

Estimulación eléctrica para fracturas óseas

A. Papaqui Tiro*
L. Méndez Bognanni*
S. Alcántara Iniesta*



elementos, núm. 13, año 4, vol. 3.

Como sabemos, los avances tecnológicos de los últimos años han provocado una mecanización de la sociedad actual, lo que conlleva un aumento considerable en el número de accidentes. Las fracturas de los huesos largos son una consecuencia directa, y estos pacientes lesionados cada día ocupan más camas en los hospitales.

El alto costo de los tratamientos y las incapacidades prolongadas de los pacientes, sumados a la falta de productividad social durante esos períodos, hace que la curación de las fracturas se esté convirtiendo en un problema de salud pública.

La traumatología, como rama de la medicina, está atenta a estos problemas y su preocupación permanente es la disminución de los costos del tratamiento y la reducción del tiempo de evolución de las fracturas.

En los últimos años se ha iniciado el uso de la estimulación eléctrica para la regeneración ósea, cuyos resultados han sido ampliamente reportados, demostrando efectividad y seguridad.

Al curar una fractura, las células de reparación (osteogénicas) crecen a partir del periostio (vaina fibrosa que cubre al hueso, salvo en las caras articulares) para formar un callus externo y, en menor grado, en el endostio (capa delicada

* Departamento de Semiconductores,
IC-UAP.

da que tapiza las cavidades medulares) para formar el callo interno. Este crecimiento es extraordinariamente rápido y al final de pocas semanas el callo de fractura es una gruesa masa envolvente de tejido osteogénico. Al principio es blando, pero progresivamente las células osteogénicas se convierten en células productoras de sustancia ósea (osteoblastos) hasta formar hueso nuevo. La masa excesiva del callo se reabsorbe gradualmente y el hueso puede recuperar su diámetro casi normal.

La formación del callo en las fracturas puede ser anormal por alguna de las tres siguientes razones: por curar en el tiempo calculado (aproximadamente de 4 a 6 meses) pero en una posición inadecuada que deja una deformación ósea (mal unión); por requerir un tiempo considerablemente mayor al normalmente necesario (unión retardada o retardo de consolidación) y, finalmente, por curarse sin hueso alguno (falta de unión) con la consiguiente formación de unión fibrosa, o de una articulación falsa (pseudoartrosis).

El estado de unión de una fractura puede valorarse mediante el examen clínico y radiográfico; dicha unión dependerá de múltiples e importantes factores como edad y estado de salud del paciente, localización y configuración de la fractura, desplazamiento inicial e irrigación sanguínea de los fragmentos fracturados.

Propiedades eléctricas del hueso

Desde mediados de los años cincuenta se ha reportado que el hueso presenta propiedades piezoelectricas, es decir, que cuando es sometido a una deformación mecánica, genera un potencial positivo en la zona de tensión y negativo en la de compresión, diferencia de potencial que tiene relación directa con la fuerza aplicada.

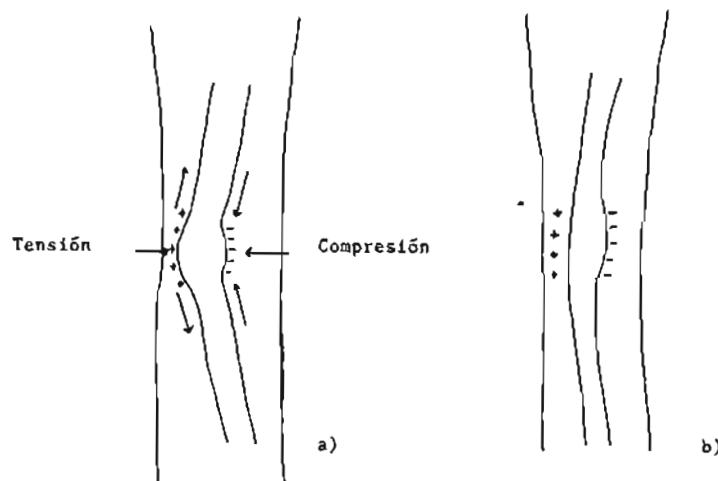


Figura 1. Unión Osca: a) sometido a cargas de compresión y tensión debido a su posición incorrecta; b) corrección biológica parcial de la angulación.

Durante el ejercicio el hueso genera pequeños pulsos de potencial eléctrico, generalmente unos pocos milivoltios por centímetro; esos pulsos son producidos piezoelectricamente por la transducción de energía mecánica (el encorvamiento de un hueso en actividad) en energía eléctrica. Los pulsos son parte de un sistema de retroalimentación natural que modifica la forma de los huesos (así como el crecimiento y la regeneración durante la reparación de las fracturas) de forma tal que minimiza el esfuerzo mecánico en el hueso: los pulsos estimulan el crecimiento del hueso; si el esfuerzo mecánico aumenta, el pulso se incrementa y el hueso crece hasta que la tensión es aliviada; en este punto, los pulsos se reducen y el crecimiento del hueso se detiene.

