta información acerca de la microestructura ósea y la composición relativa de materia orgánica del hueso. Por último, la edad fue una variable independiente significativa, ya que en los pacientes con fractura de cadera el contenido proteico disminuía con la edad, pero no en el grupo de coxartrosis. Esta disminución del contenido proteico del hueso, podría explicar en parte el aumento del riesgo de fractura asociado a la edad, mejor que otros parámetros como la DMO o la alteración de la microestructura en los pacientes de mayor edad y que han sufrido una fractura de cadera.

II. Introducción.

Las fracturas de cadera constituyen en la actualidad un problema sanitario de gran importancia que afecta, sobre todo, a la población anciana de los países industrializados. Este problema tiende a aumentar, generando un importante coste humano y económico. Aunque en la génesis de la fractura la caída aparece como variable determinante, debido a la fragilidad del hueso y, por tanto, su proclividad a romperse, el patrón histopatológico y la estabilidad ósea tras el tratamiento están comprometidas, con grandes dificultades actuales para diagnosticar y tratar la fragilidad (1–7).

La técnica más ampliamente utilizada para el diagnóstico de la osteoporosis es la absorciometría de rayos X de doble energía (en inglés, dual energy X-ray absorptiometry [DXA]) (8,9). La DXA aporta información acerca de la densidad mineral ósea (DMO), que, si bien podría relacionarse con el riesgo relativo de fractura, la mayoría de las fracturas ocurren en mujeres y hombres que no cumplen los criterios diagnósticos de osteoporosis en la DXA. Por tanto, la valoración de otros factores de riesgo que sean independientes de la DMO es importante para predecir el riesgo de fractura (10,11).

La resistencia ósea está determinada por la DMO y otras propiedades estructurales y fisiológicas del hueso como son: el remodelado, la arquitectura (tamaño y geometría ósea, grosor, conectividad y separación trabeculares, grosor y porosidad cortical...), el daño por acumulación, las propiedades de la

matriz ósea, la mineralización y sus propiedades (tamaño de los cristales, su orientación...), etc (12,13). Sin embargo, en la práctica clínica no existen métodos capaces de medir esta calidad ósea y relacionarla con el riesgo de fracturas en los pacientes (14). Además, en la práctica clínica a menudo existen variables que pueden influir en la DMO, pudiendo alterar la interpretación de los resultados obtenidos por DXA, subestimando la gravedad de la osteoporosis. Por ejemplo, los casos de fracturas por compresión, de artrosis, escoliosis, calcificaciones aórticas, material quirúrgico, el espesor del tejido blando subyacente, la posición de la región estudiada, objetos de alta densidad y, en su caso, la lateralidad de la cadera elegida, son causas de artefactos en la DXA (15,16). La orientación de la DXA también puede influir en los resultados de la medición de la densidad ósea; por ejemplo los exámenes en proyecciones laterales del raquis incrementan el número de mujeres diagnosticadas de osteoporosis cuando se comparan con proyecciones anteroposteriores (13,15). Por tanto, se necesitan nuevos métodos diagnósticos más sensibles y específicos.

Este trabajo ha sido diseñado para examinar las características estructurales del hueso trabecular de la cabeza femoral en humanos y analizar las diferencias del hueso de pacientes que sufrieron una fractura de cadera de aquellos que no la sufrieron.

1. ESTADO DE LA CUESTIÓN

El hueso es un tejido conectivo y metabólicamente activo que está sometido a una continua regeneración y cambio. Además de una función estructural, el esqueleto tiene una función metabólica primordial (17). Las *funciones estructurales* del esqueleto consisten, entre otras, en dar soporte al resto del cuerpo, permitir el movimiento y la locomoción actuando como brazos de palanca animados por los músculos, proteger órganos internos vitales, o participar en la respiración. En cuanto a su *función metabólica*, el hueso participa activamente en el mantenimiento de la homeostasis mineral, balance ácido-base, actúa como reservorio de factores de crecimiento y citoquinas y sirve de sustento para el sistema hematopoyético con el que comparte células y factores reguladores (17,18).

1.1. ANATOMÍA DEL HUESO.

En condiciones fisiológicas, el hueso maduro es de tipo fibrilar y está formado por:

- *Hueso cortical*. Se trata de un hueso compacto que representa el 80 % de la masa ósea de un individuo. Se encuentra en los huesos largos y en la periferia de los huesos esponjosos. Las células se distribuyen siguiendo un sistema harversiano en el cual las osteonas se disponen de forma compacta recorridas por canales de Havers y Volkmann donde se alojan arteriolas, vénulas, capilares, nervios y conductos linfáticos(19,20). Tiene una porosidad de entre un 5-10 % y esto le confiere un módulo de

elasticidad de Young relativamente alto, por lo que es resistente a fuerzas de compresión, flexión y torsión (21).

- *Hueso esponjoso o trabecular.* Se trata de un hueso no compacto, con una porosidad entre el 50-90 %. Su peso representa el 20% del total del peso óseo, aunque su superficie es mucho mayor que la del hueso cortical, lo que le permite ser metabólicamente más activo que el hueso cortical, con tasas de remodelado más altas (19,20). Aunque su módulo de elasticidad de Young es inferior al hueso cortical, su función estructural es muy importante, ya que confiere elasticidad al hueso y, sobre todo, capacidad de absorción de cargas (21).

Tanto el hueso trabecular como el cortical están formados por el mismo tipo de células y componentes de la matriz celular, pero las proporciones varían en ambos, confiriéndoles propiedades metabólicas, fisiológicas y mecánicas distintas. La proporción del componente cortical y trabecular de cada hueso es única y, junto con la orientación y distribución de cada uno de estos componentes, define sus propiedades biomecánicas (21,22).

1.1.1. ANATOMÍA DEL EXTREMO PROXIMAL DEL FÉMUR.

La cadera es una articulación con alto grado de constricción del tipo diartrodial y está formada por el acetábulo y la cabeza femoral. Su estabilidad viene dada fundamentalmente por la forma de sus superficies articulares,

aunque también la conforman elementos estabilizadores como el labrum, los ligamentos coxofemorales y la cápsula articular. Es de gran importancia entender que la articulación de la cadera sirve como nexo de unión en la transmisión de cargas desde el tronco a los miembros inferiores (23).

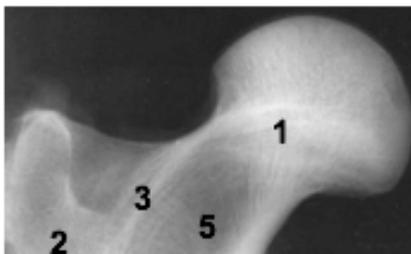
La cabeza del fémur tiene una forma casi esférica y está envuelta por una fina capa de cartílago de entre 3 y 4 mm. Su tamaño habitualmente es de entre 40 y 60 mm, y guarda relación con el peso corporal. La cabeza del fémur está formada principalmente por una red relativamente densa de hueso trabecular que permite la absorción y distribución de cargas hacia el hueso cortical del cuello femoral y región proximal del fémur (24).

El hueso trabecular presenta una organización característica a nivel de la cabeza y cuello del fémur, que optimiza la absorción de cargas y aporta resistencia contra la fractura. Existe una densificación trabecular lineal que se extiende longitudinalmente desde la cortical lateral del trocánter mayor a la región más medial de la cabeza femoral llamado *grupo trabecular de tensión principal*. Existen además otros refuerzos trabeculares en sentido perpendiculares al grupo trabecular de tensión, uno a nivel de la cabeza femoral desde la porción superior a la inferior de la misma llamado *grupo trabecular de compresión primario* y otro que va desde la región superior del trocánter mayor hacia el cóncavo, llamado *grupo trabecular de compresión secundario*. Por último, existe un *grupo trabecular de tensión secundario*, que parte lateral y distal al grupo de tensión primario, y tiene una dirección ascendente y medial curvada,

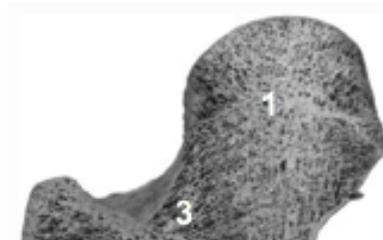
que termina interdigitándose con el grupo trabecular de compresión secundario. El grupo trabecular de compresión primario, junto a la porción más medial del grupo trabecular de tensión principal constituyen el *sistema trabecular medial*. El grupo trabecular de compresión secundario, junto con el grupo de tensión secundario y la porción más lateral del grupo trabecular de tensión principal, constituyen el *sistema trabecular lateral* (Imagen 1) (24–26).

El triángulo de Ward es una zona de menor densidad trabecular en la unión cervicocefálica proximal del fémur. Está delimitado en la zona medial por el grupo de compresión primario, en la zona superior por el grupo de tensión primario y en la zona lateral por el grupo de compresión y tensión secundarios (Imagen 1). Se hace patente radiográficamente cuando baja la densidad mineral ósea en la extremidad proximal del fémur y constituye una zona de debilidad importante en la génesis de la fractura de cadera (25,27).

A



B



1. Grupo compresión primario
2. Grupo compresión secundario
3. Grupo tensión primario

Imagen 1. A) Radiografía convencional fémur proximal B) Corte anatómico fémur proximal. (Adaptado de Patel & Murphy, 2006)

1.2. HISTOLOGÍA DEL HUESO.

El hueso tiene una organización histológica relativamente sencilla, aunque sometida a una regulación tanto local como sistémica muy compleja. De forma muy somera, el hueso está compuesto por una matriz ósea que depende en forma y composición de 3 tipos celulares que son el osteoblasto, osteocito y osteoclasto.

1.2.1. Matriz ósea.

La matriz ósea está compuesta en un 50-70 % de componente mineral, un 20-40 % de componente orgánico, un 5-10 % de agua y menos de 3 % de lípidos (18).

El componente orgánico del hueso está formado fundamentalmente por colágeno tipo I, que representa aproximadamente el 90 % de su peso. Existen muchos tipos de colágeno tipo I. En el hueso, el colágeno tipo I más frecuente es el galactosil-hidroxisilina, a diferencia del glucosil-galactosil-hidroxisilina que es el más frecuente en el resto del organismo, como por ejemplo la piel. Esto, junto con un proceso de hidroxilación y glicosilación post translacional que se lleva a cabo en el osteoblasto y es específico del hueso, explicaría en parte porqué el colágeno tipo I del hueso se mineraliza y en cambio el de la piel no (28).

Una vez sintetizadas las moléculas de procolágeno, son secretadas a la matriz extracelular a través de vesículas. En el espacio extracelular, las cadenas de procolágeno se unen en grupos de tres con disposición helicoidal, formando fibras de tropocolágeno (Imagen 2). El tropocolágeno se agrega, a su vez, de forma escalonada formando microfibrillas. Las fibras de colágeno están formadas por varias de estas microfibrillas. La estructura colágena se estabiliza mediante uniones por entrecruzamiento (cross-linking en inglés), en las que participan los proteoglicanos. Esto le confiere una resistencia enorme, llegando a soportar fuerzas de tensión de 10000 veces su propio peso. Por lo tanto, el colágeno resiste fuerzas de tensión mayores que el acero a igual tamaño de sección (28).

En el hueso existen también otras proteínas no colágenas, cuya principal función es modular el proceso de mineralización de las fibras de colágeno, así como participar en la estructuración del colágeno en la matriz ósea (19).

La *Osteocalcina* (también llamada Proteína Gla) es la proteína no colágena más abundante en el hueso, representando hasta un 20 % de las proteínas no colágenas. Es sintetizada en el osteoblasto por mediación de la 1,25 dihidroxivitamina D. Actúa modulando la mineralización y remodelado óseo. Se ha visto que atrae a los osteoclastos, además de participar en la regulación del crecimiento de los cristales de hidroxiapatita (HA). La osteocalcina es un marcador importante del remodelado óseo en la práctica clínica, al igual que la fosfatasa alcalina. Los incrementos en los niveles séricos de osteocalcina implican un aumento de la resorción ósea o un aumento del remodelado óseo. Esto es importante como monitorización de actividad de numerosos tumores óseos y metástasis, donde un incremento de la osteocalcina o la fosfatasa alcalina podrían traducir una recidiva o la aparición de nuevas metástasis (28).

La *Osteonectina* inicia y promueve el crecimiento de los cristales de hidroxiapatita así como su madurez. Se une tanto al calcio como a la hidroxiapatita y al colágeno tipo I, por lo que es una proteína muy importante en la mineralización del hueso (19,28).

Los *Proteoglicanos*, como mencionábamos antes, son péptidos que actúan fundamentalmente en la adhesión y entrecruzamiento entre las fibrillas de tropocolágeno y las fibras de colágeno maduro. Además, inhiben la mineralización ósea. Son responsables en parte de la elasticidad y resistencia a la tensión del colágeno. En este proceso también participan en menor medida la osteonectina y la fibronectina (28).

La *Fibronectina* es secretada por el osteoblasto durante los procesos de osteogénesis como en el crecimiento óseo o en la reparación de fracturas óseas. La fibronectina actúa regulando la adhesión celular de osteoblastos a la matriz, por lo tanto es una molécula importante en el proceso de remodelado óseo (28).

La *Osteopontina* pertenece a la familia de las sialoproteínas óseas. Actúa fundamentalmente uniéndose al receptor de la integrina en el osteoclasto, participando en la regulación de la adhesión celular a la matriz ósea, así como señalización a otras células. Es importante para el proceso de reabsorción ósea (19,28).

La *Esclerostina* es sintetizada por el osteocito y actúan inhibiendo la actividad osteoblástica, al ser un antagonista de la vía Wnt. Niveles altos de esclerostina implican una disminución en la formación ósea. En los últimos años, se ha convertido en una nueva diana terapéutica, ya que inhibiendo la esclerostina, se mejora la actividad osteoblástica y con ello la DMO. El

romosozumab es un anticuerpo monoclonal anti-esclerostina que se ha aprobado este año para el tratamiento de la osteoporosis postmenopáusica en la Unión Europea (29)

Por último, existen un grupo de proteínas no colágenas sintetizadas por el osteoblasto que actúan como factores de crecimiento. Están presentes en pequeñas proporciones en la matriz extracelular, pero actúan como moduladores. Las más importantes serían:

- *Proteína morfogénica ósea (BMP)* que inducen la diferenciación de las células mesenquimales en osteoblastos.
- *Factor de crecimiento transformante β (TFG- β)* cuya principal función en el hueso es activar la síntesis de colágeno en el osteoblasto. Se encuentra en altas proporciones en el hematoma de fractura, por lo que también es importante en la multiplicación de las células mesenquimales y podría estar relacionado con la consolidación ósea.
- *Factor de crecimiento insulínico (IGF)* induce la síntesis de colágeno tipo I, así como la proliferación celular y la formación ósea.
- *Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)* que actúa como quimiotáctico para los osteoblastos y células inflamatorias (19).
- *Interleucinas 1 y 6 (IL-1, IL-6)*, actúan como quimiotáctico e inducen la activación de osteoclastos inactivos (30).

El componente inorgánico representa el 60 % del peso seco del hueso y está compuesto principalmente por hidroxapatita cálcica, cuya fórmula idea es $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. A un nivel ultraestructural, el hueso está organizado para maximizar la resistencia a las fuerzas mecánicas aplicadas. Los cristales de HA se disponen de forma paralela a las fibras de colágeno, a lo largo de su eje largo (eje c) (Imagen 2). Esta orientación maximiza la resistencia ósea a fuerzas de tensión y compresión (28).

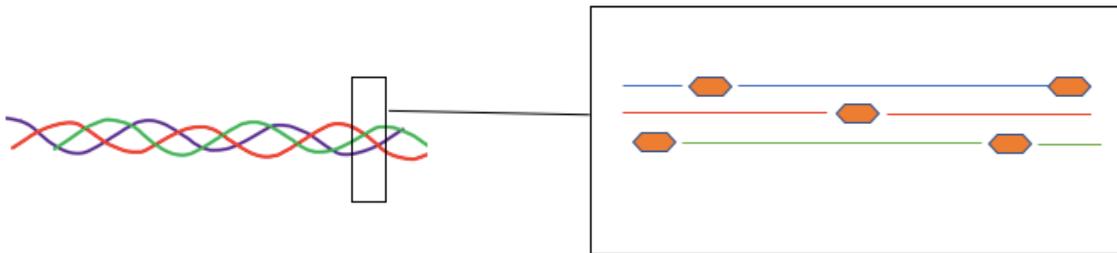


Imagen 2. A la izquierda representación gráfica de la disposición en triple hélice del colágeno. A la derecha se observa cómo se disponen los cristales de HA a lo largo de su eje largo de forma paralela entre las fibras.

1.2.2. CÉLULAS DEL HUESO.

Las células principales que encontramos en el hueso son los osteoblastos, los osteocitos y los osteoclastos. Los osteoblastos y osteocitos son derivados de células mesenquimales, mientras que los osteoclastos son derivados de células hematopoyéticas de la misma estirpe que monocitos y macrófagos (28).

1.2.2.1 Osteoblasto.

Los osteoblastos son los principales responsables de la formación ósea. Poseen un complejo metabolismo y son los responsables de la síntesis y

excreción tanto del colágeno tipo I de la matriz ósea, como del resto de proteínas no colágenas y factores de crecimiento que citamos en el apartado anterior y algunos más. Las células mesenquimales proliferan a células osteoprogenitoras moduladas por estímulos mecánicos, hormonales o mediados por citoquinas (18). Estas células osteoprogenitoras se sitúan entonces en zonas de formación ósea como son la capa interna del periostio, las cavidades endósticas, los canales Harversianos y de Volkmann, el tejido perivascular y la médula ósea (28).

En una primera fase de proliferación, gracias a las BMP-2 y BMP-7, así como a la vía canónica Wnt/ β -catenina, las células mesenquimales de estirpe osteoblástica proliferan y se transforman en proosteoblastos (18,30).

En una segunda fase de maduración, los proosteoblastos, mediados por distintas cascadas de señalización como son la PTH, la vitamina D, el IGF, las BMP y la vía Wnt/ β -catenina, se transforman en osteoblastos maduros, capaces de sintetizar el colágeno tipo I, así como el resto de proteínas no colágenas fundamentales para la formación ósea (30).

Por último, en una tercera y última fase, el osteoblasto maduro puede seguir tres vías: diferenciarse para convertirse en osteocito, transformarse en célula de revestimiento (que son osteoblastos en fase quiescente, que pueden

ser activados rápidamente en respuesta a estímulos mecánicos, hormonales o mediados por citoquinas) o someterse a apoptosis (Imagen 3) (30)

Imagen 3. Ciclo histológico del osteoblasto (Adaptado de Calleja, Varo y Pascual, 2014)

1.2.2.2 Osteocito.

Los osteocitos son osteoblastos diferenciados terminalmente y son el tipo celular más abundante en el hueso, representando más del 95 % de todas las células óseas. Se tratan de células dendríticas, con un cuerpo pequeño en forma de huso y procesos filopodiales extensos que se imbrican entre los canalículos y lagunas del hueso mineralizado. Son células fundamentales para la homeostasis ósea ya que favorecen la adhesión intercelular y regulan el intercambio de minerales en el líquido óseo en la matriz extracelular (18,30).

Sin embargo, la principal función del osteocito es la mecanocepción, ya que transforman las señales mecánicas de compresión y elongación del hueso

en actividad biológica por medio de sustancias mediadoras. El flujo de líquido canalicular, en respuesta a fuerzas externas, se transmite a través de las uniones filopodiales a los osteoblastos de la superficie ósea, induciendo la activación de los mismos que hasta entonces actuaban como células de revestimiento y que se tratan fundamentalmente de osteoblastos en fase quiescente (18,30). No obstante, los osteocitos también actúan favoreciendo la osteoclastogénesis y la resorción ósea, al producir cantidades importantes de RANK-L (Ligando del receptor activador del factor nuclear kappa), que favorece la proliferación y la activación de osteoclastos maduros. Esto se observa en situaciones de descarga prolongada, en las que el osteocito sintetiza mayores cantidades de RANK-L, así como también se favorece la apoptosis del mismo (30).

La apoptosis de los osteocitos deteriora en gran medida la estructura ósea. Prueba de ello son la presencia de lagunas óseas vacías en el hueso envejecido. La deficiencia de estrógenos, el desuso y el tratamiento con glucocorticoides inducen a la apoptosis del osteocito. En cambio, la carga fisiológica, los estrógenos, los moduladores selectivos del receptor de estrógenos (SERM), los bifosfonatos y la calcitonina ayudan a prevenir la apoptosis del osteocito y el osteoblasto (18,30).

1.2.2.3 Osteoclasto

Los osteoclastos se originan a partir de células madre hematopoyéticas, del linaje de los monocitos/macrófagos. Son células multinucleadas y su función consiste en degradar la matriz ósea (18,28,30).

Las células hematopoyéticas del linaje macrófagico sufren un proceso de diferenciación a proosteoclastos mediado por el factor estimulador de colonias de macrófagos (M-CSF), que es secretado por el osteoblasto. Estos proosteoclastos expresan RANK en su superficie. El RANK-L, sintetizado por el osteoblasto y el osteocito, se une al RANK del proosteoclasto y esto desencadena una cadena que aumenta la proliferación, diferenciación, activación y supervivencia de los osteoclastos, además de impedir su apoptosis, que acaba por convertirse en osteoclastos maduros. Existe un mecanismo de regulación mediado por la osteoprotegerina (OPG) que bloquea al RANK-L e impide que se una al RANK, evitando la activación y proliferación del osteoclasto. Esta OPG también es sintetizada por el osteoblasto (Imagen 4) (30).

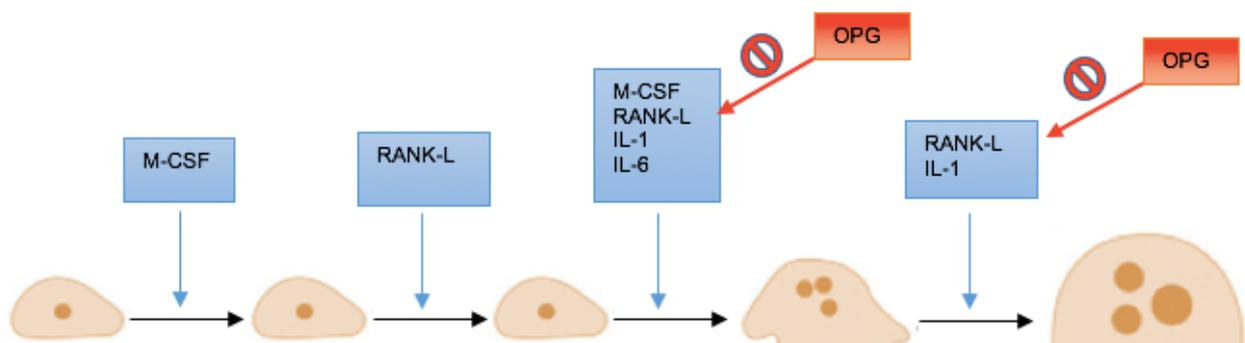


Imagen 4. Ciclo histológico del osteoclasto (Adaptado de Calleja, Varo y Pascual, 2014)

El osteoclasto migra a zonas de microfracturas por mediación de factores quimiotácticos. Allí se adhiere a la matriz ósea a través de podosomas e integrinas. La membrana que queda en contacto con el hueso adquiere una morfología peculiar, aumentando su superficie gracias a unas expansiones que favorecen la resorción ósea. A esta zona en contacto con la matriz se le llama “ribete en cepillo”. Aquí se dan las condiciones idóneas mediante sellado de pequeñas zonas de resorción ósea, donde por medio de una ATPasa vacuolar se excretan protones producidos por la anhidrasa carbónica. Estos protones se unen a iones de Cloruro formando cloruro de hidrógeno (ClH) en la zona de sellado creando un ambiente ácido. Esto posibilita la acción catabólica de las enzimas osteoclásticas, como la catepsina K, encargada de la degradación del colágeno y con ello de la matriz ósea mineralizada, produciendo Ca^{2+} , PO_4H_3 , CO_3H_2 , agua y otras sustancias (30).

1.3. FISIOLÓGÍA DEL HUESO.

El hueso es un órgano tremendamente activo desde el punto de vista metabólico. Centrándonos en su función estructural, el hueso está en un proceso constante de modelado y remodelado. Tanto el modelado como el remodelado óseo están mediados y estrechamente regulados por factores mecánicos, hormonales y químicos (18,19,28).

1.3.1. MODELADO ÓSEO.

El *modelado óseo* es el proceso mediante el cual el hueso cambia su forma para adaptarse a las fuerzas fisiológicas y biomecánicas a la que es sometido. De esta forma, el esqueleto está en continuo cambio. Normalmente el hueso sufre un engrosamiento con la edad, en respuesta a una aposición de nuevo hueso en la zona perióstica y una resorción de hueso viejo en la zona endóstica. Este proceso no es perfectamente armónico, y no está estrechamente regulado entre sí, por lo que podría ser una de las múltiples causas de la debilidad ósea asociada a la edad (18).

Según la *Ley de Wolff*, la forma y el tamaño del hueso está determinada acorde a las fuerzas biomecánicas y fisiológicas que actúan sobre él. De este modo, se ha observado que levantadores de pesas tienen huesos más gruesos y de mayor tamaño, mientras que el desuso tiende a lo contrario, y se asocia a una osteoporosis por desuso. Quizá el ejemplo más claro lo veamos en las fracturas infantiles en las que la consolidación no ha sido anatómica, y al cabo

del tiempo, el remodelado hace que el hueso llegue a tener un aspecto prácticamente normal (28).

1.3.2. REMODELADO ÓSEO.

El *remodelado óseo* es un proceso continuo que se da en el hueso durante toda la vida, y consiste en la reabsorción de hueso viejo y la formación de nuevo hueso. Sin este proceso, la acumulación de microdaños en el esqueleto debilitarían en gran medida su resistencia. Aproximadamente, el 25 % del hueso trabecular y el 3 % del hueso cortical es remodelado cada año. Esta capacidad de remodelado óseo desciende con la edad, probablemente debido a una reducción del número de osteoblastos. Esta sería la principal causa osteoporosis asociada a la edad (28).

El remodelado óseo se lleva a cabo en diversas zonas del esqueleto denominadas unidades multicelulares básicas (BMU). Las BMU están localizadas fundamentalmente en el endostio, en íntima relación con la médula ósea, aunque también en las capas internas del periostio. Las BMU están formadas por células de estirpe osteoblástica y osteoclástica que actúan de forma acoplada y secuencial (30).

El remodelado óseo se inicia con una fase de reabsorción ósea que dura aproximadamente 10 días. Los proosteoclastos migran a las zonas de remodelado y se fusionan con los osteoclastos maduros. Los osteoclastos

maduros activados se adhieren al hueso a través del ribete en cepillo y excavan la zona dando lugar a unas cavidades llamadas *lagunas de Howship*. Una vez degradado el hueso, los osteoclastos entran en reposo o en apoptosis (Imagen 5) (28,30).

Tras la fase de reabsorción ósea, se produce una fase de formación ósea que dura aproximadamente 3 meses. Los osteoblastos proliferan y se activan en la zona excavada previamente por el osteoclasto gracias a la comunicación activa mediante citoquinas locales entre ambos. El osteoblasto segrega material osteoide, que es básicamente colágeno tipo I que forma parte de la matriz ósea y posteriormente, este osteoide es mineralizado formando el nuevo hueso gracias a proteínas no colágenas del hueso que actúan de mediadoras y moduladoras de la mineralización (30).

