

Merske značilnosti stereoloških metod za diagnosticiranje osteoporoze

The comparison of histomorphometric methods for diagnosing osteoporosis

Radko Komadina*

Ključne besede
osteoporoza – patologija
stegnenica zlomi
histološke tehnike

Key words
osteoporosis – pathology
femoral fractures
histological techniques

Izvleček. Stereološka analiza kostnine je invazivna diagnostična metoda za odkrivanje in spremljanje osteoporoze in drugih presnovnih bolezni kosti. Na preparatih kostnih rezin, ki niso bile dekalcinirane, so primerjali ročno, polavtomatsko in avtomatsko stereološko metodo. Zanesljivost ročne metode je bila 0,94, polavtomatske 0,91 in avtomatske 0,67. Glede na ročno metodo je bila veljavnost polavtomatske 0,85, avtomatske pa 0,99. Največjo natančnost je imela ročna metoda, vendar brez statistično značilnih razlik. Po gospodarnosti, ki je prikazana z indeksom ekonomičnosti, niso našli razlik med vsemi tremi metodami. Za histološko analizo kostnine je ročna metoda še vedno najprimernejša.

Abstract. The histomorphometric analysis represents invasive diagnostic method for osteoporosis and other metabolic bone diseases. The manual, semiautomatic and automatic histomorphometric method were compared by analysing the undecalcified bone samples. Validity of the manual method was 0.94, validity of the semiautomatic method was 0.91, validity of the automatic method was 0.67. Reliability of the semiautomatic method according to manual method as reference was 0.85, of the automatic method 0.99. The best result of accuracy was found in manual method, but was not statistically significant. In efficiency there were no statistically significant differences. The manual method proved with results of validity, reliability, accuracy and efficiency seems to be the superior to semiautomatic and automatic histomorphometric method for bone samples.

Uvod

Osteoporoza je bolezen, ki jo označujeta majhna kostna masa in mikroarhitekturne spremembe kostnega tkiva, kar vodi v večjo krhkost kosti in posledično večjo verjetnost za zlom kosti (1). Je najpogostejša presnovna bolezen kosti (2). Delimo jo na primarno (juvenilno, idiopatično in involutivno) ter sekundarno, ki nastane kot posledica drugih bolezni ali delovanja toksičnih snovi na kost (ob endokrinih boleznih, boleznih prebavil, boleznih veziva, boleznih hematopoietičnega sistema, zdravljenju s kortikosteroidi itd.). Pomemben vzrok sekundarne osteoporoze v travmatologiji je dolgotrajna imobilizacija.

Od vseh oblik je najpogostejša involutivna osteoporoza. Približno 10 let po menopavzi se pojavi tip I involutivne osteoporoze ali pomenopavzalna osteoporoza. 85 % bolnikov s tem tipom osteoporoze je ženskega spola. Za ta tip osteoporoze so značilni zlomi vretenc in distalnega dela koželjnice na tipičnem mestu (Collesova fraktura). Histološko je

*As. dr. Radko Komadina, dr. med., Travmatološki oddelek, Splošna bolnišnica Celje, Oblakova ulica 5, 3000 Celje.

značilna prizadetost spongiozne kosti, ki jo pripisujemo pomanjkanju estrogenov. Pri starejših ljudeh se pojavi tip II involutivne osteoporoze ali senilna osteoporoza. Enako pogosto prizadene moške in ženske. Za ta tip osteoporoze je tipičen zlom kosti v kolku po 70. letu starosti. Histološko je značilna involucija obeh komponent kostnega tkiva, stanjšana in porozna kortikalis in razredčene in stanjšane trabekule v spongiozi. Za njen nastanek sta pomembna dva mehanizma: manjša tvorba nove kosti in sekundarni hiperparatiroidizem (kot posledica slabšega privzema kalcija iz črevesja, slabšega delovanja ledvic z moteno hidroksilacijo 25-hidroksi-vitamina D v 1, 25-dihidroksi-vitamin D).

Osteoporozo uspešneje preprečimo, kot pa zdravimo že razvito bolezen. Zdravila za ohranjanje kostne mase delujejo kot pospeševalci tvorbe (rastni hormon, parathormon, natrijev fluorid) ali zaviralci razgradnje kostnine (kalcij, vitamin D, estrogeni, kalcitonin, bisfosfonati, anabolni steroidi) (5).

Osteoporozo dokazujemo na neinvaziven in invaziven način. Z laboratorijskimi preiskavami lahko zasledujemo tvorbo in razgradnjo kosti pri kostnih boleznih, kjer se oba procesa odvijata zelo izrazito. Pri osteoporozi potekata procesa počasi in so biokemični pokazatelji praviloma v mejah normale. Tvorbo kosti sicer zasledujemo z določanjem celotne serumske alkalne fosfataze, specifične kostne alkalne fosfataze in osteokalcina. Razgradnjo kosti zasledujemo z določanjem hidroksiprolina v urinu (sprošča se pri razgradnji kolagena), kalcija v urinu itd.