Lo anterior se comprueba cuando un hueso fracturado que ha formado callo en posición incorrecta o viciosa, *mal unión* (figura 1a), al entrar en funcionamiento, tiende

en forma natural y con ciertas limitaciones, a recuperar su forma normal, aumentando el callo en la parte sujeta a compresión electronegativa, y desvastándose en la zona de tensión electropositiva (figura 1b.)

Esto hizo pensar que los potenciales asociados a las cargas estaban involucrados en la neoformación ósea a nivel de las zonas sometidas a compresión, pudiéndose aplicar directa o indirectamente electricidad externa para controlar e intensificar el proceso reconstructivo.

Efectos de la estimulación eléctrica en el hueso

La mayoría, o quizás todas las formas de vida, son afectadas por lo que naturalmente ocurre en un campo eléctrico o electromagnético. La migración y orientación de las aves, el comportamiento de las abejas, el nado de los peces y algunos patrones de alimentación, son

ejemplos bien conocidos de interacción entre un campo externo y un fenómeno biológico.

Desde hace tiempo se conocen los efectos de la electricidad sobre los tejidos excitables y hoy el potencial de acción de las membranas de esas células es aceptado como un dogma central de la fisiología, lo cual permitió la utilización de la electricidad para el tratamiento de algunas alteraciones: electroestimulación, músculo-esquelética y nerviosa, marcapasos cardíaco, desfibrilador cardíaco, etcétera.

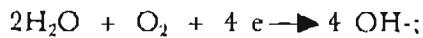
Los estudios para controlar células con membranas no excitables (nos referimos aquí solamente a las células óseas) son mucho más recientes y actualmente es conocido que una variedad de procesos fisiológicos y biológicos de esas células son afectados por cambios específicos en su medio ambiente eléctrico.

En las dos últimas décadas, más de 30 investigadores realizaron pruebas de laboratorio y posteriormente clínicas, utilizando

corrientes que varían entre 5 y 100 microamperes de distinta polaridad, llegando a concluir de manera unánime que la corriente directa negativa de 20 microamperes es la óptima para provocar la osteogénesis. Corrientes menores producen mínima estimulación pero sin crecimiento óseo y corrientes mayores de 30 microamperes provocan desmineralización del hueso e incluso necrosis (muerte del tejido), al igual que la corriente positiva.

Inducción de la osteogénesis por corriente negativa

Es conocido que el cátodo consume oxígeno y produce radicales hidroxilos de acuerdo a la siguiente ecuación:



de esta manera la tensión de oxígeno disminuye y el pH aumenta en el tejido vecino a la localización del cátodo.

El hecho de que la baja tensión de oxígeno favorece la formación

ósea ha sido demostrado en una serie de estudios:

1. Baja PO_2 ha sido medida en los cartílagos de crecimiento del hueso y en los callos de fractura donde hay hueso neosformado.

2. El crecimiento óptimo de hueso *in vitro* ocurre en un ambiente de bajo oxígeno (5%).

3. El cartílago de crecimiento y las células óseas siguen una vía de metabolismo predominantemente anaeróbica (sin oxígeno).

4. Un pH alcalino (7.7 ± 0.05) ha sido encontrado en el desarrollo de la calcificación dentro del cartílago de crecimiento.

Junto con estos cambios en la vecindad del cátodo, se encontró un aumento significativo del AMP cíclico (activador enzimático o segundo mensajero), lo cual hace pensar que los electrodos o cargas actúan de manera similar al primer mensajero de las células óseas, logrando la diferenciación de estas últimas a osteoblastos o condroblastos (células formadoras de hueso). Estos conocimientos permitieron desarrollar los distintos métodos de estimulación eléctrica para la regeneración ósea.