El hueso formado por los osteoblastos ha de ser igual al hueso reabsorbido por los osteoclastos para mantener un balance neutro. Este balance puede ser negativo en caso de aumento de la reabsorción como en la osteoporosis postmenopáusica o un descenso de la formación como en la osteoporosis asociada a la edad (18).

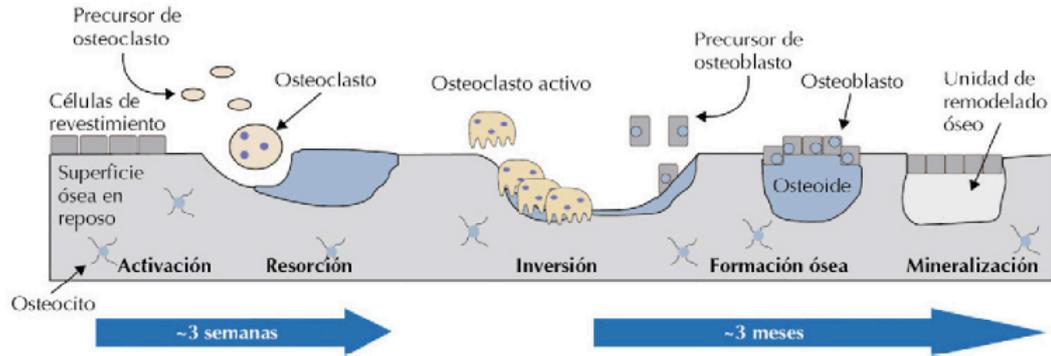


Imagen 5. Ciclo de remodelado óseo (Adaptado de Calleja, Varo y Pascual, 2014)

1.3.3. REGULACIÓN HORMONAL ÓSEA.

A lo largo de los apartados anteriores hemos visto cómo el remodelado óseo está sometido a una estrecha regulación a nivel local, mediado por diversas enzimas y citoquinas locales, así como por receptores de membrana tipo Wnt y mecanorreceptores que desencadenan o inhiben la osteoclastogénesis y la osteoblastogénesis. La mayoría de las sustancias son sintetizadas y secretadas por el osteoblasto, por lo que podríamos decir que actúa como célula paracrina local y es el principal regulador del remodelado óseo.

La regulación hormonal sistémica a la que está sometido el proceso del remodelado óseo no sólo implica la estructura ósea, sino que también es fundamental en la homeostasis sistémica de iones como el Calcio y el Fósforo. Las principales hormonas implicadas en la regulación del remodelado óseo son:

Parathormona (PTH)

Es secretada por la paratiroides y responde a la bajada de la calcemia. Tiene acción hipercalcemiante al estimular la resorción ósea de forma indirecta a través de la estimulación paracrina del osteoblasto al osteoclasto mediada por el RANK-L. Tiene un fuerte efecto formador de hueso mediado por la síntesis local de IGF y el factor de crecimiento fibroblástico (FGF). Tanto el IGF como el FGF promueven la diferenciación y proliferación del osteoblasto teniendo un claro efecto anabolizante en el hueso. Además, las células del linaje osteoblástico así como los osteoblastos maduros tienen receptores para la PTH (receptor PTH tipo 1, PTH1R). La estimulación del PTH1R aumenta la supervivencia del osteoblasto e inhibe su apoptosis. En el osteocito, la PTH suprime la expresión de esclerostina, una proteína que inhibe la formación ósea al inhibir la vía canónica Wnt (30).

La acción de la PTH sobre la resorción ósea es a través del osteoblasto, que induce la osteoclastogénesis mediado por la síntesis de RANK-L. Una estimulación crónica y a dosis alta de PTH incrementa la resorción ósea más que la formación ósea y tiene un efecto negativo sobre el balance óseo. No obstante, la estimulación a dosis bajas e intermitentes de PTH o bien la terapia con péptido relacionado con PTH (PTHrp) o la teriparatida, incrementa el número de osteoblastos maduros lo que se traduce en un incremento de la formación ósea y una mayor tasa de aposición mineral. En la microarquitectura ósea se observa un mayor número de trabéculas, un mayor volumen óseo y una mayor conectividad entre ellas (28,31).

Calcitonina.

La calcitonina es una hormona sintetizada a nivel de las células C del tiroides. Su acción es hipocalcemiante, por lo que es antagonista a la PTH. Tanto los osteoclastos como los proosteoclastos y monocitos tienen receptores para la calcitonina, que actúa disminuyendo la proliferación y maduración de los mismos, bloqueando, por tanto, la resorción ósea. Su acción hipocalcemiante viene dada, pues, por la disminución de la resorción ósea, así como incrementando la excreción urinaria de calcio. No obstante, no se han demostrado cambios significativos en la densidad ósea asociados a mayores o menores niveles de calcitonina en sangre, por lo que su acción a nivel óseo es controvertida (28,30).

Hormonas sexuales esteroideas.

Los osteoblastos, los osteocitos y los osteoclastos tienen receptores para los andrógenos y estrógenos, aunque en distinta proporción según el sexo del individuo y la zona del esqueleto. Son los responsables del dimorfismo sexual y son claves en el modelado óseo durante la adolescencia (30).

Los *andrógenos* actúan como anabolizantes al estimular los receptores androgénicos en el osteoblasto (30).

Los *estrógenos* actúan como antirresortivos ya que inducen la producción de OPG por el osteoblasto, que inhibe la proliferación y actividad osteoclástica. La menopausia en la mujer es un período en que la producción endógena de estrógenos disminuye drásticamente, incrementándose la resorción ósea. Al inicio de la menopausia, la proliferación, maduración y la activación de los osteoclastos están aumentadas. Posteriormente, se produce un incremento de citoquinas proresortivas como son la IL1 e IL6, M-CSF, FNT- α y el RANK-L. Por último, las citoquinas antirresortivas como el TGF- β y la OPG se encuentran disminuidas. Todo esto conduce a un aumento de la tasa de pérdida ósea proporcional a la pérdida de estrógenos (30).

La *progesterona* tiene un efecto osteoformador tanto directo por la estimulación del osteoblasto que tienen receptores para la progesterona, como de forma indirecta al competir con los receptores osteoblásticos para los glucocorticoides (30).

Glucocorticoides (GC).

A dosis fisiológicas, los GC favorecen la diferenciación osteoblástica. A dosis elevadas inhiben la producción de IGF por los osteoblastos y suprimen BMP-2 y el CBFA1, inhibiendo así la osteoblastogénesis (30).

Insulina.

Actúa como anabolizante, al inducir la síntesis de IGF a nivel hepático (30).

Hormona de crecimiento (GH).

Tiene acción anabolizante sobre el hueso, a través de dos mecanismos: de forma directa, estimulando al osteoblasto para producir colágeno, osteocalcina y fosfatasa alcalina. De forma indirecta, favoreciendo la síntesis de IGF por el osteoblasto (30).

Regulación adrenérgica/colinérgica del hueso.

En los últimos años se ha puesto de manifiesto la regulación adrenérgica/colinérgica del hueso. Se ha demostrado que el sistema nervioso autónomo influye en el remodelado óseo, aunque el mecanismo concreto aún es desconocido. La actividad adrenérgica del sistema nervioso simpático (SNS) inhibe la proliferación osteoblástica y promueve la osteoclastogénesis, por lo tanto, tiende a disminuir la masa ósea. En cambio, la actividad colinérgica del sistema nervioso parasimpático (SNPS) tiene un efecto positivo en la masa ósea, ya que incrementa la proliferación osteoblástica al inhibir al SNS así como al aumentar la apoptosis del osteoclasto (32). De esta manera, nuestro grupo de investigación concluyó que los inhibidores de la colinesterasa (enzima encargada de la degradación de la acetilcolina) disminuyen el riesgo de padecer fractura de cadera en pacientes con enfermedad de Alzheimer (33).

1.4. BIOMECÁNICA ÓSEA.

El hueso, desde el punto de vista biomecánico, está compuesto principalmente por dos componentes: Un componente orgánico que en más de un 90 % es colágeno tipo I y un componente mineral constituido fundamentalmente por cristales de hidroxiapatita. El colágeno tiene una gran resistencia a la tensión y, en cambio, baja resistencia a la compresión. La hidroxiapatita es un material muy rígido y tiene gran resistencia a la compresión, aunque es muy quebradizo. La combinación de ambos componentes da lugar a un material anisotrópico que es más resistente a fuerzas de compresión, débil a fuerzas de cizallamiento e intermedio a fuerzas de tensión. La anisotropía se define como una característica de la materia en que sus propiedades físicas dependen de la dirección de la fuerza aplicada. La proporción y distribución de cada componente, determina en gran parte las propiedades biomecánicas de los diferentes huesos (28).

En el hueso cortical encontramos una predominancia de componente inorgánico, siendo éste muy resistente a fuerzas de compresión y torsión. En cambio, en el hueso trabecular predomina el componente orgánico, lo que lo hace muy resistente a fuerzas de elongación y cizallamiento. No obstante, el hueso trabecular es muy importante en la resistencia del hueso a fuerzas de compresión, ya que actúa absorbiendo la carga mediante deformación elástica como si de celdillas neumáticas se tratara (28,34).

1.4.1. FACTORES DETERMINANTES DE LA RESISTENCIA ÓSEA.

Biomecánicamente, una fractura supone un fallo en la estructura del hueso cuando las fuerzas aplicadas en dicho hueso exceden su capacidad de carga, es decir, su resistencia (35,36).

Por tanto, la producción de una fractura depende de *causas extrínsecas* como son la magnitud y la dirección de la fuerza aplicada en el hueso. En el caso de la fractura de cadera las cargas aplicadas a la extremidad proximal del fémur durante una caída dependerán de la altura de la caída, la dirección de la caída (hacia adelante, hacia atrás, hacia los lados), la superficie de impacto, la extensión del tejido blando que recubre la cadera y la capacidad del individuo para protegerse del impacto de la caída extendiendo una mano (35).

Las *causas intrínsecas* hacen referencia a las características estructurales del hueso, así como a su composición. Los factores intrínsecos que determinan la resistencia ósea podríamos estratificarlos de la siguiente manera (Imagen 6):

- A *nivel macroscópico* la resistencia viene dada por el tamaño óseo, la densidad ósea, la geometría ósea y el grosor cortical.
- A *nivel microscópico* depende de la organización del tejido óseo, la porosidad cortical, la distribución trabecular y su conectividad, el volumen óseo y el tamaño y número de trabéculas.

- A nivel cualitativo y nanoestructural depende del grado de mineralización, el tamaño y distribución de los cristales de hidroxapatita, la distribución del colágeno tipo I, su interacción con los cristales de hidroxapatita, acúmulo de microdaños, grado y tipo de entrecruzamiento de las fibras de colágeno, proteínas no colágenas, integridad de la red de osteocitos, etc. (35–37).

Englobando todos los niveles situaríamos el remodelado óseo, responsable del balance formación y absorción ósea, que define las características estructurales y composicionales del hueso a todos sus niveles (35).

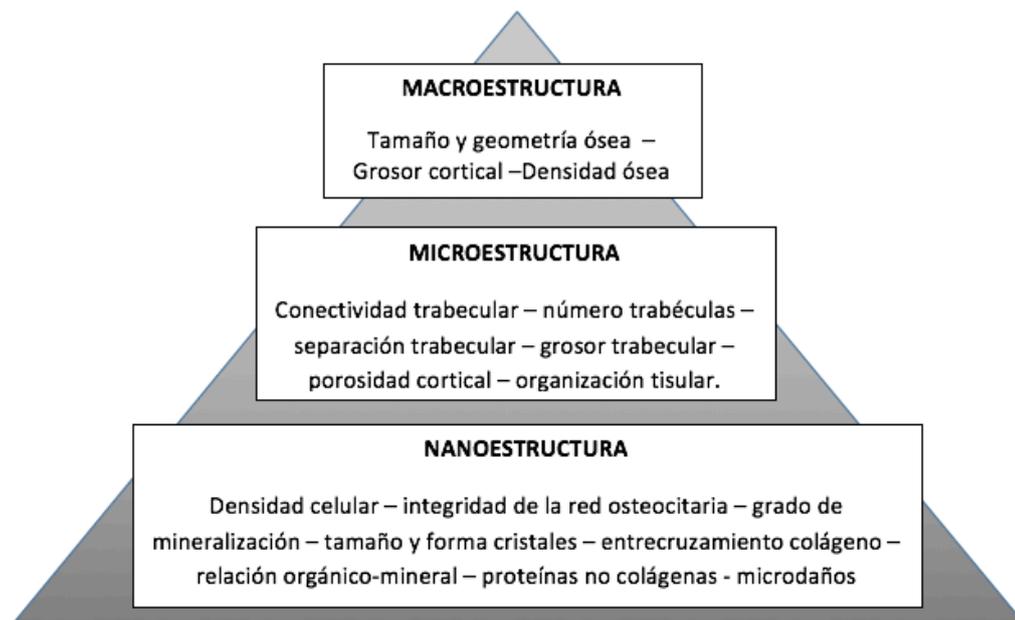


Imagen 6. Resumen factores determinantes de la resistencia ósea, representados en una pirámide de mayor a menor escala (Adaptado de Fonseca, Moreira et al, 2014).

1.5. PATOLOGÍA ÓSEA.

En este proyecto los grupos de estudio lo conformaron pacientes con fractura subcapital de cadera y pacientes con coxartrosis que precisaron una artroplastia de sustitución de la cadera. Por ello, consideramos oportuno realizar una breve descripción de los aspectos más importantes de las dos enfermedades que, a priori, configuran los grupos de pacientes estudiados.

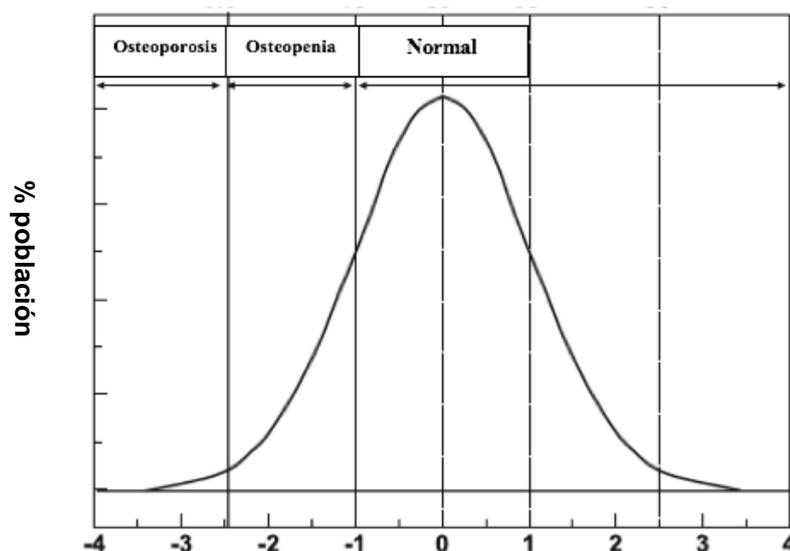
1.5.1. OSTEOPOROSIS: CONCEPTO Y PERSPECTIVA.

La osteoporosis (OP) es una enfermedad ósea que se caracteriza por una baja densidad ósea y un deterioro en la microestructura del tejido óseo, que predispone al sujeto a sufrir una fractura con más facilidad (8). La OP tiene una gran prevalencia en el mundo, llegando a afectar a 200 millones de personas (38). Se estima que en Europa el 22,1 % de las mujeres tienen OP, y la prevalencia va en aumento (39) (40).

El término osteoporosis, que significa “hueso poroso”, fue acuñado por primera vez en el siglo pasado, y hace referencia a un diagnóstico histológico, aunque más tarde se perfeccionó con el significado de hueso cuya mineralización es normal pero en menor cantidad. En 1994, la Organización

Mundial de la Salud (OMS) definió la osteoporosis basándose en los resultados de la DMO obtenidos mediante DXA, como una DMO a nivel de cuello femoral, columna lumbar o radio distal igual o inferior a 2,5 desviaciones estándar (SD) de la media de la población de mujeres jóvenes de raza blanca (T-score) (41). Tomando como base la DXA existen distintos conceptos en relación con la disminución de hueso (Imagen 7) (42):

- T-score: Número de desviaciones estándar que la DMO de un paciente está por encima o por debajo de la DMO media de sujetos jóvenes (30 años) de su misma etnia.
- Z-score: Número de desviaciones estándar que la DMO de un paciente está por encima o por debajo de la DMO media de sujetos de la misma franja etaria y etnia. Por tanto, es un dato ajustado a la edad del paciente.
- Osteoporosis: Se diagnostica cuando el T-score es igual o menor a -2,5 SD.
- Osteopenia: Se diagnostica cuando el T-score se encuentra entre -1,0 y -2,5.



Desviación estándar

Imagen 7. Distribución normal de la DMO en la población general. En el eje de abscisas están representadas el número de desviaciones estándar (Adaptado de Golob y Laya, 2015)

No obstante, la mayoría de las fracturas que se dan en personas mayores no cumplen los criterios densitométricos de osteoporosis, por tanto la DMO no es el único factor de riesgo para sufrir una fractura debida a fragilidad ósea (11,14,43,44). Por tanto, son necesarios nuevos métodos diagnósticos que evalúen otros factores que influyen en la resistencia ósea, y que pueden condicionar la aparición de una fractura.

Watts resumió la definición que la OMS hace de la osteoporosis como un desorden que afecta tanto a la cantidad como a la calidad ósea (12). El término calidad ósea engloba todos aquellos factores determinantes de la resistencia ósea como la microarquitectura, composición química, etc (ver apartado 1.4.1.). Sin embargo, la calidad ósea a menudo pasa desapercibida, al no emplearse habitualmente técnicas diagnósticas capaces de medirla. En la actualidad, se puede emplear el score de hueso trabecular (TBS) que es una método analítico basado en mediciones mediante DXA que facilita información sobre la microarquitectura trabecular (45). La tomografía computadorizada cuantitativa también da información acerca de la microestructura tanto cortical como trabecular, aunque su uso en la práctica clínica es marginal (43).

La evaluación de los factores clínicos ayuda a predecir el riesgo de fractura. Es por ello que recientemente existe la tendencia hacia la evaluación del riesgo individualizado, con el desarrollo de herramientas de evaluación de riesgo de fractura como el FRAX, que utiliza factores de riesgo con o sin la DMO para calcular el riesgo absoluto de padecer una fractura en los próximos 10 años. Este método tiene la ventaja de incorporar factores de riesgo que son independientes de la DMO (11,43,45,46).

No obstante, revisiones sistemáticas demuestran que las fracturas de cadera se producen por caídas, y que previniendo las caídas se podrían reducir entre el 15-50 % de las fracturas (47,48).

1.5.1.1. FISIOPATOLOGÍA DE LA OSTEOPOROSIS.

Existen numerosos mecanismos fisiopatológicos implicados en el desarrollo de la osteoporosis, y todos ellos influyen para desencadenar una menor densidad ósea, así como un deterioro de la microestructura y la calidad ósea. A grandes rasgos, existen 3 mecanismos fisiopatogénicos fundamentales y bien diferenciados: la osteoporosis perimenopáusica, la osteoporosis en el varón y la osteoporosis asociada a la edad.

Fisiopatología de la osteoporosis posmenopáusica (Osteoporosis tipo I).

La menopausia es el cese de la menstruación en la mujer y se da de media a los 51 años. Entre 1 y 2 años previos a dicho suceso, se produce una disminución progresiva en la producción de estrógenos en el ovario. Entre los 5-7 años de este periodo perimenopáusico, la mujer llega a perder hasta el 12 % de su masa ósea, lo que equivale a un punto T-Score en la densitometría ósea. Esto es debido a que en fases tempranas de la menopausia, el remodelado óseo se duplica, y entre los 10-15 años después se triplica (49).

La privación estrogénica tiene un doble efecto en el hueso, por un lado por mecanismos sistémicos, y por otro por mecanismos locales.

A nivel sistémico, el hueso se vuelve más sensible a hormonas resorptivas como la PTH. El aumento de la resorción ósea conllevaría un incremento de los niveles de calcio en plasma, y esto una disminución de la PTH. De manera secundaria, se ve disminuida la síntesis renal de 1-25 hidroxivitamina D. Esto implica una disminución de la absorción de calcio a nivel intestinal y un aumento en la excreción de calcio a nivel urinario. Conforme esta excreción de calcio aumenta, a la vez que se ve disminuida la absorción intestinal de calcio, la calcemia en sangre tiende a disminuir, produciéndose un aumento paradójico de la PTH, que a su vez seguirá incrementando la reabsorción ósea. De esta manera, se crea un círculo vicioso, que de no detenerse conllevará una rápida

bajada de la DMO, así como un daño microestructural que predispone a la mujer a sufrir un mayor riesgo de fractura (22,49).

A nivel local, la disminución de estrógenos actúa de varias maneras.

- Incremento de citoquinas inflamatorias: Se produce un aumento de IL-1, IL-6 y FNT- α . Esto produce una llamada y activación del proosteoclasto, así como una activación de los osteoclastos, incrementando la reabsorción (22).
- Disminuyendo la expresión de OPG: Los estrógenos incrementan la producción de la OPG que compiten con el RANK-L. Por lo tanto, una disminución de estrógenos implicaría niveles más bajos de OPG y, con ello, mayor actividad del RANK-L que, finalmente, conllevaría un aumento de la osteoclastogénesis (22,50).
- Incremento de M-CSF, incrementando el reclutamiento de macrófagos que se diferencian a proosteoclastos (22).
- Disminución de la actividad osteoblástica: El osteoblasto tiene receptores estrogénicos que aumentan su actividad (ver apartado regulación hormonal remodelado óseo) (30).
- Incremento de la actividad osteoclástica: El osteoclasto tiene receptores estrogénicos que inhiben su actividad y diferenciación (ver apartado regulación hormonal remodelado óseo) (30).

Por tanto, una disminución en los niveles de estrógenos durante la menopausia conlleva una disminución en la inhibición de los osteoclastos. Esto comporta un aumento del número y la actividad de los mismos, así como un aumento de su vida media, produciendo mayor número de zonas de reabsorción y además más profundas. En un primer momento, existe un incremento de la actividad osteoblástica compensadora, pero no es suficiente para mantener un balance óseo neutro o positivo (22,49).

Fisiopatología de la osteoporosis en el varón.

Aunque en el hombre no se da un fenómeno tan marcado como la menopausia en la mujer, sí que experimenta una alteración de las hormonas sexuales más mantenida en el tiempo. Tanto la testosterona como el estrógeno en el hombre se encuentran en dos fracciones; una libre, que es la biológicamente más activa, y otra unida a globulina transportadora de hormonas sexuales, que funciona más como reservorio. En el hombre se produce una disminución significativa tanto de la testosterona como del estrógeno biodisponible (de hasta un 64 % y un 47 %, respectivamente) y un incremento de la globulina transportadora de hormonas sexuales de hasta un 124 %, entre los 20 y los 90 años (51).

Se conoce que la testosterona tiene un efecto anabolizante en el hueso (30). Clásicamente se ha pensado que por ser la testosterona la hormona sexual más abundante en el varón, era la disminución de ésta la mayor responsable de

la pérdida ósea en el mismo. No obstante, estudios recientes han puesto de manifiesto que la disminución de los estrógenos biodisponibles en el varón, son los principales responsables de la pérdida ósea en el mismo, al relacionarse niveles bajos de estrógenos con menor DMO en distintos sitios del esqueleto más que niveles bajos de testosterona (51).

Fisiopatología de la osteoporosis asociada a la edad (osteoporosis senil u osteoporosis tipo II).

Existen numerosos mecanismos fisiopatológicos implicados en el aumento de fragilidad ósea asociado a la edad. Además de los cambios hormonales anteriormente descritos, existen cambios en el metabolismo óseo responsables de la pérdida ósea asociada al envejecimiento.

Zhou et al han demostrado que existen cambios asociados a la edad en las células mesenquimales precursoras de osteoblastos, que conllevan una reducción en la proliferación y en la diferenciación osteoblástica, así como un incremento de la apoptosis. Esto se traduce en una disminución de la población de osteoblastos relacionada con el envejecimiento (52).

Además de esta reducción en el número de osteoblastos, existen también una serie de mecanismos intrínsecos involucrados en la senectud osteoblástica que se relacionan con la disminución de la formación ósea y el incremento de la

pérdida ósea asociada a la edad. Estos mecanismos fisiopatológicos se resumen en el siguiente esquema (Imagen 8) (51).

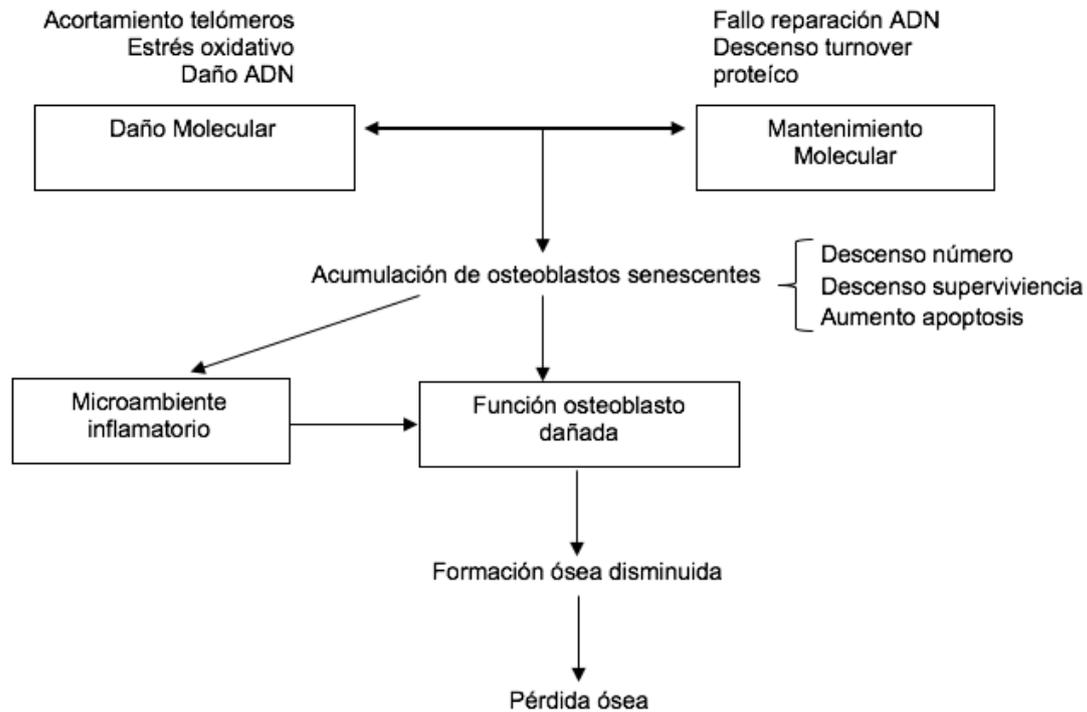


Imagen 8. Mecanismos intrínsecos responsables de la senescencia osteoblástica implicados en el descenso de la formación ósea asociado a la edad (Adaptado de Khosla, 2013)

Existe también un aumento de los niveles séricos de esclerostina asociado a la edad, que es más pronunciado en el hombre que en la mujer. Los niveles de esclerostina son 4,6 veces mayores en varones de 80 años cuando se comparan con varones de 20 años. En cambio, en la mujer, ese incremento es de 2,4 veces (51). La esclerostina inhibe la formación ósea, al inhibir la proliferación y diferenciación osteoblástica mediada por la vía Wnt (18,30).

Por último, el envejecimiento se relaciona con la acumulación de microdaños no reparados o reparados de forma anómala en el hueso, que conllevan una disminución de la resistencia ósea. Estos pequeños microdaños pueden confluir hasta formar una fractura ósea (49).

Por tanto, a diferencia de la osteoporosis postmenopáusica o tipo I, donde el principal mecanismo fisiopatológico es una hiperfunción osteoclástica, en la osteoporosis senil o tipo II el principal mecanismo fisiopatológico es una disminución de la función osteoblástica. En la siguiente tabla se resumen las principales características diferenciales de los dos tipos de osteoporosis (Tabla 1) (53).

Tabla 1. Principales características diferenciadoras de la osteoporosis postmenopáusica y senil.		
	Tipo I	TIPO II
Denominación	Postmenopáusica	Senil
Edad (años)	51-75	>70
Proporción mujer/hombre	6:1	2:1
Tipo de pérdida ósea	Trabecular	Trabecular y cortical
Ritmo de pérdida ósea	Rápido	Lento
Fracturas	Vertebral y radio distal	Vertebral y de cadera
Función paratiroidea	Disminuida	Aumentada
Absorción intestinal de calcio	Disminuida	Disminuida

Hidroxilación renal	Disminuida	Disminuida
Causa fundamental	Menopausia	Envejecimiento

Tabla 1. Características diferenciales entre osteoporosis postmenopáusica y senil (Adaptado de Lozano, 2006)

1.5.1.2. FRACTURA DE CADERA.

La fractura de cadera es la fractura senil más importante. Las fracturas de cadera constituyen un problema sanitario de gran importancia a nivel mundial, tanto por el perjuicio que supone al paciente en aumento de incapacidad, aumento de morbilidad y aumento de mortalidad, como el perjuicio para el sistema sanitario en aumento del gasto económico. Debido al envejecimiento progresivo de la población, este problema tiene una perspectiva de seguir aumentando en los próximos años, y constituye un reto de primer nivel para los cirujanos ortopédicos y los sistemas sanitarios (8,24,25,54–56).

En el año 2010 se produjeron 620.000 fracturas de cadera en la UE. La incidencia en hombres fue aproximadamente la mitad que en la mujer (55). En España, este número representa unas 60.000 fracturas de caderas por año, con una incidencia de 300 casos por 100.000 habitantes/año, y un ratio de mujer/hombre de 3-4:1 (8). Estas diferencias se explican en parte por las diferencias obtenidas en la DMO del cuello femoral entre hombres y mujeres, aunque existen otros factores implicados en la fisiopatogénesis de la fractura como son la edad, el riesgo de caídas, la dieta, la sarcopenia, morbilidades asociadas, medicación administrada, y otros (24).

La fractura de cadera es un evento altamente incapacitante para el paciente. Entre el 30 y el 80 % de los pacientes que sufren una fractura de cadera, permanecen con incapacidad permanente. En el primer año, el 40 % de los pacientes no es capaz de deambular de forma independiente, el 60 % es incapaz de realizar al menos una actividad básica de la vida diaria y el 80 % es incapaz de realizar actividades corrientes como conducir o ir a la compra. Esto conlleva un incremento en la tasa de depresión y aislamiento social (57).

Tras una fractura de cadera, existe más de un 20% de mortalidad en el primer año. Aunque estas muertes pueden ser debidas a otras comorbilidades previas del paciente, se ha demostrado que el 30 % de esas muertes son directamente atribuibles a las complicaciones que genera la fractura, por lo que en países como Suecia, superan a la mortalidad por accidentes de tráfico o por cáncer de mama (55)

En cuanto a coste económico, tan sólo en EE.UU. el coste total anual que supone esta patología asciende a 17 billones de dólares (57). En la Unión Europea el coste directo medio por paciente con fractura de cadera es de 14.000 euros, y en España de 9.500 euros (55).

Dentro de las fracturas de la extremidad proximal del fémur podemos distinguir aquellas que son intracapsulares (subcapitales o transcervicales) o las

extracapsulares (intertrocantéreas o subtrocantéreas). Las fracturas extracapsulares se asocian a edad más avanzada, más predominio por el género femenino y un perfil más osteoporótico que las fracturas intracapsulares (55).

Existen numerosas clasificaciones de las fracturas del cuello femoral, de ellas las más conocidas son la de Garden y de Pauwels. Dentro de las fracturas de cuello femoral, se subclasifican las fracturas no desplazadas (Garden I y Garden II), que a menudo son tratadas mediante osteosíntesis; y las desplazadas (Garden III y Garden IV) que son tratadas mediante artroplastia parcial o total, según la edad y comorbilidades del paciente (24,58).

1.5.2. ARTROSIS.

La artrosis es una enfermedad degenerativa articular que provoca un daño progresivo en el cartílago articular y en las estructuras adyacentes. La OARSI (*Osteoarthritis Research Society International*) la define como una enfermedad que engloba a las articulaciones móviles y se caracteriza por una elevación del estrés celular y una degradación de la matriz extracelular que se inicia con micro y macro lesiones que activan respuestas de reparación anómalas, incluyendo vías proinflamatorias inmunológicas. La enfermedad se manifiesta en primer lugar como un trastorno molecular (un anormal metabolismo del tejido articular) seguido de alteraciones anatómicas y fisiológicas (degradación del cartílago,

remodelado óseo, formación de osteofitos, inflamación articular y pérdida de la función articular), que culminan en la enfermedad (59).

1.5.2.1. ARTROSIS DE CADERA

La prevalencia de artrosis de cadera se incrementa con la edad; es más frecuente en el género femenino (aunque en la población joven, menores de 60 años, es más prevalente en el varón) y hasta en un 50 % se objetiva una causa hereditaria (60).

Entre los factores de riesgo intrínsecos encontramos incongruencia articular (por ejemplo, la displasia) y la hiperlaxitud articular, que causan un reparto anormal del peso y la carga y, por tanto, aceleran la degeneración articular. Entre los factores de riesgo extrínsecos destacamos el sobrepeso u obesidad, deportes de alto nivel y los trabajos manuales pesados, que incrementan la incidencia y la progresión de la artrosis. No obstante, la etiología de la artrosis de cadera es multifactorial y los distintos factores de riesgo conducen a inestabilidad, mala alineación, incremento de la carga articular, microtraumas y daño estructural. A esto, la articulación responde mediante inflamación sinovial y subcondral y con una hipertrofia ósea (60).

Fisiopatología de la artrosis de cadera

A nivel del cartílago articular se produce en primer lugar un aumento del contenido acuoso junto con una desestructuración del colágeno (hasta un 95 % del colágeno en el cartílago es colágeno tipo II) y los proteoglicanos. Esto da lugar a una alteración en las propiedades biomecánicas del mismo, que favorecen el progreso de la enfermedad (60,61).

En el desarrollo de la artrosis están implicados numerosos mediadores inflamatorios. Los más importantes son la IL-1, IL-6 y el FNT- α . Estos son secretados fundamentalmente por los sinoviocitos de la membrana sinovial y son los principales responsables del incremento de la degradación de la matriz extracelular del cartílago por unas enzimas proteolíticas llamadas metaloproteasas (MMPs). También existen unos inhibidores tisulares de las metaloproteasas (TIMPs) que actúan como reguladores y protectores de la degradación del cartílago articular. En la artrosis existe un claro desequilibrio entre la MMPs y los TIMPs a favor de las MMPs, lo que conlleva un aumento de la degradación del cartílago articular (61,62).

A nivel óseo, podemos diferenciar una placa ósea subcondral en íntima relación con la capa basal de cartílago calcificado y el hueso trabecular subcondral que actúa de transición entre el cartílago y el hueso trabecular yuxtaarticular. La biomecánica y la intercomunicación bioquímica en esta región parece desempeñar un papel en el mantenimiento y la degeneración de la articulación. Con la artrosis se produce un engrosamiento del hueso subcondral,

traducido radiográficamente como una esclerosis subcondral, debido a un remodelado óseo alterado, que conlleva un incremento en la producción de colágeno cuya mineralización es defectuosa (61,63).

2. HIPÓTESIS Y JUSTIFICACIÓN

2. HIPÓTESIS Y JUSTIFICACIÓN.

De acuerdo con lo anteriormente analizado, en la génesis del patrón anatómico-patológico de las fracturas de cadera intervienen alteraciones óseas fisiológicas y estructurales, más allá de la densidad mineral ósea. Para ello, actualmente el método diagnóstico de referencia es la densitometría mineral ósea obtenida mediante DXA, a pesar de las limitaciones previamente detalladas.

Este proyecto presenta como hipótesis operativa la existencia de diferencias micro y nanoestructurales en el hueso trabecular de cabezas femorales de pacientes con fractura de cadera al compararlo con el hueso trabecular de cabezas femorales en personas que no han desarrollado la fractura. Estas diferencias son las responsables de la fragilidad ósea característica que precede al evento crítico que supone la fractura de cadera.

Mediante el conocimiento de qué parámetros micro y nanoestructurales se encuentran alterados en los pacientes con fractura de cadera, se podría llegar a un conocimiento más global de los factores que debilitan el hueso, y se podrían desarrollar e implementar otros métodos diagnósticos más sensibles y específicos que la DXA.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO PRIMARIO.

El objetivo primario de este estudio consiste en analizar las diferencias micro y nanoestructurales del hueso trabecular de las cabezas femorales de pacientes que han sufrido una fractura de cadera y compararlo con sujetos que no han sufrido dicha fractura, a fin de conocer la génesis de la debilidad ósea.

3.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS.

- a) Analizar la relación de los distintos parámetros estructurales trabeculares con la densidad mineral ósea.
- b) Analizar cómo cambian estos distintos parámetros estructurales con la edad.
- c) Hallar patrones diferenciadores en cuanto a la microestructura y nanoestructura ósea entre el hueso de pacientes fracturados y el de los no fracturados.

4. MATERIAL Y MÉTODO

4. Material y Método.

Este proyecto consiste en una investigación preclínica y clínica con diseño prospectivo de tipo observacional transversal con dos cohortes de pacientes: una que constituye los “casos” y la otra un grupo “control”.

4.1. Grupos de estudio.

Cohorte de casos: Pacientes hospitalarios con el diagnóstico de fractura intracapsular de la extremidad proximal del fémur para ser intervenidos quirúrgicamente mediante artroplastia parcial o total de cadera.

Cohorte control: Pacientes hospitalarios con el diagnóstico de artrosis avanzada de cadera para ser intervenidos quirúrgicamente mediante artroplastia total de cadera.

4.2. Fase reclutamiento.

El reclutamiento de pacientes se realizó entre el 01/05/2012 y el 31/03/2013.

4.3. CRITERIOS DE SELECCIÓN

4.3.1. Criterios de inclusión:

Se incluyeron en el estudio pacientes mayores de edad que fueron sometidos a una artroplastia total o parcial de cadera como consecuencia de una fractura intracapsular o una artrosis de cadera y que no tuvieran algunos de los criterios de exclusión.

4.3.2. Criterios de exclusión:

Se excluyeron del estudio los pacientes con fracturas patológicas o con cualquier otro diagnóstico que no fuera en el los criterios de inclusión. También se excluyeron aquellos pacientes con artrosis secundarias a traumatismo, enfermedad reumatológica, procesos neoplásicos y enfermedades metabólicas o estuvieran en tratamiento que interaccionara con el metabolismo óseo.

4.4. VARIABLES DEL ESTUDIO.

Las variables estudiadas se resumen en la tabla 2.

Demográficas Clínicas	Densitometría	MicroTC	Difracción Rx	RNM-ES
Edad	DMO	Volumen óseo	Longitud Eje C (largo)	Concentración relativa ^1H
Sexo	CMO	Número trabéculas	Longitud Eje A (corto)	Concentración relativa ^{31}P
IMC	Área Ósea	Grosor trabecular		Concentración relativa ^{31}P protón desacoplado
Índice Comorbilidad Charlson	Área Tisular	Separación Trabecular		Concentración relativa ^{31}P polarización cruzada
Hábitos tóxicos		Factor patrón trabecular		
Tratamientos activos				
Comorbilidades				

Tabla 2. Variables estudiadas en el presente proyecto.

Abreviaturas:

IMC: índice Masa Corporal

DMO: Densidad Mineral Ósea.

CMO: Contenido Mineral Óseo.

4.5. PROCEDIMIENTOS.

4.5.1. MARCO ÉTICO DE LA INVESTIGACIÓN.

Este proyecto cumple totalmente con los principios básicos y operacionales de la Declaración de Helsinki. La aprobación del mismo fue positiva por el Comité de Ética de la Investigación Provincial de Málaga con acta de 31 de Enero de 2013. En él se recogen el cumplimiento de los requisitos de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y la justificación de los riesgos y molestias para los pacientes que en él participan. Asimismo, se valora la capacidad de los investigadores y colaboradores, las instalaciones y los medios disponibles para llevar a cabo el estudio.

Estos pacientes iban a someterse a una cirugía de remplazo articular total o parcial, consecuencia de una fractura de cadera o una coxartrosis avanzada. Durante la cirugía se extraían las cabezas femorales de las cuales para el estudio. Estas cabezas femorales habitualmente son desechadas durante la intervención del reemplazo articular, y sustituidas por componentes protésicos, por lo que no implica un aumento del tiempo de tratamiento quirúrgico, morbilidad para el paciente o riesgo de complicaciones.

4.5.2. CONSENTIMIENTO INFORMADO.

A cada paciente que se incluyó en el estudio se le explicó detalladamente la intervención quirúrgica, así como los riesgos y beneficios de la misma. Se les entregó consentimiento informado de la intervención quirúrgica según el diagnóstico previo de fractura de cadera o artrosis de cadera.

Así mismo, se le informó acerca del proyecto de investigación y en qué consistía su participación en el mismo. Se les entregó documento informativo y consentimiento informado para participar en el estudio.

Ambos consentimientos informados se consideraron imprescindibles para su inclusión en el presente proyecto de investigación. Además de estos consentimientos firmaron todos los otros rutinarios para las actuaciones diagnósticas y terapéuticas durante su estancia hospitalaria.

4.5.3. OBTENCIÓN DE LOS DATOS CLÍNICOS.

Los datos clínicos de los participantes fueron obtenidos de forma confidencial a través de la anamnesis inicial y del sistema informático de digitalización de historias clínicas DIRAYA® del Servicio Andaluz de Salud – SAS-. Tras el alta, los datos se confirmaron y actualizaron mediante llamada telefónica a todos los pacientes incluidos en el estudio.

Las variables clínicas estudiadas fueron: edad, género, lateralidad, índice de masa corporal (IMC), comorbilidades prequirúrgicas, tratamiento médico habitual, consumos tabáquico y alcohólico. El estado de salud general fue estimado utilizando el índice de comorbilidad de Charlson (ICC) ajustada por edades (64).

4.6. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS.

Una vez extraída durante la cirugía, la cabeza del fémur se introdujo en un recipiente cerrado estéril con una solución de formaldehído al 10% y almacenadas a 4° C hasta su procesamiento (Imagen 9).

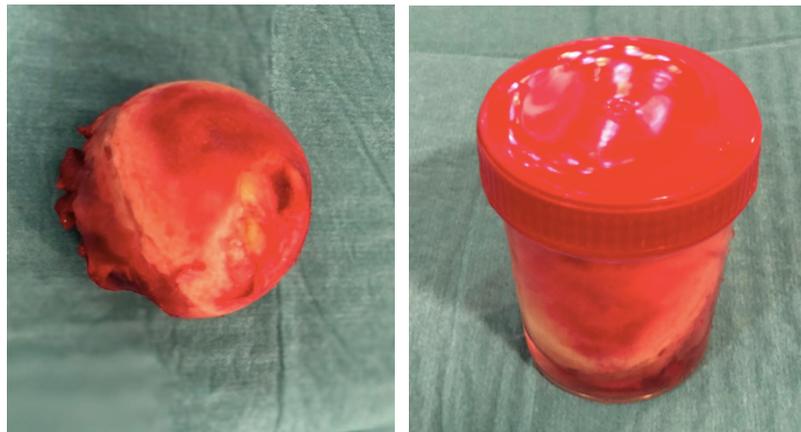


Imagen 9: A la izquierda, cabeza femoral de paciente del grupo de fracturas extraída durante la cirugía. A la derecha, almacenamiento de la misma, en recipiente estéril con Formaldehído al 10 %.

En primer lugar, utilizando una trefina, se tomó un cilindro óseo de 1 cm de diámetro y 2 cm de largo en una zona situada a 1 cm proximalmente a la

fóvea del ligamentum teres (imagen 10). Las muestras fueron procesadas de forma idéntica en todos los pacientes, depositadas en una solución de formol al 10 % y almacenadas a 4° C.



Imagen 10. A la izquierda se muestra cilindro óseo de 1 cm de diámetro y 2 cm de longitud. A la derecha representación de la zona donde se extrajo el cilindro. F: Fóvea.

Posteriormente, en el laboratorio, se extrajo un fragmento óseo adicional de $2,0 \text{ mm}^3$ del extremo caudal de cada muestra, utilizando una fresa de 1 mm de diámetro, adaptada a un motor quirúrgico (Stryker, Kalamazzo, Mi, USA). Cada fragmento fue sometido a tres ciclos de lavado con agua destilada y desionizada a 25° durante 60 minutos seguido por tres ciclos de deshidratación y desengrasado con alcohol al 100 % durante 60 minutos (65). De esta manera no se ve afectada la estructura ni la composición química de la muestra ósea (66). Por último, se utilizó un mortero de cerámica para pulverizar el hueso, que

fue almacenado en tubos separados a 4° C. De esta manera, al ser eliminada la grasa y el agua así como los restos orgánicos que pudieran haber de forma libre, el polvo de hueso resultante estaba compuesto exclusivamente por el componente mineral y orgánico de la matriz ósea.

4.7. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS.

Tras el procesamiento, las muestras se sometieron a los siguientes métodos, con el fin de obtener información acerca de su micro y nano estructura:

4.7.1. DENSITOMETRÍA ÓSEA (DXA).

La DXA consiste en hacer incidir haces de protones previamente colimados por el área de interés de la muestra ósea. Los haces de protones generados tienen dos niveles de energía distintos, de ahí que se llamen “doble energía” o “energía dual” (66–68). La diferencia de atenuación de los haces de fotones recogida en el detector es analizada de forma específica a través de un software informático. Esto nos permite conocer parámetros como la densidad ósea o el contenido mineral óseo (67).

Las muestras se analizaron utilizando un densitómetro óseo (GE Lunar PIXImus) con un área de imagen de 100x80 mm, y un tamaño focal de 0,25 x 0,25 mm, una energía de 80 kV y una corriente eléctrica de 400 uA (Imagen 11). Se calcularon los siguientes datos: Densidad Mineral Ósea (DMO) medida en

gramos/cm², Contenido Mineral Óseo (CMO) medida en gramos, área ósea (Área B) medida en cm² y área tisular (Área T) medida en cm².



Imagen 11. Densitómetro Lunar Piximus utilizado para el análisis de las muestras.

4.7.2. MICROTOMOGRAFÍA COMPUTADORIZADA.

La microestructura ósea se estudió mediante micro-tomografía computadorizada (MicroTC). La TC es un método muy útil y ampliamente utilizado para el estudio de la microestructura ósea, tanto cortical como trabecular (69–72), y es considerada el estándar de oro para el estudio de la microestructura del hueso trabecular, siendo una técnica no invasiva y más rápida y menos costosa que las técnicas histomorfológicas (68).

Una MicroTC genera radiación gamma que pasa a través de un colimador y filtros e incide en el cilindro óseo a estudiar que se encuentra en un soporte rotatorio específico. La proyección de rayos X una vez atravesada la muestra ósea impactan en un detector de dichos rayos que, por medio de un procesamiento computarizado, analiza los grados de atenuación del haz de rayos y compone una imagen que posteriormente es analizada digitalmente (69).



Imagen 12: A la izquierda, aparato de microtomografía computarizada SkyScan1172; SkyScan . A la derecha disposición de la muestra sobre el soporte giratorio del aparato.

En nuestro trabajo las muestras fueron escaneadas usando un μ -TC (SkyScan1172; SkyScan; Kontich, Belgium) con una resolución de $10,88 \mu\text{m}$, con un voltaje de 80 kV, corriente de $120 \mu\text{A}$, un paso de rotación de 0,5 grados y un filtro de aluminio de 0,5 mm (Imagen 12). La región de interés incluyó hueso trabecular entre 5,0 y 15,0 mm desde la superficie articular. Se calcularon los siguientes parámetros: Volumen óseo, grosor trabecular, número de trabéculas, separación trabecular, y el factor de patrón trabecular (Imagen 13).

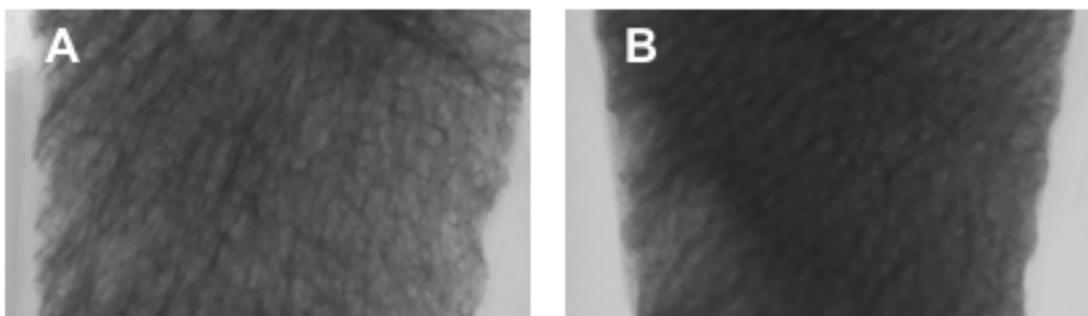


Imagen 13: A y B: Imagen radiográfica de la región de interés (A: Fractura de cadera, B: Coxartrosis). C y D: Corte axial mediante microTC de las muestras de cabeza femoral (C: Fractura de cadera, D: Coxartrosis)

4.7.3. DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX)

La DRX es utilizada a menudo en investigación para el estudio de tejidos mineralizados, especialmente para su geometría y sus componentes moleculares. Se trata de una técnica no destructiva que aporta información sobre las propiedades estructurales del cristal, así como su orientación, textura, tamaño, forma y cristalinidad (70).

Los átomos siguen una disposición regular en los cristales de hidroxiapatita. Éstos constituyen planos de alta densidad de electrones (planos reticulares). Cuando un haz monocromático de rayos X incide sobre estos electrones atómicos, sufre una dispersión característica con un ángulo

determinado. Por lo tanto, la difracción de rayos X proporciona una información exacta sobre las relaciones espaciales de los átomos que constituyen dicho cristal. La información es aún mayor si se tiene en cuenta que en las sustancias cristalinas la distribución de los átomos se repite de forma periódica. Esta regularidad de la disposición atómica hace que los rayos X dispersos se cancelen entre sí en la mayoría de las direcciones, y sólo en ciertas direcciones se producirá un refuerzo, que deja su impronta en un detector de rayos X, que lo traduce a una gráfica con picos de radiación, los cuales representan los planos reticulares que dan información acerca de la distribución, cristalinidad y alineación de los cristales (70).

Las características cristalográficas de la hidroxiapatita (HA) en las muestras óseas fueron analizadas utilizando un aparato de difracción de Rayos X (DRX) (D8-Discover/GADDS, Bruker, Karlsruhe, Germany) (Imagen 14). Los patrones de DRX fueron registrados usando un difractómetro con radiación $\text{CuK}\alpha$ (Ajustes: 40 Kv, 40 mA, Theca1 15° , Theca2 15° de ángulo de escaneo, anchura de marco 23° , modo STEP y 1800 pasos de tiempo de escaneo). Para analizar los datos obtenidos de cada espectro de DRX se utilizó el programa informático DIFFRAC-plus EVA (AXS, Bruker, Karlsruhe, Germany) (71).

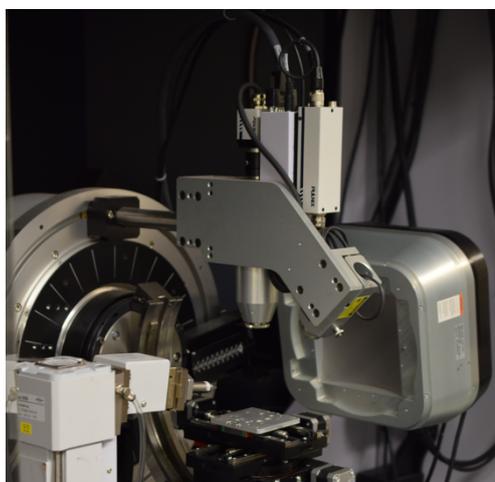


Imagen 14. Difractor de rayos X D8-Discover/GADDS (Bruker) utilizado para el análisis de las muestras.

El cristal de hidroxiapatita, cuya fórmula ideal es $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, tiene una forma de prisma hexagonal, con un eje longitudinal (eje largo o eje c) y un eje transversal (eje corto o eje a) (Imagen 16). El promedio de tamaño de cristales de HA a lo largo del eje c y el eje a de cada muestra ósea fue calculado usando respectivamente el pico (002) y (310) de la fórmula Bragg del espectro de DRX y la fórmula de Scherrer (Eq. 1). Donde D es el tamaño promedio del cristal, k es el factor de forma del cristal, λ es la longitud de onda de radiación utilizada, β es el ancho a la altura media del pico máximo de difracción de la muestra (FWHM) y θ es el ángulo Bragg, o la posición del pico de difracción (Imagen 15) (76–78).

$$D = (k \cdot \lambda) / (\text{FWHM} \cdot \cos\theta)$$

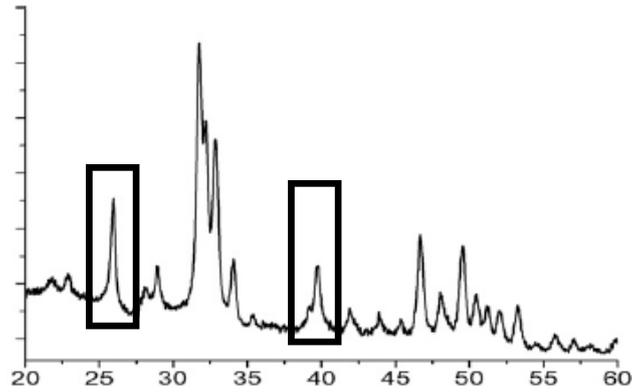


Imagen 15. Gráfica que representa el análisis cristalográfico de la hidroxiapatita ósea. Los recuadros representan los picos (002) y (310) de Bragg, utilizados para calcular el tamaño del cristal a lo largo de su eje c y eje a respectivamente.