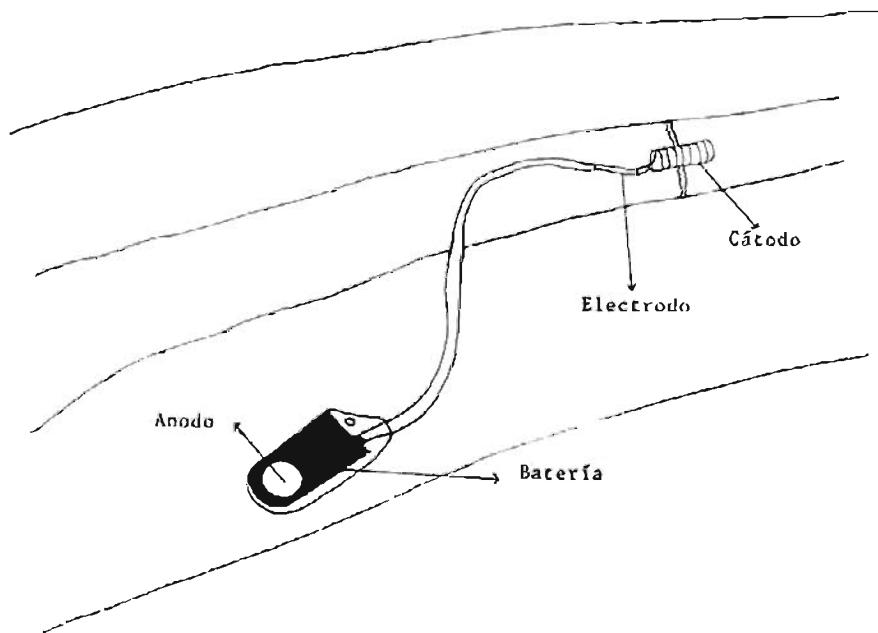


Figura 2. Método invasivo: el dispositivo completo queda por dentro de la extremidad afectada

Métodos de estimulación eléctrica

Método invasivo

De corriente constante; consiste en un dispositivo electrónico de dimensiones reducidas (45 mm x 21 mm x 6 mm) con su batería incluida de litio-iodo.

El dispositivo es implantado quirúrgicamente, colocándose el cátodo en el foco de fractura; éste se conecta a través de un electrodos aislado eléctricamente de 15 cm de longitud al generador, el cual está encapsulado con excepción del ánodo de 1.5 cm de diámetro, que cierra el circuito electrónico (figura 2). (Similar a un marcapasos cardíaco implantable con electro-



Figura 3. Estimulador óseo de corriente continua. UAP 8402.

do unipolar.) La duración de las baterías es de 32 a 35 semanas.

Una vez curada la fractura se hace una nueva intervención quirúrgica para extraer el dispositivo. Como se puede observar, es una técnica costosa y cruenta para el paciente, y los resultados son similares al método que expondremos a continuación.

Método seminvasivo

Este método fue desarrollado en el Departamento de Semiconductores del ICUAP, elaborando para este fin el Estimulador óseo de corriente directa UAP 8402 (figura 3.)

Se denomina seminvasivo porque a pesar de que el circuito electrónico queda por fuera del paciente, se deben colocar los electrodos dentro del hueso a través de la piel y los músculos.

El paciente previamente debe contar con una buena inmovilización de la fractura, sea con yeso o por medio osteosíntesis (método quirúrgico para fijar la fractura con clavos, placas atornilladas, tensores externos, etcétera).

Con anestesia local o general, según el paciente y bajo control fluoroscópico directo (figura 4),

se colocan percutáneamente con taladro manual o eléctrico, 4 clavos de Kirchsner de 1.2 mm de diámetro y se dirigen hacia el foco de fractura desde cuatro ángulos diferentes (figura 5). Se introducen a los fragmentos óseos aproximadamente 1 cm y posteriormente se aísla eléctricamente, con catéter o forro conductor, toda la porción que no está dentro del hueso.

Los clavos se conectan al circuito electrónico y actúan como cátodos inyectores de corriente, mientras que otro electrodo, el ánodo, se coloca a nivel de la piel —utilizando pasta conductora o

solución salina— a una distancia no mayor de 10 cm del foco de fractura (figura 6).

El control postimplantación consiste en:

1. Control clínico semanal del paciente en el cual se debe efectuar el cambio de ubicación del ánodo, previa limpieza de éste y la piel, así como la medición de la corriente que entrega el dispositivo y de la resistencia eléctrica del hueso.

2. Control radiográfico mensual para valorar la evolución estructural de la fractura (figuras 7, 8 y 9).

3. Retiro del estimulador cuando existe formación de callo óseo resistente.

El tiempo promedio de estimulación es de 12 semanas.