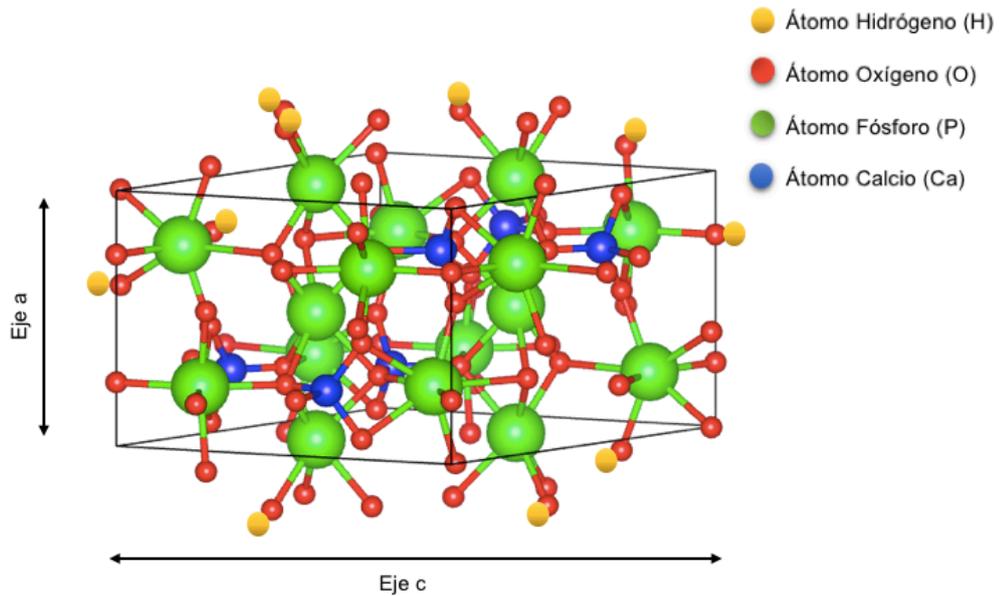


Imagen 16. Representación gráfica de un cristal de hidroxiapatita cálcica (Cortesía Dra. M^a Ángeles Gómez De La Torre).

4.7.4. ESPECTROMETRÍA RESONANCIA NUCLEAR MAGNÉTICA EN ESTADO SÓLIDO CON GIRO DE ÁNGULO MÁGICO (RNM-ES-MAS):

La RNM-ES es una técnica muy útil para el estudio de estructuras cristalinas, así como de otros materiales sólidos, obteniéndose un espectro de señales de resonancia que son interpretadas por un sistema informático, y son capaces de dar información cualitativa y cuantitativa de las muestras estudiadas (72,73). Se lleva a cabo produciendo un pulso electromagnético a una intensidad constante que orienta a los núcleos con espín positivo en la dirección del campo electromagnético (espín α) y a los núcleos con espín negativo en la dirección contraria a dicho campo electromagnético (espín β). La diferencia de energía entre los espín α y β depende de la fuerza del campo electromagnético (H_0) medida en Teslas. Si la muestra en estudio es irradiada brevemente por un pulso de radiofrecuencia, los núcleos en estado espín α son promovidos a estado espín β . Al cesar el pulso de radiofrecuencia, los núcleos vuelven a su estado espín inicial desprendiendo energía, que es recogida por un detector y un amplificador, y tras ello un ordenador realiza las gráficas espectroscópicas en función de la frecuencia frente a intensidad. De esta manera, las gráficas espectroscópicas dan información acerca de la concentración relativa del átomo excitado que se pretende estudiar. Esta técnica de espectroscopia sólo sirve para estudiar ciertos núcleos atómicos con número impar de protones, circunstancia que se da en los átomos ^1H , ^{13}C , ^{19}F y ^{31}P (74).

En nuestro estudio, la composición química del polvo de hueso extraído fue analizada utilizando la técnica de resonancia magnética en estado sólido (RNM-ES). La RNM-ES corrige los artefactos por anisotropía creados por los materiales sólidos y obtiene mejor resolución de las imágenes espectroscópicas

haciendo girar la muestra con un ángulo llamado mágico respecto a la dirección del campo magnético. Las mediciones se llevaron a cabo en un espectrómetro de RMN Bruker ASCEND 500 AVANCE (Billerica, MA), equipado con un imán con intensidad de campo de 14 Teslas, que produjo frecuencias para protones y fósforo de 600.00 y 242.94, respectivamente (Imagen 17). Se usó una sonda con giro de ángulo mágico (MAS) de Bruker con campos B1 de 70–80 kHz (40 kHz en el caso de la Polarización Cruzada) para obtener espectros ^{31}P de estado sólido con un solo pulso de 90° y con protón desacoplado a una velocidad de rotación de muestra 2,5 kHz. Todas las mediciones se realizaron de forma consecutiva, para evitar posibles cambios de sintonización en el espectrómetro. Las mediciones se dividieron por el peso del polvo analizado, lo que dio como resultado cuatro variables diferentes: Concentración relativa ^1H (contenido proteico del hueso), concentración relativa ^{31}P ($\text{PO}_4^{-3} + \text{HPO}_4^{-2}$), concentración relativa de ^{31}P con protón desacoplado (PO_4^{-3}) y concentración relativa de ^{31}P protonizado (HPO_4^{-2}) mediante polarización cruzada.



Imagen 17. Espectómetro de RNM Bruker Ascend 500
utilizado para el análisis de las muestras.

La concentración relativa de ^1H es una medición indirecta del contenido de proteína de la matriz ósea, fundamentalmente colágeno tipo I, ya que los protones ^1H procedentes tanto del agua como del contenido graso de la muestra, fueron eliminados durante la preparación de las mismas. La concentración relativa de ^{31}P aporta información sobre el componente inorgánico del hueso, al recoger la intensidad de los átomos de ^{31}P de los cristales de hidroxiapatita en su conjunto, independientemente de la localización en dichos cristales. Los átomos de ^{31}P de los cristales de hidroxiapatita en el hueso se encuentran fundamentalmente en 2 formas diferenciadas: grupos fosfatos con protón desacoplado o desprotonizado (PO_4^{-3}) y grupos fosfatos protonados (HPO_4^{-2}). Los grupos fosfatos con desprotonizados (PO_4^{-3}) tienden a encontrarse en las capas más internas de los cristales, donde el ambiente es más estable. Sin embargo, los grupos fosfatos protonados (HPO_4^{-2}) tienden a localizarse en capas más superficiales, en un ambiente más lábil, en íntima relación con el componente proteico y el agua libre en el hueso. La unión de los cristales de hidroxiapatita a las fibras de colágeno se produce fundamentalmente a este nivel (73,75,76).

Todos los parámetros utilizados para la magnetización de los distintos núcleos se encuentran en la tabla 3.

Tabla 3. Parámetros del espectrómetro de RNM-ES-MAS.

	<i>Parameters</i>						
<i>Nuclei</i>	<i>90°PD</i>	<i>NEX</i>	<i>PLA</i>	<i>SR</i>	<i>NP</i>	<i>RG</i>	<i>RD</i>
<i>¹H</i>	2.5	8	0	32k	32k	2k	1s
<i>³¹P</i>	10	100	-3	32k	32k	32k	20ms
<i>¹H-³¹P CP</i>	12	300	0	2k	2k	32k	2s

Abreviaturas: 90°PD: 90° duración del pulso; NEX: número de promedios; PLA: atenuación de nivel de potencia; SR: resolución espacial; NP: número de puntos; RG: ganancia del receptor; RD: retraso del reciclaje; CP: polarización cruzada.

4.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Los datos fueron analizados con el programa estadístico SPSS 17.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA), G*power 3.0.10 (Universität Kiel, Germany), y

Origin Pro 8.0 (OriginLab Cororation, Northampton, USA). Los valores promedios han sido expresados con sus correspondientes desviaciones estándar (DE). La distribución de las variables fueron analizadas usando las pruebas de Shapiro-Wilk, de Kolmogorov-Smirnov y el gráfico Q-Q. Las diferencias entre variables continuas fueron analizadas utilizando la T-Student para muestras independientes y el test U de Mann-Whitney si no seguían una distribución normal. La correlación entre variables continuas fue medida usando el coeficiente de correlación de Pearson para variables con distribución normal y el coeficiente de correlación de Spearman para variables con distribución no normal. Las diferencias entre los dos grupos del estudio fueron analizadas utilizando un análisis multivariable de la varianza. Se consideraron los resultados como significativos cuando los valores P de pruebas de 2 colas fueron $<0,05$. El poder del análisis estadístico fue llevado a cabo utilizando prueba de 2 colas de la correlación estadística para 2 medias independientes o prueba de Wilcoxon-Mann-Whitney para dos grupos con una probabilidad de error tipo α de 0,05. Las correlaciones entre diferentes variables continuas fueron ajustadas a edad, IMC y BV/TV utilizando un modelo de regresión lineal.

4.9. ESQUEMA PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.

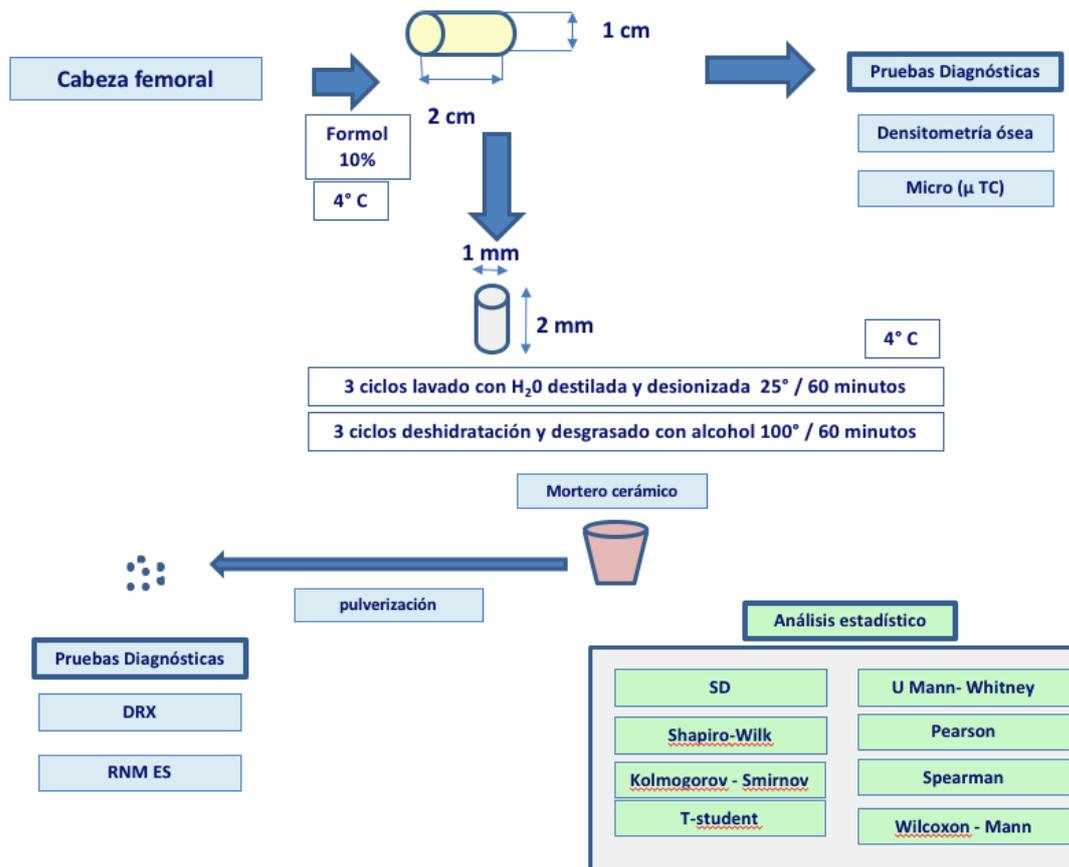


Imagen 18. Algoritmo de trabajo y procesamiento de las muestras..

CENTRO DE REFERENCIA	APORTACIÓN AL PROYECTO	EQUIPO PERSONAL
 <p>Hospital Regional Universitario de Málaga</p> <p>UNIVERSIDAD DE MÁLAGA</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Diseño del trabajo. - Supervisión del trabajo - Reclutamiento de pacientes. - Cirugía para la extracción cabezas femorales. - Almacenamiento de las muestras. - Primer procesamiento de las muestras (extracción cilindro óseo). - Análisis Estadístico. 	<ul style="list-style-type: none"> - I. <u>Tamimi</u> (Diseño, análisis estadístico y Revisión del trabajo) - JM. Sánchez Siles (Diseño, reclutamiento, procesamiento, cirugías y análisis estadístico) - E. <u>Guerado</u> (Diseño, supervisión y revisión del trabajo) - A. García (procesamiento de las muestras) - D. González (reclutamiento de las muestras).
 <p>McGill UNIVERSITY</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Diseño del trabajo. - Supervisión del trabajo. - Segundo procesamiento de las muestras (pulverización). - Análisis Densitométrico de las muestras. - Análisis DRX. - Análisis <u>MicroTC</u>. - Análisis <u>Estadístico</u>. 	<ul style="list-style-type: none"> - F. <u>Tamimi</u> (Diseño, Supervisión y Revisión del trabajo). - I. <u>Tamimi</u> (Diseño, Análisis DXA, DRX y <u>MicroTC</u>, análisis estadístico y revisión del trabajo). - JM Sánchez Siles (Diseño y análisis Estadístico). - H. <u>Eimar</u>, MN <u>Abdullah</u>, M. <u>Laurenti</u>, A. <u>AlSubaei</u> (Análisis DXA, DRX y <u>MicroTC</u>).
 <p>Massachusetts Global Hospital</p> <p>Harvard Medical School</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Diseño del trabajo. - Supervisión del trabajo - Análisis mediante RNM-ES-MAS 	<ul style="list-style-type: none"> - J. <u>Ackerman</u> (Diseño, supervisión y revisión del trabajo. Análisis RNM-ES-MAS). - A. Cortés (Análisis RNM-ES-MAS).

Imagen 19. Centros de referencia y colaboradores en el presente proyecto de investigación.

5. RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. DATOS DEMOGRÁFICOS.

Se incluyeron para estudio un total de 84 cabezas femorales de las cuales 11 fueron excluidas y 73 cumplían todos los criterios de inclusión (31 casos de fracturas subcapitales de fémur y 42 casos de coxartrosis avanzada).

La media de edad de los individuos que sufrieron una fractura fue de 79,6 años, con una DE de 10,1 mientras que la edad media de los pacientes no fracturados fue de 64,38 años, con una DE de 10,3 ($p < 0,001$).

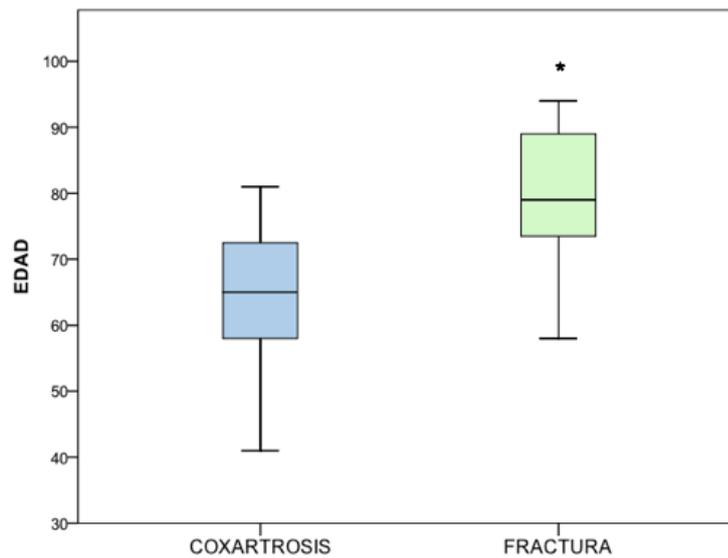


Imagen 20. Diagrama de cajas que representa la edad en ambos grupos.

* Diferencia estadísticamente significativa.

El porcentaje de mujeres en el grupo de pacientes con fractura de cadera fue del 74,2% mientras que en el grupo con artrosis de cadera fue del 45,2 % (p=0,01).

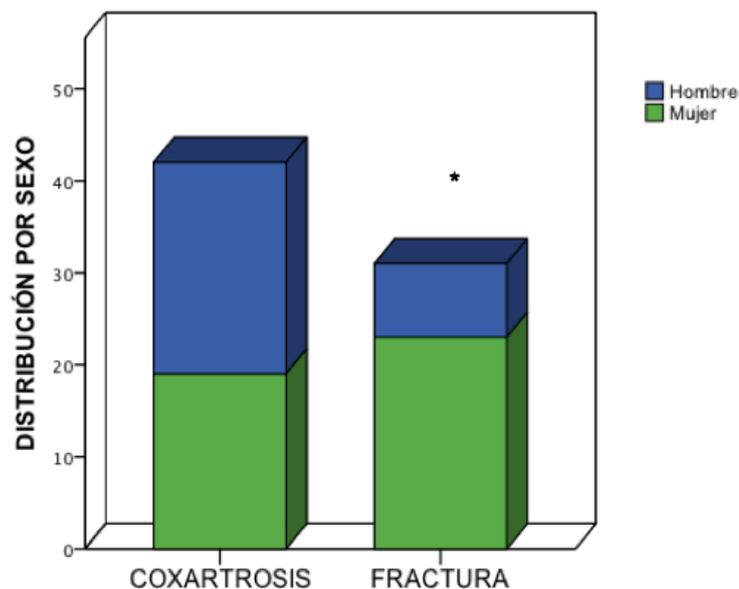


Imagen 21. Histograma que representa la distribución por sexos en ambos grupos.

* Diferencia estadísticamente significativa.

Los individuos que sufrieron una fractura de cadera tuvieron un menor IMC que aquellos sin fractura ($25,7 \text{ kg/m}^2 \pm 3,7$ y $28,48 \text{ kg/m}^2 \pm 3,9$ respectivamente) (p=0,01).

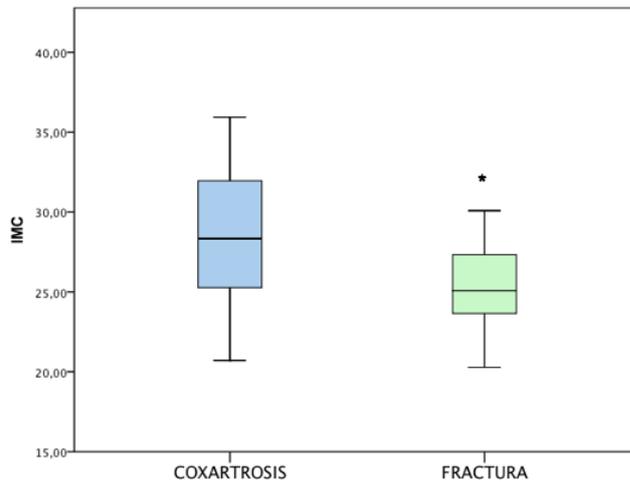


Imagen 22. Diagrama de cajas que representa el IMC en ambos grupos. IMC: Índice de Masa Corporal (kg/m^2)

* Diferencia estadísticamente significativa.

La ratio de fumadores-no fumadores para los pacientes con fractura y sin fractura fue de 0,35 y 0,68 respectivamente ($p=0,15$).

La media de la escala de morbilidad de Charlson (ICC) ajustada a la edad para pacientes con fractura de cadera fue de $5,27 \pm 1,98$, comparada con $2,82 \pm 1,47$ en pacientes con coxartrosis avanzada ($p<0,001$)

Los datos anteriormente citados se encuentran en la tabla 4

Tabla 4. Características demográficas del grupo a estudio.

Características	Fractura de cadera (n= 31)	Coxartrosis (n=42)	P
Edad (años)	79,6 ± 10,1	64,4 ± 10,3	0,000*
Género			
Hombre	8 (25,8)	23 (54,8)	0,01*
Mujer	23 (74,2)	19 (45,2)	0,01*
Fumador			
Si	8 (25,8)	17 (40,5)	0,15
No	23 (74,2)	25 (59,5)	
Índice Masa Corporal ^a	25,7 ± 3,7	28,48 ± 3,9	0,01*
Lateralidad			
Derecha	14 (45,2)	14 (66,7)	0,06
Izquierda	17 (54,8)	28 (33,3)	
Alcoholismo			
Si	2 (6,5)	4 (9,5)	0,49
No	29 (93,5)	38 (90,5)	
ICC	5,27 (± 1,98)	2,82 (± 1,47)	0,000*

Datos presentados como número (volumen %) o media ± desviación estándar.

Abreviaturas: ICC, Índice de comorbilidad de Charlson.

^a Medido como peso en kg dividido entre el cuadrado de la altura en metros

*Resultados estadísticamente significativos

T-Student, Chi cuadrado, U Mann-Whitney

5.2. DENSITOMETRÍA ÓSEA:

Los pacientes con fractura de cadera obtuvieron una densidad mineral ósea (DMO) menor $0,28 \text{ g/cm}^2 \pm 0,05$ que los pacientes con coxartrosis $0,39 \text{ g/cm}^2 \pm 0,10$ (p cruda < 0,0001, p ajustada = 0,002)

El CMO en individuos con fractura $1,34 \text{ g} \pm 0,51$ también fue menor que en pacientes sin fractura $1,77 \text{ g} \pm 0,80$ (p cruda= 0,020, p ajustada=0,195).

No hayamos diferencias significativas entre el grupo de pacientes con fractura y sin fracturas para el área T y B del hueso.

Tabla 5. Características microestructurales analizadas mediante Densitometría. Pacientes fracturados vs no fracturados.

Valores p crudos y ajustados a edad, volumen óseo, IMC y CCI

Características	Fracturas de cadera (n= 31)	Coxartrosis (n=42)	p cruda	p ajustada
DMO (g/cm^2)	$0,28 \pm 0,048$	$0,39 \pm 0,105$	0,000*	0,002*
CMO (g)	$1,34 \pm 0,51$	$1,8 \pm 0,811$	0,020*	0,195
área B (cm^2)	$4,62 \pm 1,179$	$4,51 \pm 1,13$	0,492	0,442
área T (cm^2)	$5,05 \pm 1,24$	$4,83 \pm 1,16$	0,226	0,337

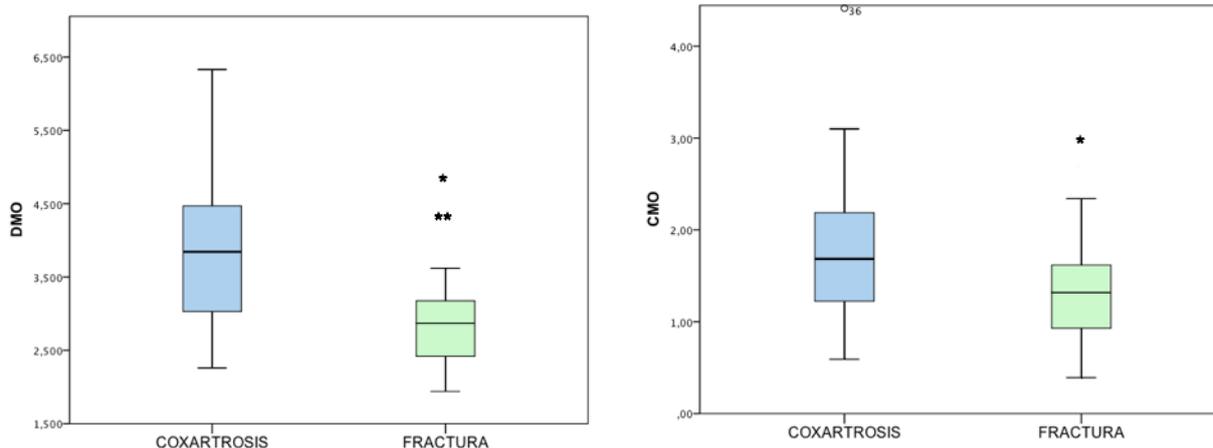


Imagen 23: Diagramas de cajas que representa los parámetros estudiados mediante Absorciometría de Rayos X.

DMO: Densidad Mineral Ósea. CMO: Contenido Mineral ósea.

*= $p < 0,05$ valores en crudo.

**= $p < 0,05$ valores ajustados a edad, volumen óseo, IMC e ICC.

5.3. MICROTOMOGRFÍA COMPUTADORIZADA.

El volumen óseo fue mayor en el grupo de pacientes sin fractura con un $28,6 \% \pm 10,5$, con respecto a los pacientes con fracturas con un $20,3\% \pm 6,6$ (p cruda=0,01, p ajustada=0,026).

El número de trabéculas fue también mayor en los individuos sin fractura $2,58 \text{ mm}^{-1} \pm 1,57$ que en los pacientes fracturados $1,5 \text{ mm}^{-1} \pm 0,79$, (p cruda<0,001, p ajustada=0,002).

La separación trabecular fue menor en los pacientes sin fractura $0,42 \text{ mm} \pm 0,23$ que en el grupo de fracturas $0,58 \text{ mm} \pm 0,27$, ($p \text{ cruda}=0,005$, $p \text{ ajustada}=0,036$).

Los pacientes con fractura de cadera tenían un grosor trabecular mayor $0,18 \text{ mm} \pm 0,02$ que aquellos individuos que no tenían fracturas $0,13 \text{ mm} \pm 0,04$, ($p \text{ cruda}= 0,044$, $p \text{ ajustada}=0,156$).

No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre los 2 grupos en cuanto al factor de patrón trabecular.

Tabla 6. Características microestructurales analizadas mediante microTC.

Valores p crudos y ajustados a edad, volumen óseo, IMC y CCI.

Características	Fracturas de cadera (n= 31)	Coxartrosis (n=42)	p cruda	p ajustada
Volumen óseo (%)	$20,37 \pm 6,58$	$28,62 \pm 10,51$	0,001*	0,026*
Separación trabecular (mm)	$0,58 \pm 0,276$	$0,42 \pm 0,229$	0,005*	0,036*
Grosor trabecular (mm)	$0,18 \pm 0,021$	$0,13 \pm 0,037$	0,044*	0,156
Número de trabéculas(mm^{-1})	$1,5 \pm 0,791$	$2,58 \pm 1,57$	0,000*	0,002*
Factor de patrón trabecular (mm^{-1})	$-0,49 \pm 20,59$	$-9,32 \pm 25,62$	0,072	0,101

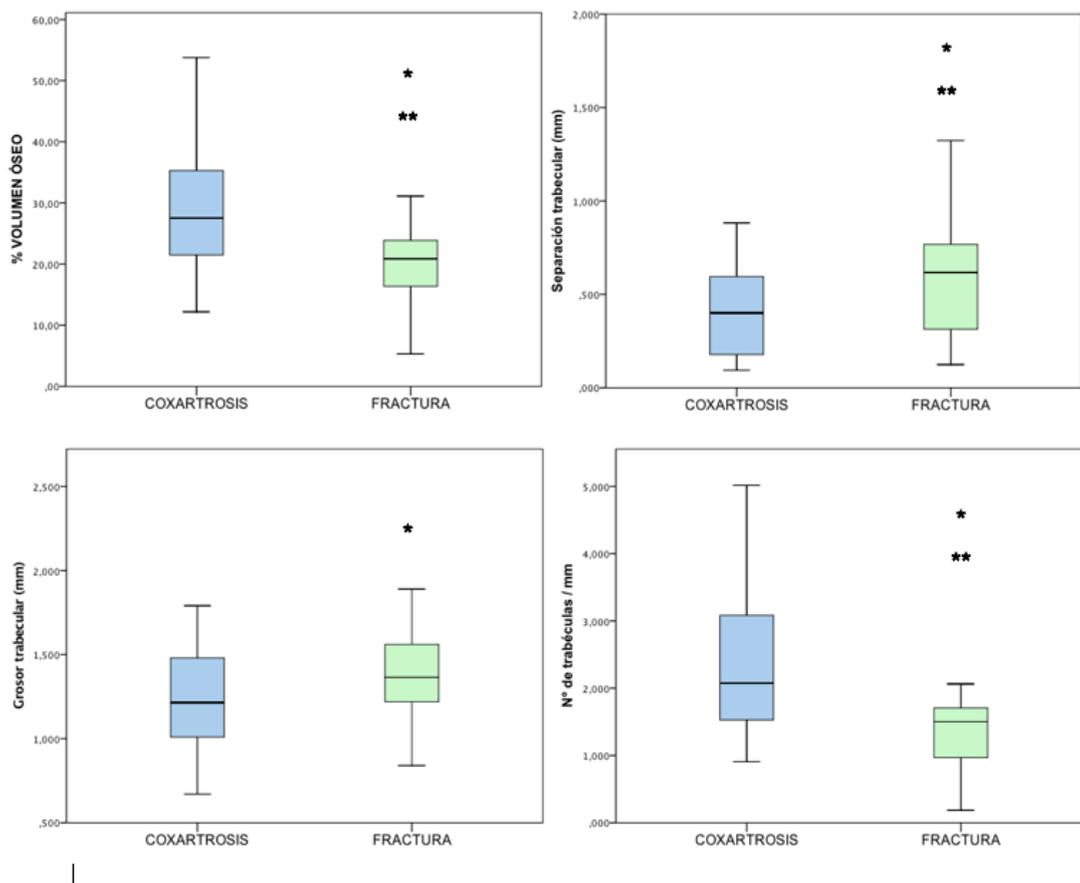


Imagen 24: Diagramas de barra que representa los parámetros estudiados mediante μ -TC.

*= $p < 0,05$ valores en crudo.

**= $p < 0,05$ valores ajustados a edad, volumen óseo, IMC e ICC.

5.4. DIFRACCIÓN DE RAYOS X:

No encontramos diferencias estadísticamente significativas en el tamaño de los cristales de hidroxapatita a lo largo del eje C (eje largo) entre el grupo de pacientes con fractura $17,1 \text{ nm} \pm 1,8$ y en pacientes sin fracturas $17,2 \text{ nm} \pm 2,2$, $p=0,901$.

Tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas entre pacientes con fractura $8,1 \text{ nm} \pm 0,9$ y sin fracturas $7,96 \text{ nm} \pm 1,3$ fijándonos en el eje A (eje corto) del cristal de Hidroxiapatita, $p= 0,675$.

Tabla 7. Características nanoestructurales analizadas mediante Difracción de Rayos X. Valores p crudos y ajustados a edad, volumen óseo, IMC y CCI

Características	Fracturas de cadera (n= 31)	Coxartrosis (n=42)	P cruda	P ajustada
Longitud eje C (nm)	$17,1 \pm 1,8$	$17,2 \pm 2,2$	0,901	0,775
Longitud eje A (nm)	$8,1 \pm 0,9$	$7,96 \pm 1,3$	0,675	0,853

5.5. ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNÉTICA EN ESTADO SÓLIDO:

No hallamos diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos en cuanto a la intensidad relativa de la señal de espectroscopia integrada por un único pulso de ^1H MAS-RNM (grupo fractura de cadera $0,956 \pm 0,08$; grupo coxartrosis $0,983 \pm 0,11$; $p= 0,232$), ^{31}P MAS-RNM en pulso único (grupo fractura de cadera $7,18 \pm 2,0$; grupo coxartrosis $7,66 \pm 2,1$; $p= 0,377$) y ^{31}P MAS-RNM con protón desacoplado (grupo fractura de cadera $6,90 \pm 1,9$; grupo coxartrosis $7,41 \pm 1,8$; $p= 0,206$).

Tampoco se hallaron diferencias en cuanto a la intensidad de señal relativa de ^{31}P registrada mediante ^1H - ^{31}P polarización cruzada MAS-RNM en el grupo fracturas de cadera $1,2 \pm 0,3$ y el grupo coxartrosis $1,74 \pm 1,5$; $p= 0,269$.

Tabla 8. Características microestructurales analizadas mediante espectroscopia RNM-MAS-ES.

Valores p crudos y ajustados a edad, volumen óseo, IMC y CCI

Características	Fracturas de cadera (n= 31)	Coxartrosis (n=42)	P cruda	P ajustada
^1H Pulso único	$0,956 \pm 0,08$	$0,983 \pm 0,11$	0,232	0,325
^{31}P Pulso único	$7,18 \pm 2,0$	$7,66 \pm 2,1$	0,377	0,494
^{31}P Pulso único protón desacoplado	$6,90 \pm 1,90$	$7,41 \pm 1,8$	0,206	0,318
^1H - ^{31}P polarización cruzada	$1,20 \pm 0,3$	$1,74 \pm 1,5$	0,269	0,141

5.6. CORRELACIONES

5.6.1. DMO Y MICROESTRUCTURA ÓSEA.

Uno de los objetivos del presente estudio fue averiguar qué parámetros estructurales de los analizados influían en la DMO y en qué medida.

Tras el análisis con microTC, cuando se tuvieron en cuenta ambos grupos, se observa una fuerte correlación entre DMO y volumen óseo de número de trabéculas $r= 0,689$ ($p < 0,001$), y entre DMO y número trabecular $r= 0,664$ ($p < 0,001$). Hallamos también una débil correlación negativa entre DMO y grosor

trabecular $r = -0,313$ ($p = 0,002$), y una moderada correlación negativa entre DMO y separación trabecular $r = -0,486$ ($p < 0,001$).

No obstante, los resultados fueron distintos cuando se analizaron el grupo de fractura de cadera y el de coxartrosis por separado. En el grupo de fracturas de cadera no se encontró relación estadísticamente significativa entre los parámetros estudiados y la DMO. Sin embargo, en el grupo de coxartrosis hubo una fuerte correlación positiva entre volumen óseo, número trabecular y DMO ($r = 0,704$, $p < 0,001$; $r = 0,653$, $p < 0,001$ respectivamente) y una correlación negativa entre separación trabecular y DMO ($r = 0,653$, $p < 0,001$).

Referente al tamaño de los cristales, no se halló una correlación estadísticamente significativa entre la longitud del eje C y longitud del eje A y la DMO ($r = -0,107$, $p = 0,376$; $r = -0,104$, $p = 0,388$ respectivamente). Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas cuando se analizaron los grupos de forma independiente.

Por último, en cuanto al análisis de datos obtenidos de la RNM-ES, se halló una correlación negativa moderada estadísticamente significativa entre la DMO y la concentración relativa de ^1H $r = -0,494$ ($p = 0,002$). No se encontró relación estadísticamente significativa entre la DMO y la concentración relativa de ^{31}P obtenida mediante pulso único $r = 0,045$ ($p = 0,720$), ni con la concentración relativa de ^{31}P con protón desacoplado $r = 0,131$ ($p = 0,303$), ni con la

concentración relativa de ^1H - ^{31}P mediante polarización cruzada $r= 0,138$ ($p= 0,272$). No obstante, cuando se analizaron los datos de forma separada, se observó que el grupo de fracturas no se correlacionó de forma estadísticamente significativa con la concentración relativa de ^1H ni con el resto de parámetros analizados mediante MAS-RNM. Sin embargo, en el grupo de coxartrosis sí se encontró una correlación negativa moderada estadísticamente significativa entre ^1H y DMO ($r=-0,580$, $p=0,003$).

Estos resultados se recogen en la siguiente tabla.

Tabla 9. Correlación entre DMO y otras características estructurales analizadas mediante microTC, Densitometría, difracción rayos X y MAS-RNM.

Características	Coeficiente Correlación R Grupo Fracturas (n=31)		Coeficiente Correlación R Grupo Artrosis (n=42)		Coeficiente Correlación R Ambos grupos (n=73)	
	Crudo	Ajustado	Crudo	Ajustado	Crudo	Ajustado
Volumen óseo (%)	0,138	0,112	0,720*	0,704*	0,694*	0,689*
Separación trabecular (mm)	-0,083	-0,035	-0,580*	-0,561*	-0,497*	-0,486*
Grosor trabecular (mm)	-0,049	-0,078	0,360*	-0,295	-0,353*	-0,313*
Nº trabéculas (mm ⁻¹)	0,034	0,080	0,679*	0,653*	0,661*	0,664*
Patrón trabecular (mm ⁻¹)	0,174	0,239	-0,201	-0,108	-0,196	-0,152
BMC (g)	0,819*	0,836*	0,843*	0,853*	0,845*	0,850*
HA eje c (nm)	-0,114	-0,464	-0,085	-0,084	-0,107	-0,136
HA eje a (nm)	-0,025	-0,084	-0,055	-0,065	-0,104	-0,099
Concentración ¹ H _A	-0,201	-0,115	-0,478*	-0,580*	-0,385*	-0,494*
Concentración ³¹ P _B	-0,123	-0,068	0,011	-0,100	0,044	-0,010
Concentración ³¹ P _C	-0,052	-0,034	0,143	-0,045	0,131	-0,016
Concentración ³¹ P _D	-0,001	-0,058	0,062	0,050	0,138	0,188

Análisis de regresión lineal ajustado a edad, IMC y volumen óseo.

*Estadísticamente significativo.

HA: cristales de hidroxiapatita.

A Concentración relativa de ¹H obtenido mediante pulso único de espectroscopia de MAS RNM.

B Concentración relativa de ³¹P obtenido mediante pulso único espectroscopia MAS RNM.

C Concentración relativa de ³¹P con protón desacoplado obtenido mediante pulso único de espectroscopia MAS RNM.

D Concentración relativa de ³¹P con protón acoplado obtenido mediante polarización cruzada de espectroscopia MAS RNM.

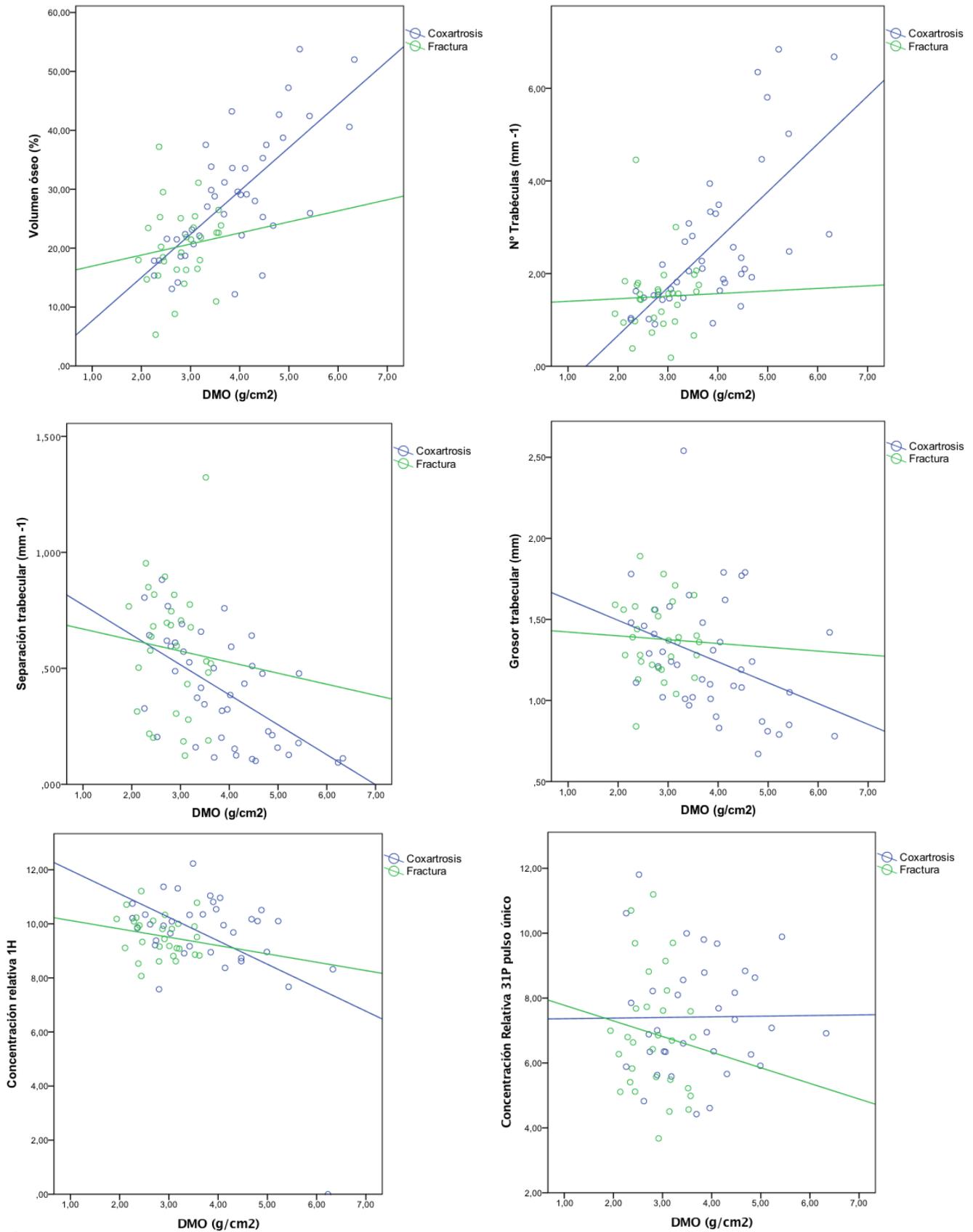


Imagen 25. Correlación entre DMO y resto de parámetros estructurales obtenidos mediante microTC y MAS RNM.

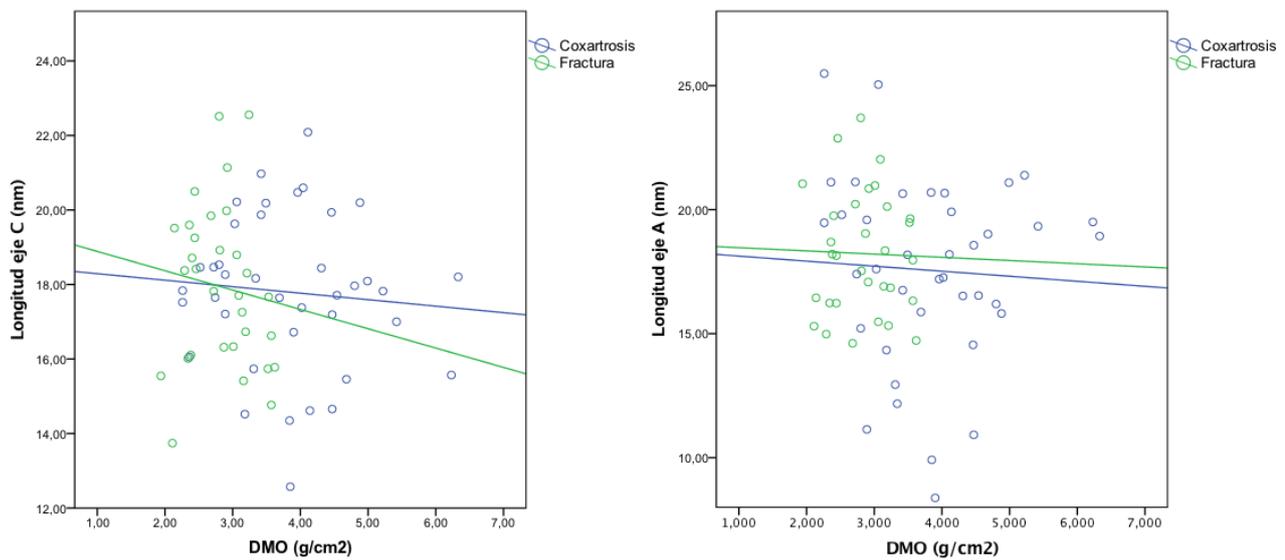


Imagen 26. Correlación entre DMO y tamaño del cristal de HA.

5.6.2. EDAD Y MICROESTRUCTURA ÓSEA.

Como objetivo secundario de este proyecto, se nos planteó averiguar qué parámetros estructurales del hueso se modifican con la edad y en qué medida, ya que se sabe que la fragilidad ósea aumenta con la edad, independientemente del cambio en la densidad ósea (77).

Cuando se analizaron los datos de los dos grupos de forma conjunta, se encontró que ningún parámetro de los analizados variaba de forma significativa con la edad (tabla 10).

Sin embargo, cuando se analizaron los datos en cada grupo de forma independiente, observamos en el grupo de fracturas una correlación inversa entre edad y concentración de ^1H ($r=-0,459$, $p=0,012$, r ajustada= $-0,670$, $p=0,02$). En cambio, no hallamos correlaciones estadísticamente significativas entre el resto de parámetros analizados mediante densitometría, microTC, cristalografía y RNM en estado sólido y la edad (tabla 10).

En el grupo de coxartrosis, se halló una correlación estadísticamente significativa entre edad, DMO y CMO cuando se ajustaron los resultados a volumen óseo e IMC (r ajustada= $0,436$ y r ajustada $0,470$ respectivamente, $p=0,03$).

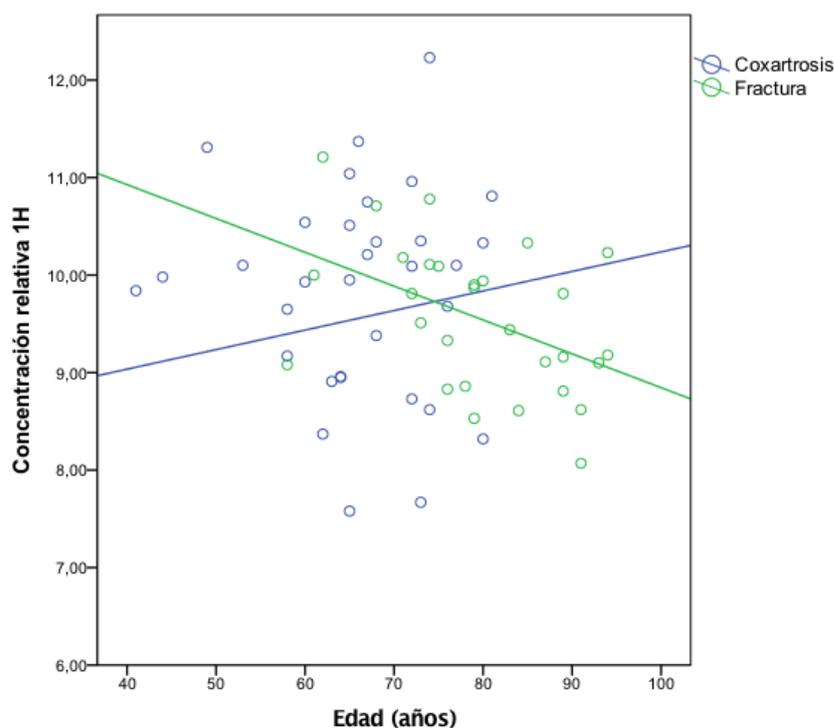


Imagen 27. Correlación entre edad y concentración relativa ^1H .

Tabla 10. Correlación entre edad y otras características estructurales analizadas mediante microTC, Densitometría, difracción rayos X y RNM-MAS-ES.

Características	Coeficiente Correlación R Grupo Fracturas (n=31)		Coeficiente Correlación R Grupo Artrosis (n=42)		Coeficiente Correlación R Ambos grupos (n=73)	
	Crudo	Ajustado	Crudo	Ajustado	Crudo	Ajustado
Separación trabecular (mm)	-0,144	-0,172	-0,228	-0,067	0,060	-0,082
Grosor trabecular (mm)	-0,083	-0,309	-0,092	-0,075	0,044	-0,126
Nº trabéculas (mm ⁻¹)	0,016	0,016	0,230	0,134	-0,107	0,047
Patrón trabecular (mm ⁻¹)	0,087	0,017	-0,110	-0,074	0,078	0,018
BMD(g/cm ²)	-0,009	0,153	0,228	0,436*	-0,206	0,142
BMC (g)	0,113	0,011	0,171	0,470*	-0,102	0,226
HA eje c (nm)	0,092	0,059	0,136	0,249	0,111	0,115
HA eje a (nm)	0,015	0,147	0,107	-0,088	0,135	0,060
Concentración ¹ H _A	-0,459*	-0,670*	0,097	0,065	-0,030	-0,246
Concentración ³¹ P _B	-0,324	-0,336	0,130	-0,053	-0,111	-0,260
Concentración ³¹ P _C	-0,065	-0,112	0,133	-0,080	-0,028	-0,171
Concentración ³¹ P _D	-0,333	-0,324	0,284	0,396	-0,011	0,07

Análisis de regresión lineal ajustado a IMC y volumen óseo.

*Estadísticamente significativo.

HA: cristales de hidroxiapatita.

A Concentración relativa de ¹H obtenido mediante pulso único de espectroscopia de MAS RNM.

B Concentración relativa de ³¹P obtenido mediante pulso único espectroscopia MAS RNM.

C Concentración relativa de ³¹P con protón desacoplado obtenido mediante pulso único de espectroscopia MAS RNM.

D Concentración relativa de ³¹P con protón acoplado obtenido mediante polarización cruzada de espectroscopia MAS RNM.

5.6.3. TAMAÑO DE CRISTAL Y MICROESTRUCTURA ÓSEA.

En el presente estudio, se halló una correlación negativa estadísticamente significativa entre la longitud del eje corto del cristal de HA y la concentración de ^{31}P protonizados (HPO_4^{2-}) obtenida mediante MAS RNM con polarización cruzada ($r=-0,473$, $p<0,001$, r ajustada= $-0,496$, $p<0,001$). Se observó una relación estadísticamente significativa débil entre el grosor del cristal de HA en su eje corto y la DMO (r ajustada= $-0,326$, $p=0,033$). Sin embargo, no se encontró relación estadísticamente significativa respecto al eje c del cristal de HA ($r=-0,158$, $p=0,217$) (Imagen 28).

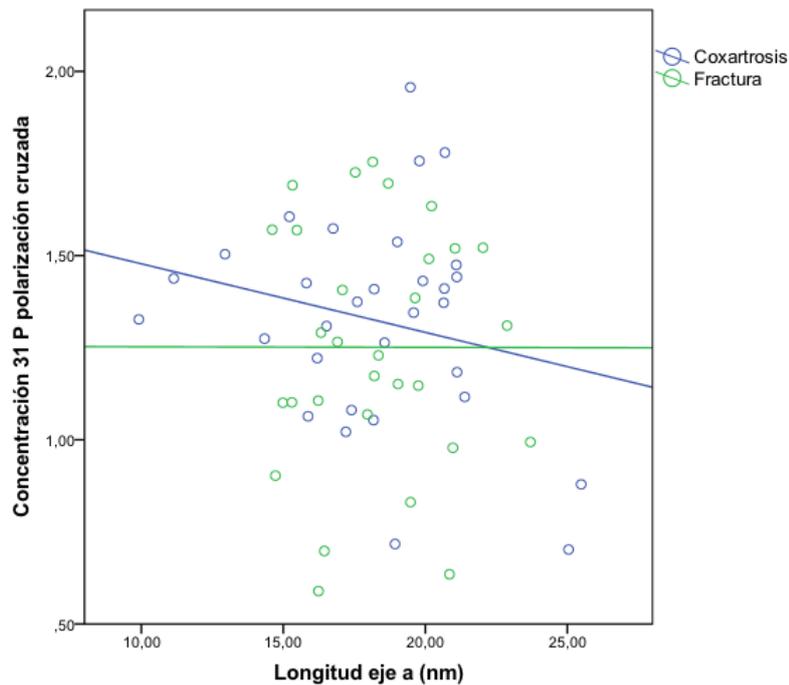


Imagen 28. Correlación entre longitud eje a de los cristales de HA y concentración relativa de HPO_3

Cuando se analizaron los datos en ambos grupos de forma independiente, se observó que, en el grupo de fracturas, la relación entre la longitud del eje a de los cristales de HA y la concentración de HPO_4^{2-} no era estadísticamente significativa. Tampoco hubo relación estadísticamente significativa entre la longitud del eje c y la concentración de HPO_4^{2-} en el grupo de las fracturas ($r=0,130$, $p=0,493$).

Sin embargo, en el grupo de coxartrosis se observó una correlación inversa moderada estadísticamente significativa entre la longitud del eje a de los cristales de HA y la concentración relativa de HPO_4^{2-} ($r=-0,559$, $p=0,001$, r ajustada= $-0,566$, $p<0,001$). En cuanto a la relación entre concentración de HPO_4^{2-} y la longitud del eje c de la HA no se observó relación estadísticamente significativa ($r=-0,248$, $p=0,164$).

No se hallaron otras diferencias entre el tamaño de los cristales de HA y el resto de parámetros analizados. En la siguiente tabla se resumen los resultados obtenidos.

Tabla 11. Correlación entre el eje corto del cristal de HA y otras características estructurales analizadas mediante microTC, Densitometría, y RNM-MAS-ES.

Características	Coeficiente Correlación R Grupo Fracturas (n=31)		Coeficiente Correlación R Grupo Artrosis (n=42)		Coeficiente Correlación R Ambos grupos (n=73)	
	Crudo	Ajustado	Crudo	Ajustado	Crudo	Ajustado
Separación trabecular (mm)	0,121	0,461	-0,168	-0,144	-0,010	0,045
Grosor trabecular (mm)	-0,008	0,144	-0,013	-0,039	0,008	-0,002
Nº trabéculas (mm ⁻¹)	0,234	0,163	0,126	0,041	0,091	0,109
Patrón trabecular (mm ⁻¹)	-0,139	-0,185	-0,086	-0,164	-0,081	-0,126
BMD (g/cm ²)	-0,009	-0,099	-0,063	-0,385	-0,104	-0,326*
BMC (g/cm ²)	-0,221	-0,252	-0,039	-0,199	-0,111	-0,246
Concentración ¹ H _A	-0,065	-0,135	-0,029	0,161	-0,035	0,109
Concentración ³¹ P _B	0,010	-0,029	0,011	-0,015	-0,027	-0,059
Concentración ³¹ P _C	-0,062	0,021	-0,061	-0,110	-0,067	-0,112
Concentración ³¹ P _D	-0,001	-0,037	-0,559*	-0,566*	-0,473*	-0,496*

Análisis de regresión lineal ajustado a edad, IMC y volumen óseo.

*Estadísticamente significativo.

HA: cristales de hidroxiapatita.

A Concentración relativa de ¹H obtenido mediante pulso único de espectroscopia de MAS RNM.

B Concentración relativa de ³¹P obtenido mediante pulso único espectroscopia MAS RNM.

C Concentración relativa de ³¹P con protón desacoplado obtenido mediante pulso único de espectroscopia MAS RNM.

D Concentración relativa de ³¹P con protón acoplado obtenido mediante polarización cruzada de espectroscopia MAS RNM.

6. DISCUSIÓN

6. DISCUSIÓN.

El objetivo de este proyecto consistió en conocer qué diferencias existen a nivel micro y nano estructurales entre pacientes con fractura de cadera y pacientes sin fracturas de cadera.

6.1. DATOS DEMOGRÁFICOS.

En el presente estudio, observamos que los pacientes con fractura de cadera tenían mayor edad, mayor proporción de individuos de sexo femenino y mayores puntuaciones en el índice de comorbilidad de Charlson (ICC) que los pacientes con coxartrosis. En cambio, el índice de masa corporal (IMC) fue superior en el grupo de pacientes con coxartrosis.