El estimulador óseo UAP 8402 cumple con las especificaciones mínimas de un sistema electrónico para aplicar corriente con dicho fin, compuestos, básicamente, de las siguientes partes:

- Cuatro fuentes de \pm corriente independiente de cc (corriente continua), que entregan 20 microamperes \pm 1, que permiten continuar con el tratamiento si se llegara a desprender algún electrodo del hueso.
- Rango de carga de 0 a 300 kilohmios; nuestro dispositi-

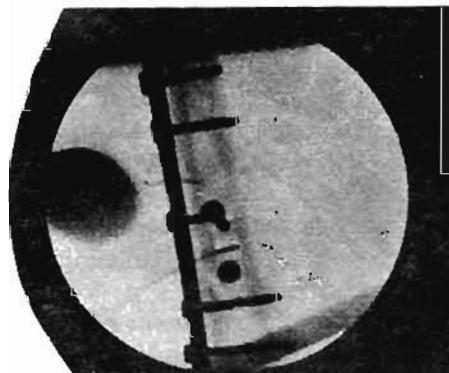


Figura 4. Control fluoroscópico para dirigir los electrodos hacia el foco de fractura.

vo presenta interruptores encapsulados en el encapsulado del circuito con dos posiciones: una para regular ante una carga de 0 a 180 kilohmios y otra de 180 a 300 kilohmios para cada fuente.

- Circuito de protección para evitar que la corriente rebasce los rangos establecidos de $20 \mu A \pm 1$, lo que podría provocar desmineralización ósea.
- Alimentación con pilas comunes de 9 voltios con una duración de 3 meses de acuerdo al consumo del circuito diseñado.
- Anodo no metálico (en nuestro caso de carbono) recubierto con hule de silicio de 5 cm de diámetro que permite una adecuada fijación y contiene la pasta conductora.
- Protección al circuito con encapsulado resistente a la humedad, movimientos bruscos y variaciones de temperatura.
- Facilidad para controlar los parámetros eléctricos del dispositivo, así como para medir la resistencia eléctrica del hueso con el fin de evaluar la evolución de la fractura desde un punto de vista eléctrico.

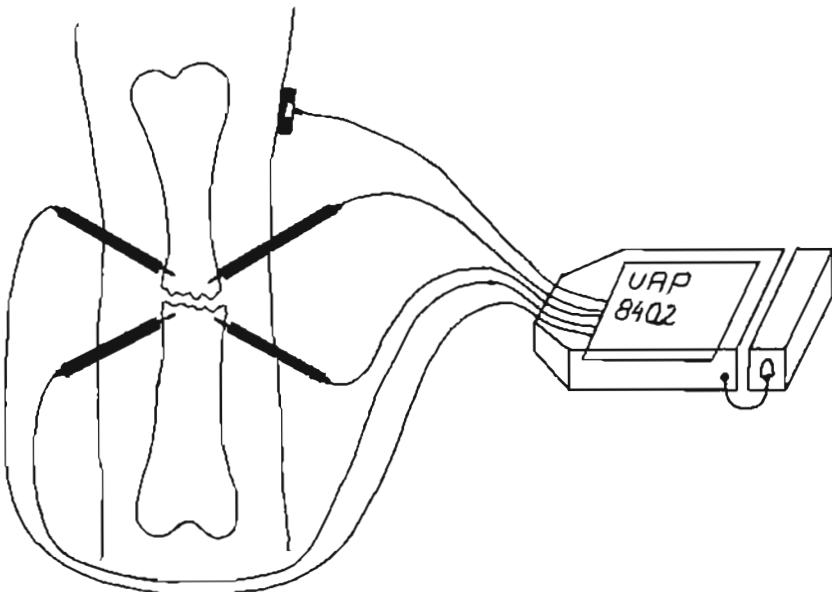


Figura 5. Esquema de la ubicación de los electrodos del Estimulador UAP 8402

Respecto a esto, nos encontramos (como mencionan algunos autores) con que la resistencia eléctrica del hueso aumenta a medida que avanza la estimulación (con excepción de la osteoporosis, hueso desmineralizado, en el cual el proceso es inverso), y esto se debe al crecimiento del hueso alrededor de los electrodos; pero desafortunadamente no es el único factor que lo provoca, ya que también influye la corrosión del ánodo, la polarización (efecto que se presenta por acumulación de car-

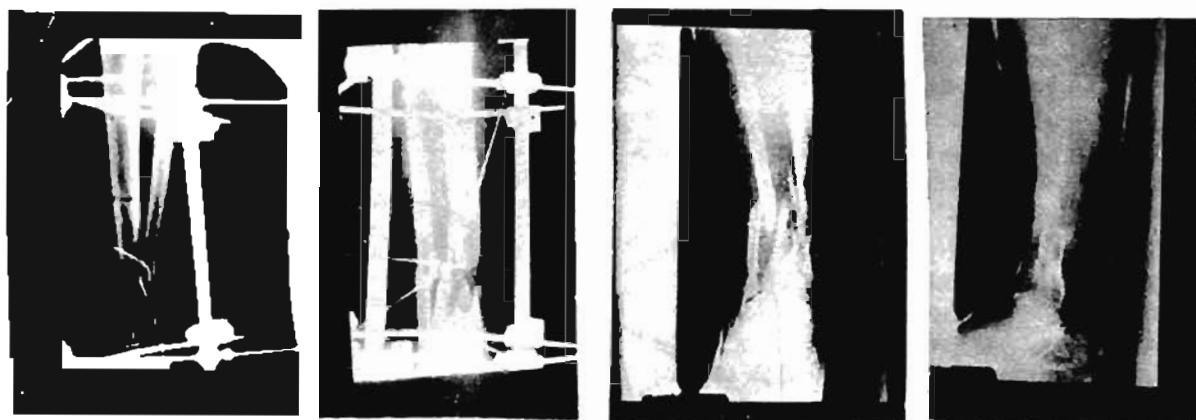
gas opuestas a la del estímulo), el incremento del calor local y otros factores desconocidos.