EDAD

Estos resultados son concordantes con la mayoría de los registros nacionales de artroplastias de cadera. La academia americana de cirujanos ortopédicos (AAOS) en su informe anual de 2019 recoge entre otras variables los datos demográficos de casi 600.000 prótesis de cadera implantadas en el periodo 2012-2018. En dicho informe se constata que la edad media de los pacientes que se implantaron una prótesis de cadera por causa de fractura de cadera (72,4 años en pacientes tratados mediante PTC, 80,8 años en pacientes tratados mediante PPC), fue estadísticamente superior a la edad de aquellos pacientes que en los que se implantó una prótesis de cadera debido a artrosis

de cadera (65,6 años) (78). Los registros británico y sueco también coinciden en una mayor edad en pacientes tratados mediante artroplastia de cadera por fractura que por coxartrosis (79,80). Además, la proporción de mujeres fue significativamente mayor en el grupo de fracturas de cadera que en el grupo de coxartrosis, aunque en todos los registros se observa una proporción de mujeres mayor a la de hombres también en el grupo de pacientes intervenidos por coxartrosis (78-80). Cuando se estratifica por edad el grupo de coxartrosis, la proporción de hombres es superior a la de mujeres en pacientes menores de 60 y 65 años según el registro nacional de prótesis de cadera americano y sueco respectivamente (78,79). La edad es el principal factor de riesgo para sufrir una fractura de cadera, independientemente de la DMO y otros parámetros estructurales del hueso (45,55). Esto es debido por un lado a un debilitamiento progresivo del hueso asociado a la edad (51,52) y por otro a un mayor riesgo de caídas que conlleva el envejecimiento (47,48).

MORBILIDAD

En cuanto a la morbilidad, nuestro estudio coincide con el registro sueco de artroplastias de cadera, en el que se constató puntuaciones en la escala de la Sociedad Americana de Anestesiología (ASA) mayores en los pacientes con fracturas de cadera que en los pacientes con coxartrosis, al igual que mayor mortalidad perioperatoria (79). Si bien es cierto que la escala ASA mide el riesgo anestésico y no es una escala de morbilidad propiamente dicha, sí que existe una relación entre morbilidad y puntuación en la escala ASA.

ÍNDICE DE MASA CORPORAL (IMC)

En cuanto al IMC, nuestro estudio coincide con el registro sueco de artroplastias de cadera, en el que se muestra que el IMC más común en pacientes intervenidos por coxartrosis fue el de sobrepeso (IMC 25-29,9) o la obesidad (IMC > 29), mientras que en el grupo de fracturas de cadera el IMC más común fue el normal (IMC 18,5-24,9) o por debajo de lo normal (IMC < 18,5) (79). Numerosos estudios relacionan el IMC con el estado nutricional del paciente, y sugieren que un IMC bajo se relaciona con desnutrición, disminución de la masa muscular y sarcopenia, que facilitarían el riesgo de caída, y con ello de fractura de cadera (81–83).

Nuestros resultados demográficos también fueron concordantes con el estudio realizado por Zupan et al, en el que también se estudiaron las características micro estructurales del hueso mediante microTC y DEXA (además de características histomorfométricas), y obtuvieron en el grupo de pacientes con fractura de cadera una mayor edad, un mayor porcentaje de mujeres y un IMC menor que el grupo con coxartrosis (84).

6.2. DENSITOMETRÍA MINERAL ÓSEA.

Nuestros resultados demuestran una menor densidad mineral ósea en los pacientes con fractura de cadera que en los pacientes con coxartrosis. La inmensa mayoría de estudios clínicos han demostrado que existe una relación inversa entre la DMO y la posibilidad de sufrir una fractura de cadera, sobretodo

cuando la DMO es baja en el cuello femoral (2,85). Se estima que el riesgo de sufrir una fractura de cadera se multiplica por 2 por cada desviación estándar que desciende la DMO (9,86). Este gradiente de riesgo (definido como riesgo relativo / Desviación estándar) va decreciendo a medida que avanza la edad (85).

En relación con la DMO, estudios previos concluyen que existe una relación inversa entre osteoporosis y artrosis, aunque no están claros los mecanismos fisiopatológicos que justifiquen esta relación (87,88). Los pacientes con artrosis en estadios iniciales presentan cifras de DMO mayores que individuos sin artrosis (89). Este incremento de la DMO podría tener dos causas distintas: por un lado, la fisiopatología de la artrosis se caracteriza por un incremento de la formación ósea a nivel subcondral, traducido radiológicamente como una esclerosis subcondral (61) y por otro lado, la existencia de dicha esclerosis subcondral y osteofitos que acompañan a la artrosis podrían arrojar cifras de DMO superiores a las reales (15,16). Sin embargo, a pesar de observarse una mayor DMO en pacientes con artrosis, no implica un menor riesgo de sufrir una fractura en estos pacientes. Esto podría ser debido a otros factores no relacionados con la estructura ósea, como pueden ser una menor fuerza muscular y mayor inestabilidad postural producidas por el dolor (90) o incluso causas relacionadas con el envejecimiento como la enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer y otras (33).

6.3. MICROTOMOGRAFÍA COMPUTADORIZADA.

En el presente proyecto, se observó que los pacientes que sufrieron una fractura de cadera presentaron un número de trabéculas óseas y un volumen óseo menor que el grupo de pacientes con coxartrosis. Además, la separación trabecular en el grupo de pacientes de fractura de cadera fue mayor que en el grupo de coxartrosis.

En los últimos años se han publicado numerosos trabajos científicos que estudian la microarquitectura ósea mediante técnicas de MicroTC. Nuestros resultados coinciden con la mayoría de estudios publicados, en los que en comparación con los sujetos con artrosis de cadera, los pacientes que sufren una fractura de cadera tienen una estructura del hueso trabecular alterada (1,3,14–16). No obstante, existen algunas diferencias en cuanto a los parámetros estudiados entre publicaciones. En el estudio de Montoya et al que compara 12 pacientes con fractura de cadera y 13 de artrosis de cadera, obtienen un menor volumen óseo y número de trabéculas en el grupo de fracturas; en cambio no encontraron diferencias en cuanto al grosor trabecular, coincidiendo con nuestros resultados. Sin embargo, no encuentran diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la separación trabecular y sí las había en cuanto al factor de patrón trabecular que obtuvo mayor resultado en el grupo de osteoporosis (91). En otro estudio con mayor número de pacientes (51 OA, 40 fracturas de cadera), observan los mismos resultados en cuanto a volumen óseo,

número de trabéculas y separación trabecular que nuestro estudio y, además, coincide con Montoya et al en cuanto al patrón trabecular (84). Ni en nuestro estudio, ni en los 2 estudios anteriormente mencionados se encontraron diferencias estadísticamente significativas relacionadas con el grosor trabecular. Sin embargo, Zhang et al y Li et al, observan un mayor grosor trabecular en el grupo de pacientes con OA. Esto puede explicarse en parte debido a que nuestro estudio tenía un mayor tamaño muestral y que utilizamos un microTC de mayor resolución (10,88 μm vs 36 μm) (92,93). Blain et al comparó las características microestructurales del hueso trabecular y cortical entre pacientes con fractura y artrosis de cadera, concluyendo que el adelgazamiento cortical y la pérdida de masa ósea trabecular y conectividad podrían desempeñar un papel importante en la fragilidad esquelética en las fracturas de cadera (94).

Nuestro equipo llevó a cabo un estudio en el que se añadió a la mismas muestras utilizadas en este proyecto un tercer grupo de individuos sin patología aparente de cadera que se reclutaron del Museo Médico de la Facultad de Medicina de la Universidad de McGill. En este estudio se analizó en los 3 grupos la microestructura trabecular, el marco topológico de las muestras y se realizó un análisis de elementos finitos (FEA) tridimensional que arrojó datos sobre comportamiento mecánico de las muestras (módulo de elasticidad, módulo de stress de Von Mises y resistencia al cizallamiento). En el estudio morfométrico mediante microTC, observamos un mayor grosor trabecular en el grupo de individuos sanos en comparación con los otros dos grupos. También observamos una mayor conectividad trabecular en el grupo de OA en

comparación con el grupo de individuos sanos y FC, sin embargo no hubo diferencias entre el grupo de FC e individuos sanos. La longitud de intersección media de anisotropía fue mayor en el grupo de FC que en los grupos de individuos sanos y OA, sin embargo no hubo diferencias entre estos dos grupos. En cuanto al análisis mecánico mediante FEA, no se hallaron diferencias en cuanto a valores de tensión, resistencia al cizallamiento, proporción de nodos con distintas valencias y diferencias en cuanto al comportamiento mecánico entre el grupo de OA y FC (grupos con patología ósea), sin embargo sí que las hubo respecto al grupo de individuos sanos, por lo tanto, cabría pensar que el desarrollo de enfermedades como la artrosis y la fractura de cadera alteran el marco topológico del hueso trabecular, lo que conllevaría un debilitamiento significativo del mismo (95).

La microestructura trabecular actúa como variable independiente en la resistencia ósea, así como un factor determinante en el desarrollo de una fractura y la fragilidad ósea (18–21). Legrand et al publicaron un estudio realizado en hombres de mediana edad con osteopenia, donde no se encontraron diferencias en el volumen óseo entre los individuos con fracturas vertebrales y los que no sufrieron fracturas. Sin embargo, los autores de este estudio observaron una mayor conectividad trabecular y mayor número de trabéculas en pacientes sin fracturas vertebrales (96). Ciarelli et al realizaron otro estudio comparativo que analizaba las diferencias entre el hueso esponjoso en pacientes con fracturas de cadera y controles cadavéricos, y concluyeron que los controles tenían un número de trabéculas y conectividad más altas que los

pacientes con fracturas de cadera. Sin embargo, no se encontraron diferencias entre los dos grupos en cuanto al grosor trabecular, coincidiendo con nuestro estudio (97). Por último, Liu et al analizaron 21 muestras de hueso de cadáver mediante microTC, análisis topológico digital y modelos de elementos finitos basados en microTC y observaron que la microarquitectura trabecular afectaba al módulo de elasticidad del hueso trabecular (98).

Por lo tanto, de acuerdo con los resultados de nuestro trabajo, así como con otros previamente publicados en la literatura y mencionados anteriormente, podríamos afirmar que la microestructura trabecular afecta en gran medida a las propiedades mecánicas del hueso trabecular, y por tanto podría influir en el desarrollo de una fractura en un hueso con fragilidad ósea.

6.4. DIFRACCIÓN RAYOS X.

En el presente trabajo no hallamos diferencias en cuanto al tamaño de los cristales de HA, ni en el eje C ni en el eje A, entre el grupo de fracturas y el grupo de coxartrosis.

Las características de los cristales de HA del hueso influyen en sus propiedades mecánicas, pudiendo llegar a explicar entre el 6,7 y el 63,5 % de la resistencia ósea (99). No obstante esta relación es aún poco conocida. Los cristales de HA se acoplan de forma paralela a las fibrillas de colágeno tipo I del hueso, aportando dureza y resistencia a estas fibras (Imagen 2) (38,95,96). El

tamaño de los cristales viene determinado por la interacción con el colágeno y otras proteínas no colágenas del hueso como la osteopontina, la osteocalcina y la osteonectina (28). El área de interacción entre la fase mineral y el colágeno viene determinada por el tamaño de los cristales de HA (100). Unos cristales de HA más grandes podrían tener un doble efecto: por un lado, aumentarían la superficie de interacción, disminuyendo la movilidad entre las moléculas de colágeno, y por tanto disminuyendo la ductilidad del hueso y su capacidad de absorber cargas (100). Por otro lado, unos cristales demasiado grandes podrían dañar las fibras colágenas, afectando a sus propiedades mecánicas (37). Se ha demostrado en animales de experimentación que patologías que aumentan el tamaño de los cristales de HA (por ejemplo, monos y ratas ovariectomizados, ratones con raquitismo, ratones sin osteopontina o osteonectina, etc) aumentan la fragilidad ósea (100,101). Sin embargo, también se ha demostrado que aquellas patologías que disminuyen el tamaño del cristal (por ejemplo, ratones hipofosfatémicos, ratones con osteomalacia, ratones con osteopetrosis, ratones sin osteocalcina, etc) también resultan en un hueso menos resistente y más quebradizo (100,101). En condiciones fisiológicas también se ha observado que en animales de experimentación ancianos el tamaño de los cristales era mayor y menos heterogéneo que en animales más jóvenes cuyos huesos eran más resistentes (37). Esta relación entre las propiedades mecánicas y el tamaño de cristal de los materiales policristalinos está bien explicada por el modelo de Hall-Petch que estipula que por encima de un tamaño crítico de cristal existe una correlación inversa entre la resistencia del material y el tamaño del cristal, mientras que cuando el tamaño del cristal cae por debajo del tamaño crítico óptimo esta relación se invierte y pasa a tener una relación directa entre la

resistencia del material y el tamaño del cristal (102). Estos hallazgos, junto con nuestros resultados, nos llevaron a pensar que el tamaño óptimo de cristal en el hueso estará formado por una mezcla heterogénea de cristales pequeños (formados más recientemente), cristales medianos y cristales grandes (más antiguos), que evitarían la propagación de grietas en el hueso, optimizando las propiedades mecánicas del hueso (37,101). Las desviaciones de tamaño por encima y por debajo de este rango óptimo, conllevarían unas propiedades mecánicas inferiores y una fragilidad ósea mayor (38,95–97).

Existen estudios que demuestran que la osteoporosis se asocia con cristales de HA más grandes que aquellos de los sujetos sanos (100,103). El mecanismo exacto de por qué ocurre no es bien conocido. En la osteoporosis postmenopáusica (o tipo I) existe un recambio óseo acelerado junto con un aumento de la actividad osteoclástica (22). Un ritmo excesivo de remodelado óseo implicaría una alteración en la reabsorción del hueso más viejo y con cristales más grandes, así como una formación deficiente de hueso nuevo con cristales más pequeños. Además, la alteración del patrón fibrilar del colágeno del hueso, podría implicar un aumento de cristales extrafibrilares que tienden a ser más grandes que los intrafibrilares (100,103). Por otro lado, en la osteoporosis senil (o tipo II), existe una disminución de la actividad osteoblástica, así como una disminución de la síntesis de proteínas que regulan la mineralización ósea. Ello conllevaría una disminución en la creación de nuevos cristales que tienden a ser más pequeños que los cristales viejos (53,100,103). En la artrosis se produce un aumento del contenido acuoso del cartílago y una densificación del

hueso subcondral, fruto de un remodelado óseo alterado, que conlleva un incremento en la producción de colágeno cuya mineralización es defectuosa (61,63). Esto podría traducirse en un aumento de cristales extrafibrilares, así como una acumulación de cristales más maduros y de mayor tamaño (100). No obstante, no se conocen bien los mecanismos fisiopatológicos por los que los cristales de HA son de mayor tamaño tanto en la osteoporosis como en la artrosis. Quizá esta sea la razón por la cual en nuestro estudio no hemos hallado diferencias significativas entre ambos grupos. Otra razón podría ser que en este proyecto sólo analizamos el hueso trabecular donde el tamaño del cristal podría ser más homogéneo, y que el tamaño del cristal de HA tuviera una influencia más significativa en la resistencia del hueso cortical, donde la porosidad y el volumen total del hueso cortical desempeñan papeles más determinantes (104). Estudios en animales de experimentación han demostrado que el tamaño del cristal cambia en función de su localización en el hueso, variando así las propiedades biomecánicas del mismo. Turunen et al demostraron en ratones de experimentación que el tamaño de cristal era menor en la región central del hueso cortical que en la región endóstica más relacionada y parecida al hueso trabecular (105).

6.5. ANÁLISIS DE ESPECTROSCOPÍA RESONANCIA NUCLEAR MAGNÉTICA EN ESTADO SÓLIDO (RNM-ES).

En este trabajo medimos la concentración de contenido orgánico y mineral del hueso mediante espectrometría de resonancia nuclear magnética en estado

sólido con giro de ángulo mágico (RNM-ES-MAS) y no encontramos diferencias entre los dos grupos estudiados.

La espectrometría mediante RNM-ES es una técnica ampliamente utilizada en investigación básica para el estudio del componente mineral, así como del componente orgánico del hueso (77–79,102,103). Sin embargo su utilidad clínica es muy limitada, existiendo trabajos como el de los de Wu et al en el que visualizan el contenido mineral del radio de 7 voluntarios con un aparato de RNM convencional (72). La concentración relativa de matriz orgánica del hueso en nuestro estudio fue obtenida de forma indirecta a través de la señal de espectrometría recogida a partir de los átomos de H¹ excitados por un pulso único de radiofrecuencia. Dado que los átomos de hidrógeno del agua y la grasa fueron eliminados en el procesado de la muestra, el hidrógeno restante representaba de forma indirecta la cantidad de matriz orgánica de la muestra. Se desconoce cómo afecta la matriz orgánica del hueso a su comportamiento mecánico, pero cada vez hay más pruebas que sugieren que los cambios en el contenido y la estructura de las proteínas juegan un papel importante en los cambios óseos relacionados con la edad y la enfermedad. En particular, se considera que la matriz orgánica es responsable de la ductilidad del hueso y su capacidad para absorber energía antes de la fractura (106). El componente orgánico del hueso se compone en más de un 90 % de colágeno tipo I. Las fibras de colágeno se unen entre sí en una estructura de triple hélice, proporcionando flexibilidad, elasticidad y resistencia a la tensión (imagen 2) (28,107). El colágeno sufre numerosas modificaciones postranslacionales, incluido entrelazado (o

entrecruzamiento) enzimático y no enzimático. El entrelazado enzimático se considera un proceso normal para el colágeno sano y tiene un efecto beneficioso sobre sus propiedades mecánicas, mientras que el entrelazado no enzimático da como resultado una red de colágeno frágil que conduce a propiedades mecánicas óseas deterioradas si su acumulación excede la reparación normal (106).

El entrelazado enzimático está mediado por la enzima lisil oxidasa, que establece puentes intra e interfibrilares gracias a las moléculas piridinolina y desoxipiridinolina. El entrelazado enzimático sufre un proceso de maduración, estableciéndose enlaces trivalentes, más estables e irreductibles que proporcionan mayor rigidez a las fibrillas, más resistencia al tejido óseo e inhiben la remodelación del colágeno (106,108,109). Algunos estudios han demostrado que tanto la piridinolina como la desoxipiridinolina son marcadores de resorción ósea e indicadores del grado de madurez del colágeno (110). Saito et al han demostrado que el número de enlaces cruzados enzimáticos en pacientes osteoporóticos con fracturas de cadera está disminuido en comparación con controles sanos (111).

El entrelazado no enzimático consiste en un proceso de glicación mediado por la molécula glucosil lisina, que establece enlaces cruzados entre las fibras a distintos niveles y no sólo en las zonas terminales como la piridinolina y desoxipiridinolina (entrelazado enzimático). Mediante una serie de reacciones, se producen lo que llamamos productos finales de glicación avanzada (AGE de sus

siglas en inglés), que siguen estableciendo enlaces cruzados entre fibras anómalas (106). Los AGE se acumulan con la edad y algunas enfermedades. Por ejemplo, se ha demostrado que el hueso osteoporótico tiene significativamente más AGE que el hueso sano normal y por tanto el aumento de los niveles de AGE puede provocar la fragilidad de los tejidos sometidos a glicación no enzimática (106,110,111). Existen estudios que demuestran niveles de glicación mayores en especímenes con fractura de cadera que en controles sanos y que la glicación influye en las propiedades biomecánicas del hueso trabecular, pero no en el hueso cortical (110,111).

Por último, existen un 10 % de la matriz orgánica constituido por proteínas no colágenas, que también influyen en las propiedades biomecánicas del hueso y su resistencia (106). Ejemplo de ello son las proteínas osteopontina y osteocalcina que participan en la mineralización y modulan la resorción ósea. Se ha demostrado que los niveles séricos de osteocalcina y osteopontina en mujeres con osteoporosis son mayores que en mujeres sanas (114,115).

Por tanto, aunque la osteoporosis se define generalmente como una pérdida de masa ósea, hay cambios considerables en la matriz orgánica, particularmente en los enlaces cruzados de colágeno, que provocan una pérdida de la calidad del hueso (106).

Las diferencias descritas entre el hueso osteoporótico y el hueso normal corresponden a variaciones cualitativas. En nuestro estudio, analizamos la composición desde un punto de vista cuantitativo. Quizá por ello no encontramos diferencias entre ambos grupos. También pudo influir que el grupo control estaba formado por pacientes con artrosis y no pacientes sanos como los referidos anteriormente.

En cuanto al componente mineral del hueso, en este proyecto se estudió desde un punto de vista cuantitativo mediante el análisis espectroscópico de los iones de ^{31}P de los grupos fosfatos que forman los cristales de hidroxapatita del hueso. Estos átomos fueron excitados mediante diferentes pulsos de radiofrecuencia, con el objetivo de obtener una información más detallada del componente inorgánico del hueso que componía las muestras.

Por un lado se obtuvo la concentración relativa de los iones ^{31}P total, que arroja una medición indirecta de la proporción del componente inorgánico del hueso en su conjunto, y por tanto del grado de mineralización del tejido óseo. No encontramos diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de fracturas de cadera y el grupo de artrosis de cadera. Los datos publicados hasta ahora son contradictorios. Loveridge et al concluyeron en un estudio con un bajo número de pacientes (7 pacientes con fractura de cadera y 9 controles) que en los pacientes con fractura intracapsular de cadera la mineralización del cuello femoral era inferior a los controles, tanto a nivel cortical como a nivel trabecular (116). En cambio, Wu et al analizaron el grado de mineralización del hueso

cortical de la cabeza del fémur en 23 mujeres con fractura de cadera y lo compararon con 14 mujeres sin fractura (donantes cadáveres) y hallaron que el grado de mineralización era superior en el grupo de fracturas respecto a los controles, por lo que concluyeron que un mayor grado de mineralización podría favorecer la aparición de fracturas de cadera de perfil osteoporótico (117). No obstante, en ambos estudios el grupo control estaba compuesto por pacientes sin patología de cadera subyacente, mientras que en nuestro estudio el grupo control lo conformaban pacientes con osteoartritis de cadera, motivo por el cual podríamos no haber hallado diferencias estadísticamente significativas. Acorde a nuestros resultados, en un estudio de Carpentier et al, en el que se estudió un grupo de 14 fracturas de cadera, 15 coxartrosis y 16 controles se concluyó que no hubo diferencias estadísticamente significativas en cuanto a grado de mineralización entre los 3 grupos. Sin embargo, sí que encontraron mayor porcentaje de lagunas osteocitarias hipermineralizadas en el grupo de fracturas y osteoartrosis de cadera en comparación con los controles (118).

Por otro lado, hallamos las concentraciones relativas de grupos fosfatos con protón desacoplado (PO_4^{3-}) y grupos fosfatos protonados (HPO_4^{2-}). Los primeros tienden a hallarse en capas más internas de los cristales donde el ambiente es más estable, mientras que los segundos se encuentran en capas superficiales en un ambiente más lábil en íntima relación con el componente proteico y el agua libre en el hueso, y es a este nivel dónde se producen fundamentalmente la unión de los cristales de hidroxiapatita a las fibras de colágeno (73,75). Por tanto, estos datos aportan información cuantitativa de la

fracción inorgánica del hueso y cualitativa del comportamiento de dicha fracción y de la interfaz orgánico-mineral. En la bibliografía no existen estudios similares al nuestro que estudien la relación de los cristales de hidroxiapatita con las proteínas del hueso en pacientes con osteoporosis y artrosis de cadera utilizando la MAS-RNM. No obstante, sabemos que existe una disminución tanto en el número como en la función osteoblástica en la osteoporosis tipo II y, dado que el osteoblasto es el principal productor de proteínas óseas (51), cabría esperar una disminución de la unión de cristales de hidroxiapatita a la matriz orgánica del hueso, por tanto menor concentración relativa de grupos fosfatos protonizados. Sin embargo, en la artrosis existe un aumento de la actividad osteoblástica, con un aumento de la síntesis de colágeno, pero cuya mineralización es defectuosa (61,63). En nuestro estudio no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, debido quizá en parte a que ambos grupos pudieran tener alterada la capacidad de unión a proteínas de los cristales de hidroxiapatita.

6.6. CORRELACIÓN ENTRE DMO Y RESTO DE PARÁMETROS ESTRUCTURALES DEL HUESO.

La DMO es el principal parámetro para definir el término osteoporosis, y el más usado en la práctica clínica para estratificar el riesgo de sufrir una fractura por fragilidad (2,55). Por ello, dentro de los objetivos de este proyecto se encuentra discernir de qué manera influyen los parámetros estructurales estudiados en la DMO, y si existe alguna diferencia entre los grupos de estudio.

Son escasos los estudios que, como el nuestro, relacionan la DMO con aspectos micro y nanoestructurales del hueso.

Cuando se tuvo en cuenta el conjunto de pacientes de nuestro estudio, se encontró relación entre la DMO y el volumen óseo, el número de trabéculas, el grosor de las trabéculas y la separación trabecular. Estos resultados coinciden con el trabajo publicado por Montoya et al, en el que analizan la microestructura ósea de cabezas femorales mediante MicroTC de 12 pacientes con fractura subcapital de cadera y 13 pacientes con coxartrosis (91).

Cuando analizamos por grupos la relación entre DMO y el resto de parámetros estructurales, los resultados fueron diferentes en ambos grupos. En el grupo de fracturas de cadera, la DMO no se relacionó con ningún parámetro estructural estudiado mediante microTC, difracción de rayos X ni MAS-RNM. Estos hallazgos son similares a los publicados por Peng et al, en el que estudiaron 16 pacientes con fractura de cadera y lo compararon con 5 controles de jóvenes sanos, y tampoco encontraron relación entre la DMO y el resto de parámetros estructurales en el grupo de fractura de cadera (119). Sin embargo, en el grupo de artrosis de cadera sí que encontramos una relación entre la DMO y el volumen óseo, número de trabéculas y separación trabecular. Estos hallazgos nos hacen pensar que mientras que la DXA es un método diagnóstico útil para estimar otros parámetros estructurales del hueso en pacientes con DMO alta, no sería útil en pacientes con DMO bajas. Por tanto, pacientes con DMO bajas, podrían tener diferencias microestructurales significativas. Este hecho

podría explicar porqué el valor predictivo de la DXA para las fracturas desciende progresivamente tanto con la edad como con la DMO (85,120,121).

Por otro lado, encontramos una relación inversa entre la cantidad de matriz orgánica ósea (medida mediante ^1H) en el grupo de coxartrosis y la DMO. No hemos encontrado estudios que correlacionen la DMO con la cantidad de matriz orgánica del hueso. No obstante, es conocido que en la coxartrosis se producen una serie de alteraciones físicas y bioquímicas que conducen al daño del cartílago articular, y que a nivel del hueso subcondral se produce un aumento de la producción de colágeno pobremente mineralizado, con el consecuente acúmulo de material osteoide a nivel subcondral (122,123). Esta relación inversa entre la DMO y la matriz orgánica del hueso es una clara confirmación de la conocida desmineralización relativa que ocurre en la artrosis (124). Sin embargo, esta correlación no se dio en el grupo de las fracturas de cadera, dado que este fenómeno no se produce generalmente en las fracturas en hueso osteoporótico.

6.7. CORRELACIÓN ENTRE EDAD Y RESTO DE PARÁMETROS ESTRUCTURALES DEL HUESO.

La edad es una variable de riesgo independiente para sufrir una fractura, sin que influya en ello la DMO (121,125). Por tanto, en este proyecto fijamos como objetivo discernir qué cambios estructurales se producían en el hueso trabecular de la cabeza del fémur en ambos grupos de estudio.