Ahora bien, en nuestra experiencia con la utilización de este método de estimulación de corriente directa, nos encontramos con algunas dificultades técnicas y complicaciones que algunos investigadores mencionan en sus publicaciones.

Es necesario un procedimiento quirúrgico para la colocación de los electrodos utilizando anestesia local en la mayoría de los casos y



Figura 6. Aplicación quirúrgica de los electrodos del Estimulador UAP 8402 por el Dr. Domínguez-Barranco



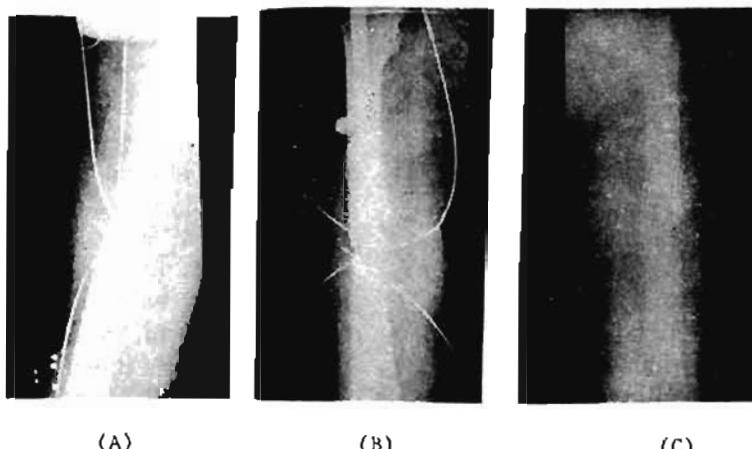
(A)

(B)

(C)

(D)

Figura 7. (A) Fractura multifragmentaria de tibia, en una paciente de 44 años con pérdida de hueso, al inicio de la estimulación con el UAP 8402. (B) Al mes se observa el inicio de la calcificación. (C) y (D) Radiografía anteroposterior y lateral a los tres meses, al retirarse el estimulador y el aparato de fijación externa.



(A)

(B)

(C)

Figura 8. (A) Paciente de 16 años con una pseudoartrosis infectada de fémur al inicio de la estimulación con el UAP 8402. (B) Un mes después se observa calcificación alrededor de los electrodos. C) Se retira el estimulador, observándose una buena consolidación.

general en otros especiales; el estímulo se limita a la punta del electrodo y en algunos pacientes nos encontramos con que a pesar de insertar 4 electrodos, no son suficientes debido a las características del trazo de fractura y por la dificultad para localizarlos con precisión, aun utilizando el intensificador de imagen (fluroscopio: figura 4), además de que se debe evitar que los electrodos se pongan en contacto entre sí, ya que de esta forma duplicaríamos la entrega de corriente con resultados contrarios a los esperados.

En muchos casos los electrodos se desprenden debido a una reac-

ción natural del hueso de rechazo a un cuerpo extraño. Este es un problema difícil de resolver técnicamente; intentamos con clavos de Kirchsner roscado en la punta donde penetra en el hueso, persistiendo el problema, aunque en mucho menor medida.

El riesgo de infección provocada por los electrodos está siempre presente, aunque tomando las medidas adecuadas de esterilización durante la implantación y cuidados posteriores se puede evitar.

En un principio utilizamos el electrodo positivo (ánodo) de metal, el cual provocaba una reacción formando un compuesto áci-

do inorgánico, ocasionando quemadura química de la piel, por lo cual se debía cambiar de sitio el electrodo cada 48 horas. Con la construcción de un ánodo no metálico, hecho con carbono, desapareció esta complicación, y nos permitió mantenerlo en el mismo sitio por 10 días o más sin provocar reacciones adversas.

Otro posible riesgo es el de la electrólisis (separación iónica de un compuesto en un campo eléctrico) ya que en ocasiones la resistencia eléctrica del hueso aumenta en forma importante, debiendo entregar el circuito electrónico un voltaje mayor, que al menos está por encima del punto de electrólisis del agua.

Las causas que acabamos de exponer nos motivaron a diseñar y construir el siguiente método de estimulación ósea al cual nos referiremos.

Método no invasivo

Estimulador óseo de campo electromagnético (EOCM) UAP 8517 (figura 10). Se estimula eléctricamente mediante corriente inducida por un campo electromagnético pulsante, que atraviesa el hueso en forma perpendicular.

La mayoría de los huesos en deformación presentan pulsos que

varían entre 1 y 1.5 mv/cm de hueso, como ha sido medido con la colocación de sensores de deformación en el hueso vivo. Este conocimiento fue fundamental para la aplicación de estimulación electromagnética, pero no el único, ya que se debía conocer la forma de onda, duración y repetición del pulso.

Posteriormente siguieron investigaciones *in vitro* con distintas formas de onda y variaciones de frecuencia que incluían microondas, radiofrecuencias y bajas frecuencias, llegándose a dos patrones de estímulo efectivos. Uno es un pulso simple, casi rectangular de aproximadamente 300 microsegundos de duración y con una repetición de 72 Hz, el cual provoca la liberación del 25% del Ca^{++} contenido en un cultivo de condrocitos de aves después de 120 minutos de exposición al campo electromagnético, así como también un incremento en el ADN (ácido desoxirribonucleico) y las glicoproteínas.

El segundo consiste en un tren de pulsos de 200 microsegundos de ancho, casi rectangular, durante 5 milisegundos y con una repetición de 10 a 15 Hz, que provoca liberación del 40% del Ca^{++} en un cultivo de condrocitos de aves

después de 120 minutos de exposición.

El pulso simple se utiliza clínicamente para el tratamiento de la pseudoartrosis congénita y la osteoporosis; el tren de pulsos para las pseudoartrosis adquiridas en adultos.

El porcentaje de curación supera el 90% y no se han observado efectos adversos.

Técnica y aplicación

Previo a la aplicación de un EOCM, el paciente debe presentar la fractura inmovilizada y con un adecuado alineamiento axial de los extremos óseos.

El principio de la técnica consiste en la inducción de una corriente eléctrica pulsante en el hueso producida por energía magnética externa al paciente. El pulso es aplicado a través de un par de bobinas circulares, las cuales se encuentran paralelas entre sí a ambos lados de la superficie externa del miembro lesionado.

El rango del voltaje inducido en el hueso es crítico, por lo que habrá que seleccionar el diámetro interno de las bobinas —mayor en un 10% a la distancia entre ellas— la cual estará determinada por el diámetro transversal del miembro afectado (figura 11).

La diferencia de potencial inducido en el hueso es de 1 a 1.5 mv/cm y depende de la magnitud de la señal del generador al cual podemos regular.

El sistema consiste en una fuente de alimentación de voltaje variable de 0 a 15 voltios, un generador de pulsos conformado por un oscilador de 0 a 15 voltios, un generador de pulsos conformado por un oscilador que entrega los 2 patrones de estímulos ya mencionados (pulso simple y tren de pulsos) y un generador de campo magnético formado por dos bobinas circulares conectadas entre sí y alimentadas por el generador.

El campo magnético se diseña teóricamente mediante la siguiente fórmula:

$$\bar{B} = 1.257 \cdot NIM$$

$$1$$

Siendo N el número de vueltas de la bobina; I la corriente de la bobina; M la permeabilidad del medio, y 1 la longitud de la bobina.

El voltaje inducido varía ligeramente de paciente a paciente dependiendo del diámetro de las bobinas y de la distancia entre ellas. Cuando la corriente pulsante empieza a fluir en las bobinas, un

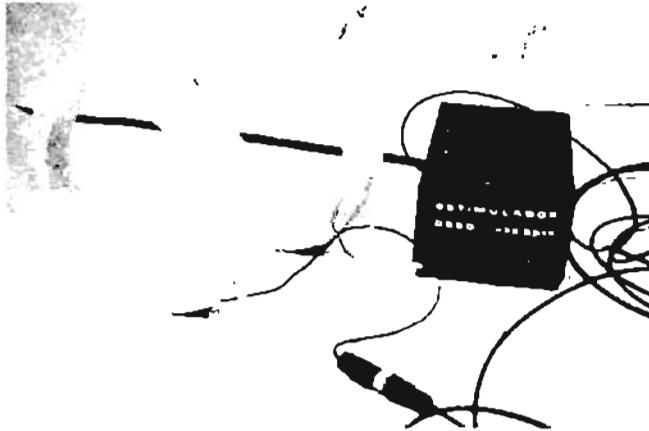


Figura 9. (A) Paciente de 70 años con pseudoartrosis de húmero. (B) Al mes y medio se observa un puente óseo alrededor de los electrodos.