En este proyecto hallamos una correlación negativa entre la edad y la cantidad de matriz orgánica en el hueso trabecular de la cabeza del fémur en el grupo de fracturas de cadera. El hueso está sometido a un continuo remodelado en el que se reabsorbe matriz ósea por los osteoclastos y de nuevo se forma nueva matriz por los osteoblastos (101,126). Con la edad el balance formación/reabsorción ósea se vuelve negativo. Los estudios demuestran que existe un deterioro de la cantidad y la calidad ósea resultado de una disminución de la formación ósea debido a una reducción de la diferenciación de células mesenquimales progenitoras de osteoblastos, así como un descenso de la función osteoblástica (127). Este descenso en la actividad osteoblástica asociado a la edad podría justificar en parte nuestros hallazgos, ya que el osteoblasto es el principal productor de matriz orgánica del hueso (30). En cuanto al componente inorgánico del hueso, no observamos variación asociada a la edad en el grupo de fracturas de cadera. Por tanto, podríamos afirmar que existe un aumento de la mineralización relativa del hueso trabecular asociado a la edad en pacientes con fractura de cadera, dado que mientras que la fracción orgánica del hueso fue disminuyendo con la edad, la fracción inorgánica permaneció constante. Estos resultados concuerdan con los publicados por Busse et al, en el que estudian desde el punto de vista histomorfométrico la distribución de osteocitos en el hueso de 32 pacientes (16 hombres y 16 mujeres) en 4 grupos de edad (<39, 40-59, 60-79 y > 80) así como el contenido mineral del mismo, y encuentran que existe un aumento significativo de lagunas osteocitarias hipermineralizadas asociado a la edad, y que esto podría ser el

responsable en parte de que el hueso añoso sea más quebradizo y susceptible a romperse que el hueso joven (128). Este aumento de mineralización, junto con un incremento de porosidad se ha demostrado que hace al hueso menos resistente a la absorción de impactos y más propenso a desarrollar una fractura (54).

Contrariamente a lo que esperábamos encontrar, el resto de parámetros estudiados no cambiaron de forma significativa con la edad en el grupo de fracturas de cadera. Se sabe que, con la edad, se produce una pérdida importante de hueso cortical y hueso trabecular, que altera la estructura del hueso y que lo conducen a una mayor fragilidad (129). Chen et al, en un artículo de revisión describen cómo se produce un deterioro en la microestructura del hueso trabecular asociado a la edad que consiste en una pérdida de volumen óseo causado principalmente por una disminución del número y grosor trabecular así como un aumento de la separación entre trabéculas (130). Se estima que el volumen óseo puede disminuir entre un 18-22 % desde los 60 a los 90 años, sobretodo en mujeres (130,131). Estos resultados hacen referencia a una población general con un rango de edad amplio y un tamaño muestral relativamente alto. Sin embargo, las diferencias entre los datos publicados y nuestro estudio podrían explicarse porque nuestro estudio tenía un tamaño muestral más pequeño y porque nuestra muestra no representa a la población general si no que fue extraída de individuos que sufrieron una fractura del cuello femoral, y por tanto se le supone un deterioro tal de la microestructura que

justifica el desarrollo del evento fatal que es la fractura y que difícilmente empeoraría con la edad.

Del mismo modo, la DMO tampoco se modificó de forma significativa en nuestro estudio en el grupo de las fracturas de cadera, a pesar de que es sabido que la DMO disminuye con la edad, sobre todo en las mujeres (9,51,55,130). Los estudios que se mencionan hacen referencia a una población general, mientras que nuestro trabajo se centró en pacientes ancianos que sufrieron una fractura de cadera. Pensamos que la DMO en nuestras muestras debió descender a un punto crítico que permitiera la aparición de la fractura, y por tanto, no cabe esperar un descenso significativo a pesar de la edad. No obstante, se sabe que la edad es un factor de riesgo para el desarrollo de la fractura más importante que la DMO (77,121). Un reciente estudio ha demostrado cómo el deterioro de la microarquitectura ósea que se produce asociado a la edad, es independiente de la DMO (132). Esto podría explicar en parte por qué el valor predictivo de fractura de la densitometría desciende con la edad, y por tanto puede ser un método diagnóstico más útil en pacientes relativamente jóvenes que en los ancianos (85,86). Por tanto, en pacientes ancianos, tiene más importancia la historia previa de fracturas, el riesgo de caída, el deterioro de la microarquitectura, la sarcopenia y otros factores de riesgo que la DMO (133).

Finalmente, en nuestro estudio no encontramos cambios significativos asociados a la edad en el grupo de coxartrosis. Estos hallazgos concuerdan con los publicados recientemente por Naot et al, que estudiaron mediante MicroTC y

expresión génica las cabezas femorales de 35 pacientes que se sometieron a una artroplastia como consecuencia de una coxartrosis avanzada, 17 menores de 60 años y 18 mayores de 70 años. Estos autores concluyeron que no existían diferencias dependientes de la edad en cuanto a la microarquitectura ósea, trabecular o cortical entre el grupo de pacientes más jóvenes (<60 años) y el grupo de los más ancianos (>70 años) (126). En la misma línea, Perilli et al sugieren que la coxartrosis tiene un papel protector contra el descenso de la DMO asociado a la edad, el deterioro de la microarquitectura asociado a la edad y el descenso en la resistencia a la fractura asociado a la edad en el hueso trabecular de la cabeza femoral en humanos (134).

6.8. CORRELACIÓN ENTRE TAMAÑO DEL CRISTAL Y GRUPOS

HPO₄⁻²

Uno de los hallazgos inesperados de este proyecto tesis fue encontrar una correlación inversa moderada entre la longitud del eje a de los cristales de HA y la intensidad de espectroscopia de iones ³¹P mediante MAS RNM con polarización cruzada. Esto significa que cuanto mayor es la concentración de grupos fosfatos protonizados (HPO₄⁻²) menor es el grosor del cristal de hidroxiapatita en su eje corto (eje a). Recordemos que los grupos HPO₄⁻² se sitúan en las capas más superficiales de los cristales de HA, y por tanto en ambientes más lábiles en contacto con las proteínas de la matriz orgánica del hueso y el agua libre (73,75). Por tanto el grosor de los cristales en el grupo de artrosis de cadera está condicionado, al menos en parte por la interacción de los grupos fosfatos de los cristales de HA con las proteínas del hueso. Esto

concuera con estudios previos en los que se demuestra que los cristales de HA en el hueso se encuentra entre las fibrillas de colágeno, de tal manera que la estructura y organización del colágeno limita el tamaño del cristal y controla su orientación (100). Por el contrario, cuando los cristales de HA se forman y crecen de forma extrafibrilar en el osteoide y no adheridos a las fibras de colágeno, tienden a ser más grandes (100). El tamaño y forma de los cristales de HA no sólo depende de las fibras de colágeno. Tanto la osteopontina como la osteocalcina son dos proteínas no colágenas muy importantes para controlar tanto el crecimiento, como la forma y orientación de los cristales de HA. Ambas actúan de manera codependiente en la mineralización ósea, aunque desempeñan funciones distintas en dicho proceso: la OC sería más dominante en la regulación de las propiedades físicas del componente mineral del hueso, mientras la OPN es más dominante en la regulación de la composición mineral del mismo (135).

En el grupo de las fracturas no observamos relación alguna entre el tamaño del cristal y los grupos HPO_4^{2-} . Esto podría traducir una alteración de la relación orgánico-mineral en el hueso que justificara por qué en la osteoporosis, el tamaño de los cristales de HA está aumentado (100)

6.9. FORTALEZAS Y LIMITACIONES.

Este proyecto ayuda en el conocimiento sobre la estructura del hueso trabecular del fémur proximal a distinta escala, aportando datos que engloban

desde la densidad, la microarquitectura, el tamaño del cristal y la composición minero-orgánica ósea. El número de pacientes es relativamente alto comparado con otros estudios similares.

Se trata del primer trabajo que utiliza la RNM-ES-MAS para el estudio de la matriz orgánica y mineral del hueso trabecular en humanos, hallando resultados importantes como la relación inversa entre DMO y concentración proteica del hueso, a expensas fundamentalmente de pacientes con artrosis de cadera que avalarían un aumento de la producción de material osteoide pobremente mineralizado como principal mecanismo fisiopatológico de la artrosis. También, la RNM-ES-MAS nos ha permitido demostrar una disminución del contenido proteico del hueso asociado a la edad en pacientes con fractura de cadera, que podría traducir una disminución tanto en el número como en la función osteoblástica, base de la fisiopatogenia de la osteoporosis senil o tipo II. Esta disminución de la cantidad de proteínas en el hueso podría ser responsable en parte de porqué el hueso se vuelve más frágil con la edad.

Este estudio es el primero en demostrar que no existen diferencias en cuanto al tamaño del cristal de HA del hueso trabecular entre pacientes con artrosis y pacientes con fractura de cadera. También es el primero en relacionar el tamaño del cristal con la unión a proteínas utilizando DRX y RNM-ES-MAS, y se ha demostrado que en los pacientes con artrosis el tamaño del cristal es mayor cuanto menor es su interacción con proteínas.

Además, este estudio enfatiza las limitaciones de la DXA en pacientes con baja densidad mineral ósea y en pacientes con edad avanzada.

Este trabajo presenta limitaciones importantes. En primer lugar es que el análisis se limita exclusivamente al hueso trabecular, por tanto se obvia el hueso cortical, que aunque es minoritario a nivel de la porción proximal del fémur, también es importante para su comportamiento mecánico. Además, no hemos analizado el comportamiento mecánico de las muestras, lo cual nos hubiera aportado información muy importante sobre la relación entre las características estructurales estudiadas y la resistencia ósea.

Otra limitación importante ha sido que el grupo control estaba formado por pacientes con artrosis de cadera y no con pacientes sin patología subyacente. Existen otros estudios publicados en los que se comparan datos microestructurales, biomecánicos y bioquímicos entre pacientes con fractura de cadera y coxartrosis (91). Conformar un grupo control con personas sanas sin patología en la cadera dificultaría en gran medida la obtención de la muestra, que sólo podría extraerse de cadáver donante y conllevaría conflictos deontológicos que no existen obteniendo las muestras de cabezas femorales desechadas durante una artroplastia de cadera. Además, esto imposibilitaría obtener un tamaño muestral suficiente, como el que presentamos en este estudio, que permitiese sacar conclusiones. Ejemplo de ello es el trabajo de Li y

Apsden et al. comparan la composición del hueso trabecular en 17 pacientes con fractura de cadera, 16 pacientes con coxartrosis y tan sólo 7 pacientes sin patología ósea conocida, que constituyó el grupo control (136). No obstante, hemos intentado obviar las posibles alteraciones que se producen en la cabeza femoral de pacientes con artrosis situando la región de interés al menos 1 cm distal a la superficie articular, y obviando zonas quísticas, en el caso de la DMO y MicroTC, y obteniendo las muestras para DRX y RNM-ES de la región distal de la muestra, es decir al 2 cm de la superficie articular.

Por último, otra limitación importante fue la diferencia de edad entre ambos grupos. La edad pudo actuar como un factor de confusión independiente en el presente estudio. Para intentar minimizar en lo posible la edad como factor de confusión, nuestros resultados fueron ajustados a edad y CCI utilizando análisis de regresión lineal y análisis de la varianza multivariantes.

7.CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES.

1. Los pacientes con fractura de cadera tienen menor densidad mineral ósea que los pacientes con artrosis de cadera.
2. Los pacientes con fractura de cadera presentan un deterioro de la microarquitectura trabecular ósea que consiste en un menor volumen óseo, menor número de trabéculas y una mayor separación trabecular respecto al grupo con artrosis de cadera.
3. Sin embargo, el tamaño de los cristales no difiere de forma significativa entre los pacientes con fractura y los pacientes con artrosis de cadera.
4. No existen diferencias significativas en cuanto a la concentración relativa del componente mineral del hueso trabecular entre los pacientes con fractura y los pacientes con artrosis de cadera.
5. En los pacientes con artrosis de cadera, el grosor de los cristales de hidroxiapatita está definido en parte por la concentración relativa de los grupos fosfatos que se encuentran en las capas más superficiales de dicho cristal y por tanto con mayor interacción con las proteínas del hueso. En cambio este hecho no se da en los pacientes con fracturas de cadera.

6. No existen diferencias significativas en cuanto a la concentración relativa de proteínas del hueso trabecular entre los pacientes con fractura y los pacientes con artrosis de cadera.

7. En los pacientes con fractura de cadera se produce una disminución en la concentración relativa de proteínas del hueso asociada a la edad, cosa que no sucede en el grupo de coxartrosis. El resto de los parámetros estructurales estudiados no sufrieron variaciones significativas asociadas a la edad. Por tanto, podríamos afirmar que existe una hipermineralización relativa del hueso trabecular asociada a la edad en el grupo de fracturas de cadera, al disminuir el componente orgánico y permanecer constante el componente mineral.

8. La relación entre la DMO y el resto de parámetros estructurales estudiados es diferente en los pacientes con fractura de cadera que en los pacientes con coxartrosis. En los pacientes con fractura de cadera la DMO no se correlacionó con los parámetros estructurales estudiados. En cambio, en los pacientes con artrosis de cadera la DMO aumentaba cuando aumentaban el volumen óseo y el número de trabéculas, y disminuía cuando aumentaba la separación trabecular y la concentración relativa de proteínas.

8. PERSPECTIVA CLÍNICA Y NUEVAS HIPÓTESIS.

8. PERSPECTIVA CLÍNICA Y NUEVAS HIPÓTESIS.

Tras todo lo expresado en el presente trabajo, creemos que deberían considerarse nuevos planteamientos encaminados a reducir el riesgo de fractura por fragilidad siguiendo las siguientes pautas.

1. La DXA es una herramienta diagnóstica que tiene mayor utilidad en pacientes relativamente jóvenes y sin antecedentes de fractura. En estos pacientes existe relación entre la DMO y microarquitectura ósea, sin embargo en pacientes ancianos y con antecedentes de fractura no existe relación entre DMO y las características estructurales del hueso. No obstante, la DXA no arroja datos sobre calidad ósea, que como hemos demostrado en este trabajo, se encuentra deteriorada en el hueso fracturado. Por tanto consideramos que deberían implementarse en la práctica clínica herramientas diagnósticas que valoren también la calidad ósea.
2. Los aportes aislados de calcio y vitamina D, así como de proteínas deberían pautarse en casos de déficit nutricional demostrados de los mismos, dado que en este proyecto se ha demostrado que la mineralización y la concentración de proteínas en el hueso no varía entre el grupo de fracturas y el grupo control. Es habitual en la práctica clínica pautar suplementos de calcio y vitamina D como primera medida en el

tratamiento de la osteoporosis, sin que ello implique una mayor densidad ni mineralización ósea.

3. El tratamiento con antiresortivos como los bifosfonatos y el Denosumab tendrían utilidad en pacientes relativamente jóvenes y en estados en los que haya una hiperactividad osteoclástica, como puede ser en el periodo perimenopáusico. En pacientes mayores o con antecedentes de fractura consideramos que no tendrían tanta utilidad, pues no aumentarían la DMO ni mejorarían la microarquitectura ósea, que como hemos demostrado en el presente trabajo, son las alteraciones estructurales más importantes del hueso fracturado.

4. En pacientes mayores y/o con antecedentes de fractura osteoporótica el tratamiento ha de restaurar la microarquitectura ósea y con ello la DMO. Para ello, se hace necesario el desarrollo de fármacos cuya diana terapéutica sea implementar el número y la función de los osteoblastos que son las células formadoras de hueso. Esto, junto a los estímulos mecánicos transmitidos por el osteocito, recompondrían al menos en parte la microarquitectura ósea y con ello la DMO y reducirían el riesgo de fractura ante una caída.

9. BIBLIOGRAFÍA

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Leslie WD, Aubry-Rozier B, Lix LM, Morin SN, Majumdar SR, Hans D. Original Full Length Article: Spine bone texture assessed by trabecular bone score (TBS) predicts osteoporotic fractures in men: The Manitoba Bone Density Program. *Bone*. 2014 Oct;67:10.
2. Watts NB, Bilezikian JP, Camacho PM, Greenspan SL, Harris ST, Hodgson SF, et al. American Association Of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines For Clinical Practice For The Diagnosis And Treatment Of Postmenopausal Osteoporosis: Executive Summary Of Recommendations. *Endocr Pract Off J Am Coll Endocrinol Am Assoc Clin Endocrinol*. 2010;16(6):1016–9.
3. Watts N. Osteoporosis in Men. *Endocr Pract*. 2013 Jun 11;19(5):834–8.
4. Panneman MJM, Lips P, Sen SS, Herings RMC. Undertreatment with anti-osteoporotic drugs after hospitalization for fracture. *Osteoporos Int*. 2004 Feb 1;15(2):120–4.
5. Hooven F, Gehlbach SH, Pekow P, Bertone E, Benjamin E. Follow-up treatment for osteoporosis after fracture. *Osteoporos Int*. 2005 Mar;16(3):296–301.
6. Teng GG, Curtis JR, Saag KG. Quality health care gaps in osteoporosis: how can patients, providers, and the health system do a better job? *Curr Osteoporos Rep*. 2009;7(1):27–34.
7. Watts NB. Insights from the Global Longitudinal Study of Osteoporosis in Women (GLOW). *Nat Rev Endocrinol*. 2014 Apr 22;10(7):412–22.
8. Etxebarria-Foronda I, Caeiro-Rey JR, Larrainzar-Garijo R, Vaquero-Cervino E, Roca-Ruiz L, Mesa-Ramos M, et al. Guía SECOT-GEIOS en osteoporosis y fractura por fragilidad. Actualización. *Rev Esp Cir Ortopédica Traumatol*. 2015 Nov;59(6):373–93.
9. Chun KJ. Bone Densitometry. *Semin Nucl Med*. 2011 May;41(3):220–8.
10. Yu EW. Screening for osteoporosis in postmenopausal women and men. En: *UpToDate*, Post TW (Ed), *UpToDate*, Waltham, MA. (Accedido el 20 de Marzo de 2020).
11. Egsmose EL, Birkvig M, Buhl T, Madsen OR. FRAX fracture risk in women with a recent fracture of the distal forearm: agreement between assessments with and without bone mineral density and impact of measurement side in the

individual patient. *Clin Rheumatol*. 2015;34(7):1265–72.

12. Watts NB. Bone quality: getting closer to a definition. *J Bone Miner Res*. 2002;17(7):1148–1150.

13. Lewiecki EM. Overview of dual-energy x-ray absorptiometry En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Accedido el 23 de Marzo de 2020).

14. Small RE. Uses and Limitations of Bone Mineral Density Measurements in the Management of Osteoporosis. *Medscape Gen Med*. 2005;7(2):3–3.

15. Theodorou DJ, Theodorou SJ. Dual-energy X-ray absorptiometry in clinical practice: application and interpretation of scans beyond the numbers. *Clin Imaging*. 2002;26(1):43–49.

16. Jacobson JA, Jamadar DA, Hayes CW. Dual X-Ray Absorptiometry. *Am J Roentgenol*. 2000 Jun 1;174(6):1699–705.

17. Manolagas SC. Normal skeletal development and regulation of bone formation and resorption. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Accedido el 5 de Marzo de 2017).

18. Clarke B. Normal Bone Anatomy and Physiology. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2008 Nov;3(Suppl 3):S131–9.

19. Brinker MR, O'Connor DP. Capítulo 1: Ciencias básicas. Sección 1: Hueso. En: Miller MD. *Ortopedia y Traumatología Revisión Sistemática*. 5ª Edición. Elsevier. 2009.

20. Manolagas SC. Normal skeletal development and regulation of bone formation and resorption. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Accedido el 5 de Marzo de 2020).

21. Buck DW, Dumanian GA. Bone Biology and Physiology: Part I. The Fundamentals. *Plast Reconstr Surg*. 2012 Jun;129(6):1314–20.

22. Coloma JL, Ros C, Castelo-Branco C. Osteoporosis. *Fisiología y Patología*. *Rev Fed Centroam Obstet Ginecol*. 2018;2009(14).

23. Polkowski GG, Clohisy JC. Hip biomechanics. *Sports Med Arthrosc Rev*. 2010;18(2):56–62.

24. Koval K, Zuckerman J. Chapter 1: Anatomy. En: *Hip Fractures: A Practical Guide to Management*. 1st edition. New York. Springer. 2000.

25. Patel SH, Murphy KP. Fractures of the proximal femur: correlates of radiological evidence of osteoporosis. *Skeletal Radiol*. 2006 Apr 1;35(4):202–11.

26. Singh M, Nagrath A, Maini P. Changes in Trabecular Pattern of the Upper

End of the Femur as an Index of Osteoporosis. *J Bone Jt Surg.* 1970 Apr;52(3):457–67.

27. Zamarripa RM, Rodriguera JJV, Taylor JL, Ulloa EJ, Muñoz IC. Índice de Singh y morfológico-cortical en población adulta aparentemente sana, en deportistas y en individuos sedentarios. *Acta Ortopédica Mex.* 2001;15(4):186–188.

28. Safadi FF, Barbe MF, Abdelmagid SM, Rico MC, Aswad RA, Litvin J et al. Chapter 1: Bone Structure, Development and Bone Biology. En: Khurana JS. *Bone Pathology.* 2nd Edition. Humana Press. 2009.

29. McClung MR, Grauer A, Boonen S, Bolognese MA, Brown JP, Diez-Perez A, et al. Romosozumab in Postmenopausal Women with Low Bone Mineral Density. *N Engl J Med.* 2014 Jan 30;370(5):412–20.

30. Calleja-Canelas A, Varo-Cenarruzabeitia N, Pascual-Corrales E. Capítulo 2: Fisiología del hueso y marcadores bioquímicos del recambio óseo. En: Gómez Sáez JM. *El hueso en las enfermedades endocrinas y nutricionales.* Madrid Elsevier; 2014. p. 19–42.

31. Bilezikian JP, Matsumoto T, Bellido T, Khosla S, Martin J, Recker RR, et al. Targeting Bone Remodeling for the Treatment of Osteoporosis: Summary of the Proceedings of an ASBMR Workshop. *J Bone Miner Res.* 2009;24(3):373–85.

32. Eimar H, Tamimi I, Murshed M, Tamimi F. Cholinergic regulation of bone. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2013;13(2):124–132.

33. Tamimi I, Ojea T, Sanchez-Siles JM, Rojas F, Martin I, Gormaz I, et al. Acetylcholinesterase inhibitors and the risk of hip fracture in Alzheimer's disease patients: A case-control study. *J Bone Miner Res.* 2012 Jul;27(7):1518–27.

34. Syahrom A, Januddi MA-F bin MS, Harun MN, Öchsner A. Chapter 2: Cancellous bone. En: *Cancellous Bone: Mechanical Characterization and Finite Element Simulation.* Singapore. Springer. 2018.

35. Bouxsein ML. Determinants of skeletal fragility. *Osteoporosis.* 2005 Diciembre;19(6):897–911.

36. Ammann P, Rizzoli R. Bone strength and its determinants. *Osteoporos Int.* 2003;14(3):13–8.

37. Fonseca H, Moreira-Gonçalves D, Coriolano H-JA, Duarte JA. Bone Quality: The Determinants of Bone Strength and Fragility. *Sports Med.* 2014;44(1):37–53.

38. Watts NB, Ettinger B, LeBoff MS. FRAX Facts. *J Bone Miner Res.* 2009 Jun;24(6):975–9.

39. Hernlund E, Svedbom A, Ivergård M, Compston J, Cooper C, Stenmark J, et al. Osteoporosis in the European Union: medical management, epidemiology and economic burden: A report prepared in collaboration with the International Osteoporosis Foundation (IOF) and the European Federation of Pharmaceutical Industry Associations (EFPIA). *Arch Osteoporos*. 2013 Dec; 8(1–2).
40. Xie Z, Burge R, Yang Y, Du F, Lu T, Huang Q, et al. Posthospital Discharge Medical Care Costs and Family Burden Associated with Osteoporotic Fracture Patients in China from 2011 to 2013. *J Osteoporos*. 2015;2015:1–6.
41. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 1994;843:1–129.
42. Golob AL, Laya MB. Osteoporosis: Screening, Prevention, and Management. *Med Clin North Am*. 2015 May 1;99(3):587–606.
43. Yu EW. Screening for osteoporosis in postmenopausal women and men. En: *UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA*. (Accedido el 11 noviembre 2021).
44. Gourlay ML, Overman RA, Ensrud KE. Bone Density Screening and Re-screening in Postmenopausal Women and Older Men. *Curr Osteoporos Rep*. 2015 Dec;13(6):390–8.
45. Kanis JA, Cooper C, Rizzoli R, Reginster J-Y. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int*. 2019 Jan 18;30(1):3–44. On behalf of the Scientific Advisory Board of the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis (ESCEO) and the Committees of Scientific Advisors and National Societies of the International Osteoporosis Foundation (IOF).
46. Licata AA. Bone density, bone quality, and FRAX: changing concepts in osteoporosis management. *Am J Obstet Gynecol*. 2013 Feb;208(2):92–6.
47. Robertson MC, Campbell AJ, Gardner MM, Devlin N. Preventing injuries in older people by preventing falls: A meta-analysis of individual-level data. *J Am Geriatr Soc*. 2002;50(5):905–911.
48. Hopewell S, Adedire O, Copsey BJ, Boniface GJ, Sherrington C, Clemson L et al. Multifactorial and multiple component interventions for preventing falls in older people living in the community. *Cochrane Bone. Joint and Muscle Trauma Group, editor. Cochrane Database Syst Rev*. 2018 Jul, 23.
49. Armas LAG, Recker RR. Pathophysiology of Osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2012 Sep;41(3):475–86.
50. Vázquez Gámez MA, Montoya García MJ, Gómez de Tejada Romero MJ,

Moruno García R, Carrillo Vico A, Guerrero Montávez JM, et al. Niveles séricos de osteoprotegerina en mujeres sanas y osteoporóticas. REEMO. 2003 May 1;12(3):63–7.

51. Khosla S. Pathogenesis of Age-Related Bone Loss in Humans. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2013 Oct 1;68(10):1226–35.

52. Zhou S, Greenberger JS, Epperly MW, Goff JP, Adler C, LeBoff MS, et al. Age-related intrinsic changes in human bone-marrow-derived mesenchymal stem cells and their differentiation to osteoblasts. *Aging Cell*. 2008 Jun;7(3):335–43.

53. Lozano JA. Osteoporosis. *Offarm*. 2006 Oct 1;25(9):62–8.

54. Guerado E, Cruz E, Cano JR, Crespo PV, Alaminos M, del Carmen Sánchez-Quevedo M, et al. Bone mineral density aspects in the femoral neck of hip fracture patients. *Injury*. 2016;47:S21–S24.

55. Hernlund E, Svedbom A, Ivergård M, Compston J, Cooper C, Stenmark J, et al. Osteoporosis in the European Union: medical management, epidemiology and economic burden: A report prepared in collaboration with the International Osteoporosis Foundation (IOF) and the European Federation of Pharmaceutical Industry Associations (EFPIA). *Arch Osteoporos*. 2013 Dec.