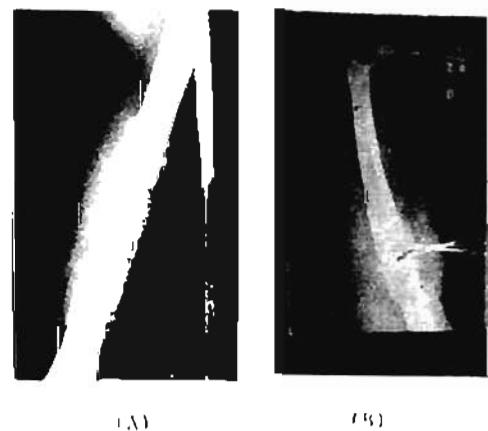


Figura 10. Estimulador óseo de campo electromagnético UAP 8517.

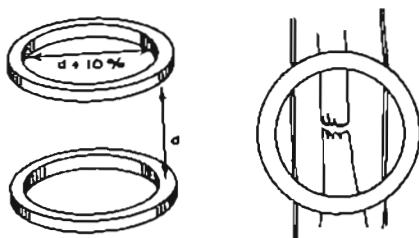


Figura 11. Diámetro de las bobinas y posición de éstas con respecto al trazo de fractura.

campo electromagnético se expande en el espacio; las bobinas se disponen entre sí de forma tal, que el campo magnético generado sea en ángulos rectos respecto a las caras de las bobinas, cruzando orthogonalmente a la dirección del hueso.

Este campo magnético (\vec{E}) tiene un promedio de 2 gauss, e induce en el tejido óseo un campo eléctrico (\vec{E}) con ángulos rectos a la dirección del campo magnético (figura 12). Como resultado de esto, fluye corriente en el hueso de forma parecida al de un elemento secundario de un transformador eléctrico. Como el voltaje inducido está determinado por el rango de las magnitudes del pulso, éstos se ajustan a que el *potencial pico* en los huesos quede entre 1 y 1.5 mv/cm.

Para medir este *potencial pico* utilizamos una bobina de prueba, la cual queda orthogonal a ambas bobinas que generan el campo; esa bobina tiene las mismas caracte-

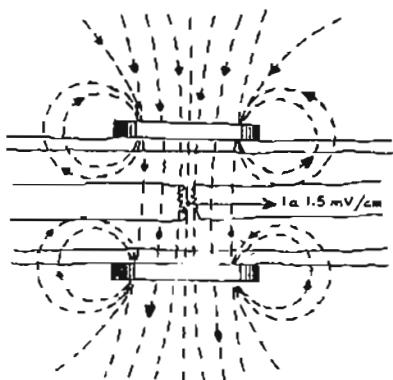


Figura 12. Radiación del campo electromagnético.

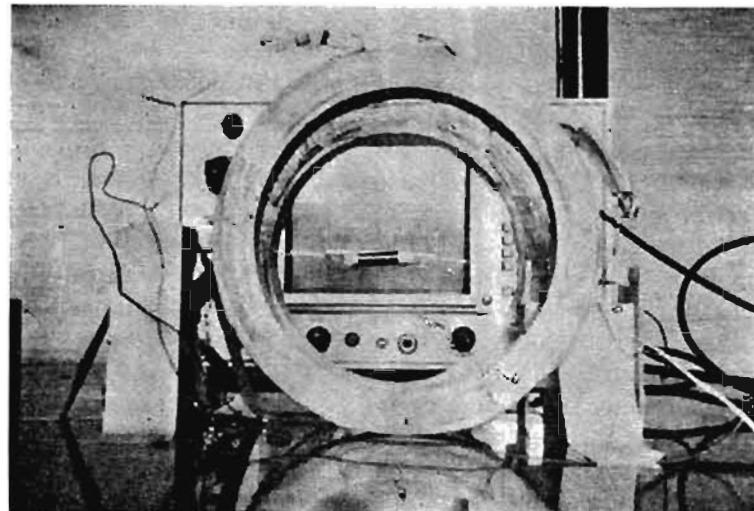


Figura 13. Medición del voltaje inducido.

rísticas y permeabilidad magnética que 1 cm de hueso vivo (figura 13).

La aplicación clínica del EOQM es muy sencilla y totalmente incruenta. Los pacientes pueden administrarse ellos mismos, durante la noche, el tratamiento en casa. El tiempo de estimulación es de 10 a 16 horas diarias por un periodo de 3 a 6 meses según la evolución (figura 14).

Conclusiones

Al igual que en otras especialidades médicas, el traumatólogo y ortopedista cuenta con un instrumento electrónico para el tratamiento de ciertas enfermedades.