56. Tosteson ANA, Gottlieb DJ, Radley DC, Fisher ES, Melton LJ. Excess mortality following hip fracture: the role of underlying health status. *Osteoporos Int*. 2007 Nov;18(11):1463–72.

57. Veronese N, Maggi S. Epidemiology and social costs of hip fracture. *Injury*. 2018 Aug;49(8):1458–60.

58. Blomberg J. Femoral Neck Fractures. [Internet]. Disponible en: <https://www.orthobullets.com/trauma/1037/femoral-neck-fractures>

59. Kraus VB, Blanco FJ, Englund M, Karsdal MA, Lohmander LS. Call for standardized definitions of osteoarthritis and risk stratification for clinical trials and clinical use. *Osteoarthritis Cartilage*. 2015 Aug;23(8):1233–41.

60. Aresti N, Kassam J, Nicholas N, Achan P. Hip osteoarthritis. *BMJ*. 2016 Jul 6;i3405.

61. Loeser RF. Pathogenesis of osteoarthritis. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Accedido el 10 de Junio de 2020).

62. Watts E, Patel S, Incavo S. Hip Osteoarthritis. *Orthobullets*. [Internet]. Disponible en: <https://www.orthobullets.com/recon/5005/hip-osteoarthritis>.

63. Kapoor M. Chapter 1: Pathogenesis of Osteoarthritis. Kapoor M, Mahomed NN, editors. *Osteoarthritis: Pathogenesis, Diagnosis*, Available

Treatment, Drug Safety, Regenerative and Precision Medicine. 1st Edition. Adis. 2015.

64. D'Hoore W, Sicotte C, Tilquin C. Risk Adjustment in Outcome Assessment: the Charlson Comorbidity Index. *Methods Inf Med*. 1993;32(5):382–7.

65. Ghadimi E, Eimar H, Marelli B, Nazhat SN, Asgharian M, Vali H, et al. Trace elements can influence the physical properties of tooth enamel. *SpringerPlus*. 2013;2(1):499.

66. Marinozzi F, Bini F, Marinozzi A, Zuppante F, De Paolis A, Pecci R, et al. Technique for bone volume measurement from human femur head samples by classification of micro-CT image histograms. *Ann Ist Super Sanita*. 2013;49(3):300–305.

67. Lewiecki EM. Overview of dual-energy x-ray absorptiometry. En: *UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Accedido el 12 de Septiembre de 2020).*

68. Jackman TM, McDonald G, Morgan EF. 25. Micro-Computed Tomography Imaging of Bone Tissue. Simpson AHRW, Augat P, editors. *Experimental Research Methods in Orthopedics and Trauma*. Stuttgart. Thieme. 2015.

69. Stauber M, Müller R. Micro-computed tomography: a method for the non-destructive evaluation of the three-dimensional structure of biological specimens. In: *Osteoporosis*. Springer; 2008. p. 273–292.

70. Tadano S, Giri B. X-ray diffraction as a promising tool to characterize bone nanocomposites. *Sci Technol Adv Mater*. 2012 Jan 13;12(6).

71. Xue J, Zhang L, Zou L. High-resolution X-ray microdiffraction analysis of natural teeth. *J Synchrotron Radiat*. 2008;15.

72. Wu Y, Reese TG, Cao H, Hrovat MI, Toddes SP, Lemdiasov RA, et al. Bone Mineral Imaged In Vivo by ³¹P Solid State MRI of Human Wrists. *J Magn Reson Imaging*. 2011 Sep;34(3):623–33.

73. Wu Y, Ackerman JL, Kim H-M, Rey C, Barroug A, Glimcher MJ. Nuclear Magnetic Resonance Spin-Spin Relaxation of the Crystals of Bone, Dental Enamel, and Synthetic Hydroxyapatites. *J Bone Miner Res*. 2002;17(3):472–480.

74. Castell J. Tema 10: Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear. Castell J. *Fundamentos Química Orgánica* [Internet]. 2018. Disponible en: <https://www.uv.es/jcastell/Espectroscopia.pdf>

75. Cao H, Nazarian A, Ackerman JL, Snyder BD, Rosenberg AE, Nazarian RM, et al. Quantitative ³¹P NMR spectroscopy and ¹H MRI measurements of bone mineral and matrix density differentiate metabolic bone diseases in rat

models. *Bone*. 2010 Jun;46(6):1582–90.

76. Wu Y, Ackerman JL, Chesler DA, Graham L, Wang Y, Glimcher MJ. Density of organic matrix of native mineralized bone measured by water- and fat-suppressed proton projection MRI. *Magn Reson Med*. 2003 Jul;50(1):59–68.

77. Rezaei A, Dragomir-Daescu D. Femoral Strength Changes Faster With Age Than BMD in Both Women and Men: A Biomechanical Study. *J Bone Miner Res*. 2015;30(12):2200–6.

78. Registry. American Joint Replacement Registry. Annual Report 2019. [Internet]. Disponible en: <http://ajrr.net/publications-data/annual-reports>

79. Registry. Swedish Hip Arthroplasty Register Annual Report 2018 [Internet]. Disponible en: https://registercentrum.blob.core.windows.net/shpr/r/Arsrapport_2018_Hoftprotes ENG_26mars_Final-rJepCXNsLI.pdf

80. Registry. National Joint Registry. 17th Annual Report 2020. Surgical data to 31 December 2019 [Internet]. Available from: www.njrcentre.org.uk

81. Cederholm T, Jensen GL, Correia MITD, Gonzalez MC, Fukushima R, Higashiguchi T, et al. GLIM criteria for the diagnosis of malnutrition – A consensus report from the global clinical nutrition community. *Clin Nutr*. 2019 Feb;38(1):1–9.

82. Aldebeyan S, Nooh A, Aoude A, Weber MH, Harvey EJ. Hypoalbuminaemia—a marker of malnutrition and predictor of postoperative complications and mortality after hip fractures. *Injury*. 2017 Feb;48(2):436–40.

83. Steihaug OM, Gjesdal CG, Bogen B ard, Kristoffersen M alfrid H, Lien G, Ranhoff AH. Sarcopenia in patients with hip fracture: a multicenter cross-sectional study. *PLoS One*. 2017;12(9):e0184780.

84. Zupan J, Hof RJ van't, Vindišar F, Haring G, Trebše R, Komadina R, et al. Osteoarthritic versus osteoporotic bone and intra-skeletal variations in normal bone: Evaluation with μ CT and bone histomorphometry. *J Orthop Res*. 2013;31(7):1059–66.

85. Johnell O, Kanis JA, Oden A, Johansson H, De Laet C, Delmas P, et al. Predictive Value of BMD for Hip and Other Fractures. *J Bone Miner Res*. 2005 Mar 7;20(7):1185–94.

86. Blake GM, Fogelman I. An Update on Dual-Energy X-Ray Absorptiometry. *Semin Nucl Med*. 2010 Jan;40(1):62–73.

87. Hart DJ, Mootosamy I, Doyle DV, Spector TD. The relationship between osteoarthritis and osteoporosis in the general population: the Chingford Study. *Ann Rheum Dis*. 1994 Mar;53(3):158–62.

88. Shen Y, Zhang Z-M, Jiang S-D, Jiang L-S, Dai L-Y. Postmenopausal women with osteoarthritis and osteoporosis show different ultrastructural characteristics of trabecular bone of the femoral head. *BMC Musculoskelet Disord.* 2009 Apr 9;10:35.
89. Im G-I, Kim M-K. The relationship between osteoarthritis and osteoporosis. *J Bone Miner Metab.* 2014 Mar;32(2):101–9.
90. Im G-I, Kim M-K. The relationship between osteoarthritis and osteoporosis. *J Bone Miner Metab.* 2014 Mar;32(2):101–9.
91. Montoya MJ, Giner M, Miranda C, Vázquez MA, Caeiro JR, Guede D, et al. Microstructural trabecular bone from patients with osteoporotic hip fracture or osteoarthritis: Its relationship with bone mineral density and bone remodelling markers. *Maturitas.* 2014 Nov;79(3):299–305.
92. Zhang Z-M, Li Z-C, Jiang L-S, Jiang S-D, Dai L-Y. Micro-CT and mechanical evaluation of subchondral trabecular bone structure between postmenopausal women with osteoarthritis and osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2010 Aug;21(8):1383–90.
93. Li Z-C, Dai L-Y, Jiang L-S, Qiu S. Difference in subchondral cancellous bone between postmenopausal women with hip osteoarthritis and osteoporotic fracture: Implication for fatigue microdamage, bone microarchitecture, and biomechanical properties. *Arthritis Rheum.* 2012 Dec;64(12):3955–62.
94. Blain H, Chavassieux P, Portero-Muzy N, Bonnel F, Canovas F, Chammas M, et al. Cortical and trabecular bone distribution in the femoral neck in osteoporosis and osteoarthritis. *Bone.* 2008 Nov;43(5):862–8.
95. Reznikov N, Alsheghri AA, Piché N, Gendron M, Desrosiers C, Morozova I, et al. Altered topological blueprint of trabecular bone associates with skeletal pathology in humans. *Bone Rep.* 2020 Jun;12:100264.
96. Legrand E, Chappard D, Pascaretti C, Duquenne M, Krebs S, Rohmer V, et al. Trabecular bone microarchitecture, bone mineral density, and vertebral fractures in male osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 2000;15(1):13–19.
97. Ciarelli TE, Fyhrie DP, Schaffler MB, Goldstein SA. Variations in three-dimensional cancellous bone architecture of the proximal femur in female hip fractures and in controls. *J Bone Miner Res.* 2000;15(1):32–40.
98. Liu XS, Sajda P, Saha PK, Wehrli FW, Guo XE. Quantification of the Roles of Trabecular Microarchitecture and Trabecular Type in Determining the Elastic Modulus of Human Trabecular Bone. *J Bone Miner Res.* 2006 Jul 17;21(10):1608–17.
99. Yerramshetty JS, Akkus O. The associations between mineral crystallinity

and the mechanical properties of human cortical bone. *Bone*. 2008 Mar;42(3):476–82.

100. Adele Boskey. Bone mineral crystal size. *Osteoporos Int*. 2003 Sep 1;14(5):16–21.

101. Bala Y, Farlay D, Boivin G. Bone mineralization: from tissue to crystal in normal and pathological contexts. *Osteoporos Int*. 2013 Aug;24(8):2153–66.

102. Wang N, Wang Z, Aust KT, Erb U. Effect of grain size on mechanical properties of nanocrystalline materials. *Acta Metall Mater*. 1995;43(2):519–528.

103. Noor Z, Sumitro SB, Hidayat M, Rahim AH, Taufiq A. Assessment of microarchitecture and crystal structure of hydroxyapatite in osteoporosis. *Universa Med*. 2011;30(1):29–35.

104. Vilayphiou N, Boutroy S, Sornay-Rendu E, Van Rietbergen B, Chapurlat R. Age-related changes in bone strength from HR-pQCT derived microarchitectural parameters with an emphasis on the role of cortical porosity. *Bone*. 2016 Feb 1;83:233–40.

105. Turunen MJ, Kaspersen JD, Olsson U, Guizar-Sicairos M, Bech M, Schaff F, et al. Bone mineral crystal size and organization vary across mature rat bone cortex. *J Struct Biol*. 2016 Sep;195(3):337–44.

106. Osterhoff G, Morgan EF, Shefelbine SJ, Karim L, McNamara LM, Augat P. Bone mechanical properties and changes with osteoporosis. *Injury*. 2016;47:S11–S20.

107. Stock SR. The Mineral–Collagen Interface in Bone. *Calcif Tissue Int*. 2015 Sep;97(3):262–80.

108. Depalle B, Qin Z, Shefelbine SJ, Buehler MJ. Influence of cross-link structure, density and mechanical properties in the mesoscale deformation mechanisms of collagen fibrils. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2015 Dec;52:1–13.

109. Bailey AJ, Paul RG, Knott L. Mechanisms of maturation and ageing of collagen. *Mech Ageing Dev*. 1998 Dec 1;106(1):1–56.

110. Sroga GE, Vashishth D. Effects of Bone Matrix Proteins on Fracture and Fragility in Osteoporosis. *Curr Osteoporos Rep*. 2012 Jun;10(2):141–50.

111. Saito M, Fujii K, Soshi S, Tanaka T. Reductions in degree of mineralization and enzymatic collagen cross-links and increases in glycation-induced pentosidine in the femoral neck cortex in cases of femoral neck fracture. *Osteoporos Int*. 2006 Jun 6;17(7):986–95.

112. Saito M, Fujii K, Marumo K. Degree of Mineralization-related Collagen Crosslinking in the Femoral Neck Cancellous Bone in Cases of Hip Fracture and

Controls. *Calcif Tissue Int.* 2006 Sep 1;79(3):160–8.

113. Saito M, Fujii K, Soshi S, Tanaka T. Reductions in degree of mineralization and enzymatic collagen cross-links and increases in glycation-induced pentosidine in the femoral neck cortex in cases of femoral neck fracture. *Osteoporos Int.* 2006 Jun 6;17(7):986–95.

114. Fodor D, Bondor C, Albu A, Simon S, Craciun A, Muntean L. The Value of Osteopontin in the Assessment of Bone Mineral Density Status in Postmenopausal Women. *J Investig Med.* 2013 Jan 1;61(1):15–21.

115. Lumachi F, Ermani M, Camozzi V, Tombolan V, Luisetto G. Changes of Bone Formation Markers Osteocalcin and Bone-Specific Alkaline Phosphatase in Postmenopausal Women with Osteoporosis. *Ann N Y Acad Sci.* 2009 Sep;1173:E60–3

116. Loveridge N, Power J, Reeve J, Boyde A. Bone mineralization density and femoral neck fragility. *Bone.* 2004 Oct;35(4):929–41.

117. Wu Y, Bergot C, Jolivet E, Zhou L, Laredo J-D, Bousson V. Cortical bone mineralization differences between hip-fractured females and controls. A microradiographic study. *Bone.* 2009 Aug;45(2):207–12.

118. Carpentier VT, Wong J, Yeap Y, Gan C, Sutton-Smith P, Badiei A, et al. Increased proportion of hypermineralized osteocyte lacunae in osteoporotic and osteoarthritic human trabecular bone: Implications for bone remodeling. *Bone.* 2012 Mar;50(3):688–94.

119. Peng J, Zhou Y, Min L, Zhang W, Luo Y, Zhang X, Zou C, Shi R, Tu C. Analysis of correlation between trabecular microstructure and clinical imaging parameters in fracture region of osteoporotic hip. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* 2014 May;28(5):576-80.

120. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Jonsson B, De Laet C, Dawson A. Prediction of fracture from low bone mineral density measurements overestimates risk. *Bone.* 2000 Abril;26(4):387–91.

121. Kanis JA, Borgstrom F, De Laet C, Johansson H, Johnell O, Jonsson B, et al. Assessment of fracture risk. *Osteoporos Int.* 2005 Jun;16(6):581–9.

122. Mansell JP, Bailey AJ. Abnormal cancellous bone collagen metabolism in osteoarthritis. *J Clin Invest.* 1998;101(8):1596–1603.

123. Grynpas MD, Alpert B, Katz I, Lieberman I, Pritzker KPH. Subchondral bone in osteoarthritis. *Calcif Tissue Int.* 1991;49(1):20–26.

124. Li G, Yin J, Gao J, Cheng TS, Pavlos NJ, Zhang C, et al. Subchondral bone in osteoarthritis: insight into risk factors and microstructural changes. *Arthritis Res Ther.* 2013;15(6):1–12.

125. Hui SL, Slemenda CW, Johnston CC. Age and bone mass as predictors of fracture in a prospective study. *J Clin Invest.* 1988 Jun 1;81(6):1804–9.
126. Naot D, Watson M, Choi AJ, Musson DS, Callon KE, Zhu M, et al. The effect of age on the microarchitecture and profile of gene expression in femoral head and neck bone from patients with osteoarthritis. *Bone Rep.* 2020 Jun 5;13.
127. Marie PJ. Bone Cell Senescence: Mechanisms and Perspectives: Bone Cell Senescence. *J Bone Miner Res.* 2014 Jun;29(6):1311–21.
128. Busse B, Djonic D, Milovanovic P, Hahn M, Püschel K, Ritchie RO, et al. Decrease in the osteocyte lacunar density accompanied by hypermineralized lacunar occlusion reveals failure and delay of remodeling in aged human bone. *Aging Cell.* 2010 Dec 1;9(6):1065–75.
129. Seeman E. Age- and Menopause-Related Bone Loss Compromise Cortical and Trabecular Microstructure. *J Gerontol Ser A.* 2013 Oct 1;68(10):1218–25.
130. Chen H, Zhou X, Fujita H, Onozuka M, Kubo K-Y. Age-Related Changes in Trabecular and Cortical Bone Microstructure. *Int J Endocrinol [Internet].* 2013;2013. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3614119/>
131. Lochmüller E-M, Matsuura M, Bauer J, Hitzl W, Link TM, Müller R, et al. Site-Specific Deterioration of Trabecular Bone Architecture in Men and Women With Advancing Age. *J Bone Miner Res.* 2008;23(12):1964–73.
132. Nicks KM, Amin S, Atkinson EJ, Riggs BL, Melton LJ, Khosla S. Relationship of age to bone microstructure independent of areal bone mineral density. *J Bone Miner Res.* 2012 Mar;27(3):637–44.
133. Kanis JA, Oden A, Johnell O, Johansson H, De Laet C, Brown J, et al. The use of clinical risk factors enhances the performance of BMD in the prediction of hip and osteoporotic fractures in men and women. *Osteoporos Int.* 2007;18(8):1033–46.
134. Perilli E, Baleani M, Öhman C, Baruffaldi F, Viceconti M. Structural parameters and mechanical strength of cancellous bone in the femoral head in osteoarthritis do not depend on age. *Bone.* 2007 Nov;41(5):760–8.
135. Poundarik AA, Boskey A, Gundberg C, Vashishth D. Biomolecular regulation, composition and nanoarchitecture of bone mineral. *Sci Rep.* 2018 Dec;8(1).
136. Li B, Aspden RM. Composition and mechanical properties of cancellous bone from the femoral head of patients with osteoporosis or osteoarthritis. *J Bone Miner Res.* 1997;12(4):641–651.

10. ANEXOS.

I. IMÁGENES.

Imagen 1. Anatomía femur proximal.

Imagen 2. Interfase orgánico-mineral.

Imagen 3. Ciclo histológico del osteoblasto.

Imagen 4. Ciclo histológico del osteoclasto.

Imagen 5. Esquema remodelado óseo.

Imagen 6. Factores determinantes de la resistencia ósea.

Imagen 7. Distribución de la DMO en la población general.

Imagen 8. Esquema senescencia osteoblástica.

Imagen 9. Cabeza femoral extraída en intervención quirúrgica.

Imagen 10. Cilindro óseo y zona de extracción.

Imagen 11. Densitómetro Lunar Piximus.

Imagen 12. MicroTC SkyScan1172.

Imagen 13. Región de interés y corte axial de las muestras.

Imagen 14. Difractor Rx D8Discover/GADDS.

Imagen 15. Gráfica de espectroscopía de Rx del cristal de HA.

Imagen 16. Representación cristal HA.

Imagen 17. Espectrómetro de RNM Bruker.

Imagen 18. Algoritmo de trabajo.

Imagen 19. Centros de análisis de muestras y colaboradores.

Imagen 20. Diagrama de cajas edad en ambos grupos.

Imagen 21. Histograma distribución por sexos en ambos grupos.

Imagen 22. Diagrama de cajas IMC en ambos grupos.

Imagen 23: Diagramas de cajas parámetros estudiados mediante Absorciometría de Rayos X.

Imagen 24: Diagramas de barra que representa los parámetros estudiados mediante microTC.

Imagen 25. Correlación entre DMO y resto de parámetros estructurales obtenidos mediante microTC y MAS RNM.

Imagen 26. Correlación entre DMO y tamaño del cristal de HA.

Imagen 27. Correlación entre edad y concentración relativa ^{1}H .

Imagen 28. Correlación entre longitud eje a de los cristales de HA y concentración relativa de HPO^{-3} .

II. TABLAS.

Tabla 1. Rasgos diferenciales entre osteoporosis postmenopáusica y senil.

Tabla 2. Variables estudiadas en el presente proyecto.

Tabla 3. Parámetros del espectómetro de RNM-ES-MAS.

Tabla 4. Características demográficas del grupo a estudio.

Tabla 5. Características microestructurales analizadas mediante Densitometría.

Tabla 6. Características microestructurales analizadas mediante microTC.

Tabla 7. Características nanoestructurales analizadas mediante Difracción de Rayos X.

Tabla 8. Características microestructurales analizadas mediante espectroscopia RNM-MAS-ES.

Tabla 9. Correlación entre DMO y otras características estructurales analizadas mediante microTC, Densitometría, DRX y RNM-MAS-ES..

Tabla 10. Correlación entre edad y otras características estructurales analizadas mediante microTC, Densitometría, DRX y RNM-MAS-ES.

Tabla 11. Correlación entre el eje corto del cristal de HA y otras características estructurales analizadas mediante microTC, Densitometría, y RNM-MAS-ES.

III. INFORME COMITÉ ÉTICO.



Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD

Dra. Gloria Luque Fernández
Secretaria CEI Málaga Nordeste

Comité acreditado por el Decreto de 10 de Junio de 2011 por la Dirección General de Calidad, Investigación y Gestión del Conocimiento de la Junta de Andalucía. Cumple con el decreto 439/2010 de 14 de diciembre, por el que se regulan los órganos de Ética Asistencial y de Investigación Biomédica en Andalucía, y el decreto 223/2004 y las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95).

CERTIFICA

1.- Que el CEI Málaga Nordeste en su reunión del día 29 de Enero de 2013, ha evaluado la propuesta de: **Dr. Iskandar Tamimi Mariño**, referido al Proyecto de Investigación:

" Enfoque alternativo para predecir riesgo de fracturas."

2.- Considera que:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto, teniendo en cuenta los beneficios esperados.
- El procedimiento para obtener el consentimiento informado, incluyendo la hoja de información para los sujetos.
- La capacidad del investigador y sus colaboradores y las instalaciones y medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.

3.- La composición del CEI en la reunión de esta aprobación es la siguiente:

Dr. José Manuel Fernández Arquero
Dr. Alonso Gallardo Miranda
Dr. Pedro García Fortea
Dr. Miguel Angel García Ordoñez



150.150.805





Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD

Dra. Laura Leyva Fernández
Dr. Antonio López Téllez
Dña. Inmaculada Lupiáñez Pérez
Dra. Gloria Luque Fernández
Dr. Fermín Mayoral Cleries
Dra. Cristobalina Mayorga Mayorga
Dña. Esther Millán González
Dr. Antonio Jesús Núñez Montenegro
Dña. Virginia Salinas Pérez
Dra. M^a José Torres Jaén
Dra. M^a Carmen Vela Márquez

No existiendo ningún tipo de conflicto ético, es por lo que el
CEI acepta que dicho Proyecto de Investigación, sea realizado en el **Hospital
Regional Universitario Carlos Haya Málaga**

Lo que firmo en Málaga, a 31 de Enero de 2013, con el visado del Presidente

Secretaria del Comité
Fdo.: Gloria Luque Fernández



Presidente del Comité
Fdo.: Pedro García Fortea

150.150.805



IV. ESTANCIA INVESTIGACIÓN UNIVERSIDAD MCGILL.



Faculty of Dentistry
McGill University
3640 University Street
Montreal, Quebec, Canada
H3A 0C7

Dr. Faleh Tamimi
Ph.D. M.Sc. B.Sc. D.M.D.
Associate Professor, Implant-Prosthodontics
Div. of Restorative Dentistry
Tel.: +1-514-3987203 ext.009654

Faculté de médecine dentaire
Université McGill
3640, rue University
Montréal, (Québec) Canada
H3A 0C7

Montreal, March 3rd 2017

Dr. Juan Manuel Sanchez Siles

Hospital Carlos Haya de Malaga, Malaga, Spain

Dear Dr. Sanchez Siles,

I am writing to confirm your acceptance as Research Trainee at the Faculty of Dentistry of McGill University during the period between April 15th 2017 and May 1st 2017. During this period you will work with me doing research on a project entitled: "Factors determining Bone biomechanics".

You will be expected to help in task such as micro-CT analysis of bone samples, bone histological analysis, and compiling data. At the end of the research project, you will be required present and discuss results with the research team, prepare a report and present a poster in a scientific meeting.

You will be introduced to the academic staff involved in the general residency program, the DMD program, and postgraduate studies.

During your visit you will not be involved in any clinical care, but you will be allowed to attend classes and discuss academic and research collaborations with the academic staff in the Faculty of Dentistry at McGill University.

You will be provided with access and training for the research instruments that you will be using in your project, this will include the Skyscan micro CT, and Zeiss microscope, as well as my research laboratory.

During your visit to McGill University, we will provide you with access to the building, office space and internet access. You will receive no salary from McGill University and your travel, accommodation and all other costs will not be provided by McGill University.

Faleh Tamimi, BDS, PhD
Associate Professor,
Faculty of Dentistry
Room M60C, Strathcona Anatomy & Dent,
3640 University Street, Montreal, Quebec H3A 0C7, Canada
Tel: +1 514-398-7203 ext 09654; Fax: +1 514-398-8900
email: faleh.tamimimarino@mcgill.ca



Montreal, 28th April 2017

I certify that Mr. Juan Manuel Sánchez Siles with ID 74857640t has satisfactorily completed his as Research Trainee at McGill University during the period between April 15th 2017 and May 1st 2017, actively participating in the development and analysis of our project " Factors determining Bone biomechanics".

We thank you for his contribution and to ensure that this certificate is issued.

Faleh Tamimi, BDS, PhD
Associate Professor, Faculty of Dentistry
Room M60C, Strathcona Anatomy & Dent,
3640 University Street, Montreal, Quebec H3A 0C7, Canada
Tel: +1 514-398-7203 ext 09654; Fax: +1 514-398-8900
email: faleh.tamimimarino@mcgill.ca

V. ARTÍCULOS RELACIONADOS CON LA TESIS DOCTORAL.

JM Sánchez Siles, I Tamimi-Mariño, ARG Cortés, JL Ackerman, D González Quevedo, E Guerado, F Yaghoubi, MN Abdallah, H Eimar, M Laurenti, A Al-Subaie, F Tamimi.

Título: Age related changes in the bone microstructure in patients with femoral neck fractures.

Revista (Año, Volumen): Injury (2020, 51).

Iskandar Tamimi, Arthur Rodríguez González Cortés, Juan Manuel Sánchez-Siles, Jerome L. Ackerman, David González Quevedo, Ángel García, Farid Yaghoubi, Mohamed-Nur Abdallah, Hazem Eimar, Ammar Alsheghri, Marco Laurenti, Ahmad Al-Subaie, Enrique Guerado, David García de Quevedo, Faleh Tamimi.

Título: Composition and characteristics of trabecular bone in osteoporosis and Osteoarthritis.

Revista (Año, Volumen): Bone (2020, 140)

Natalie Reznikov, Ammar A. Alsheghri, Nicolas Pich, Mathieu Gendron, Catherine Desrosiers, Ievgeniia Morozova, Juan Manuel Sánchez Siles, David González Quevedo, Iskandar Tamimi, Jun Song, Faleh Tamimi.

Título: Altered topological blueprint of trabecular bone associates with skeletal pathology in humans

Revista (Año, Volumen): Bone Reports (2020, 12)



UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

Facultad de Medicina

Departamento de Cirugía