Los métodos de estimulación eléctrica para provocar la osteogénesis, a pesar de que han sido ampliamente estudiados y actualmente aplicados en algunos países, en el resto del mundo son poco conocidos. Damos a conocer en este artículo los principios de funcionamiento fisiológico, bioquímico y electrónico de los prototipos UAP 8402 y UAP 8517, los cuales fueron totalmente diseñados y construidos en el Departamento de Semiconductores del



Figura 14. Paciente de 11 años con pseudartrosis congénita de tibia. Se le practicó cirugía con injerto óseo por tercera ocasión y simultáneamente se aplicó el EOQM UAP 8517. Curación en 4 meses.

ICUAP, con componentes de fácil adquisición en el mercado nacional, con el consecuente abatimiento de costos, además de per-

nitirnos avanzar en el logro de una tecnología propia.

Existe un método —poco conocido pero que ya comienza a aplicarse en México— de alargamiento de extremidades que presentan pérdida importante de hueso (infecciones, tumores, etcétera), técnica empleada desde hace muchos años por el maestro Ilizarov.

Entonces se cuenta con dos métodos de gran importancia que se podrían utilizar simultáneamente con los estudios previos de experimentación correspondiente), lo que abre una nueva perspectiva de tratamiento con alto porcentaje de curación, reduciendo la amputación de extremidades en forma por demás notable.

Es importante destacar que el estimulador óseo de campo electromagnético se puede aplicar sin inconvenientes en fracturas con osteomielitis (infección del hueso) activa supurada, incluso en aquellos pacientes que por presentar esta complicación son candidatos a amputación de la extremidad afectada. En estos casos el porcentaje de curación sigue siendo extraordinariamente elevado. Si a esto agregamos la facilidad de su aplicación, la ausencia de complicaciones y molestias (ya que es totalmente externo y la corriente inducida en el hueso no es percibida de manera subjetiva por el paciente), además de que el aparato puede ser reutilizado tantas veces como se deseé, hacen de este método un valioso auxiliar para el tratamiento traumatológico.

Por último, el manejo clínico experimentado de este dispositivo electrónico, podría llevar a su utilización no sólo en fracturas complicadas, sino también para acortar el tiempo normal de evolución de las fracturas, con el beneficio socio-económico correspondiente, por la disminución del número de horas de incapacidad que provoca.

Bibliografía

1. I. Ysuda, "Clinical orthopaedic and related research", *J. of Kioto Med. Sch.* 4: 395-406, 1953.
2. C. Bassett, "Biochemistry and physiology of bone", Academic Press, vol. 3, New York, 1971.
3. Z. Friedenberg, "The effect of direct current on bone", *Surg Gynec & Obstet.* 127: 97-102, 1968.
4. G. Brighton, "A multicenter study of the treatment of non-union with constant direct current", *The J. of Bone and Joint Surg.* 63: 1, 1981.
5. L. Méndez Bognanni, M. Calva Sánchez, A. Domínguez Barranco, D. Yi Salgado, S. Alcántara Iniesta, "Sistema para estimulación eléctrica de la regeneración ósea", *Rev. Mex. de Ing. Biomédica*, vol. V, núm. 1, pp. 195-200, sept.-dic., 1984.
6. Friedenberg, Roberts, Didiyan, Brighton, "Stimulation of fracture healing by direct current in the rabbit fibula", *The Journal of Bone and Joint Surgery*, vol. 53, núm. 7, pp. 1400-1408, oct. 1971.
7. Torben Essing Jorgensen, "The effect of electrical current on the healing time of crural fractu-
- res", *Acta Orthop. Scandinav.* 43, pp. 421-437, 1972.
8. F. Lechner, R. Ashcerl, W. Uraus, "Treatment of pseudarthroses with electrodynamic potentials of low frequency range", *Clinical Orthopaedics and Related Research*, núm. 161, pp. 71-181, nov.-dic., 1981.
9. Becker, Spadaro, Marino, "Clinical experiences with low intensity direct current stimulation of bone growth", *Clin. Orthop. and Rel. Res.*, núm. 124, pp. 75-83, mayo, 1977.
10. G.V.B. Cochran, "Implantation of strain gauges on bone *in vivo*", *J. Biomech.* 5, 1, p. 119, 1972.
11. A. Papaqui Tiro, S. Alcántara Iniesta, L. Méndez Bognanni, "Estimulación eléctrica para la regeneración ósea (EOCM)", *Rev. Mex. de Ing. Biomédica*, 7 (2); pp. 189-194, oct.-dic., 1986.
12. L.S. Bassett, G. Tzitzilalakis, C.A.L. Bassett, "An improved model for producing rapid disuse osteoporosis in the rat tibia", *Trans. J. Bone JT Surg.* 2, p. 109, 1978.