Z žarki različnih virov lahko kost presvetlimo in ocenjujemo ali merimo oslabitev žarka. Najpreprostejša je analiza nativnih rentgenogramov, vendar je zanesljiva rentgenska diagnostika osteoporoze možna šele, ko je kostna masa zmanjšana za 30 % (6). Najprimernejši so stranski posnetki prsno-ledvene hrbtenice (6). Na njih lahko računamo tudi hrbtenični indeks (indeks bikonkavnosti vretenca) in indeks hrbteničnih zlomov (6). Nekoč so iz ohranjenosti kompresijskih in tenzijskih trabekul na anteroposteriornem rentgenogramu proksimalnega dela stegenice merili Singhov indeks (7). Oba sistema trabekul, ki imata primarne in sekundarne trabekule, omejujeta Wardov trikotnik. To področje ima sorazmerno malo spongioze. Primarne kompresijske trabekule sestavljajo medialno stranico trikotnika, ki poteka od malega trohantra proti glavi stegenice. Primarne tenzijske trabekule potekajo polkrožno od glave ob zgornjem robu vratu proti zunanemu korteksu stegenice pod velikim trohantram. Sekundarne kompresijske trabekule potekajo od malega trohantra v lateralno-superiorni smeri proti velikemu trohantru in tvorijo tretjo stranico trikotnika. Med razvojem osteoporoze izginevajo trabekule po predvidljivem vzorcu. Najdlje ostanejo ohranjene primarne kompresijske trabekule. Določanje Singhovega indeksa je zelo subjektivno (8). Na drugi metakarpalni kosti so ocenjevali spremembo kostne mase z mikroradioskopijo. S količinskimi metodami, radiogrametrijo in radiodenzitometrijo, so bili rezultati bolj verodostojni (6). Danes imamo s količinsko računalniško tomografijo možnost natančno izmeriti kostno maso vretenca. Zaradi visoke doze sevanja in slabše ponovljivosti je metoda primerna predvsem za raziskovalne namene (6, 9).

Z enojno fotonsko absorpcijometrijo izmerimo oslabitev žarkov gama pri prehodu skozi kost. Različna debelina mehkih tkiv moti pri meritvi, tako da je metoda primerna za

merjenje dlančnic, pogačice in petnice, za kolk in hrbtenico pa ne. Motnji, ki jo povzroča različna debelina mehkih kosti, so se izoginili tako, da so za merjenje uporabili sevanje z dvema različnima energijama – dvojna fotonska absorpciometrija. Leta 1986 pa so namesto izotopa kot vir sevanja začeli uporabljati rentgensko cev, ki seva fotone dveh energij. Prednosti te kvantitativne digitalne radiografije (QDR) so naslednje: ni potrebno obnavljati vira sevanja, doza sevanja je še manjša, pregled je krajši in cenejši (10). S QDR je meja za določitev osteoporoze postavljena arbitrarno – dve in pol standardni deviaciji pod povprečjem glede na starost in spol preiskovanca. Zaradi vse večje ponovljivosti, natančnosti, pa tudi cene in zanemarljive doze sevanja, je QDR primerna tudi za masovno preventivno presejevanje (12–19).

Aparati, ki za merjenje mase petnice in pogačice uporabljajo ultrazvok, so imeli do sedaj slabo ponovljivost. Moti različna debelina mehkih tkiv okoli kosti, pa tudi kosti so nepravilnih geometrijskih oblik. Razvoj te tehnologije je zaželen zaradi neinvazivnosti ultrazvoka (11).

Z invazivno metodo pregledamo vzorce kostnega tkiva. S stereološko analizo vzorca kostnega tkiva, ki ni bilo dekalcinirano, količinsko in kakovostno ocenimo kostno maso, spremenljivke tvorbe in razgradnje kostnine, s spontano fluorescirajočim tetraciklinom pa lahko opazujemo tudi dinamiko pregrajevanja. Vzorce za invazivno diagnostiko jemljemo rutinsko iz črevnice, ki je lahko dostopna igelni biopsiji. Osnovna pomanjkljivost metode je enaka kot pri različnih absorpciometrijah: osteoporoza se pojavlja različno po raznih delih skeleta (20, 21). Seveda pa je histološka analiza najpomembnejša za diagnostiko presnovnih bolezni kosti.

Naša raziskava

Zanimalo nas je, ali večja avtomatizacija stereološke analize kostnine vpliva na kakovost rezultatov. Zato smo primerjali merske značilnosti povsem ročne, polavtomatske in povsem avtomatske stereološke analize kostnine. Ročna metoda nam je služila kot referenčna.

Metode

Analizirali smo histološke preparate kostnine, ki ni bila dekalcinirana, na ročni, polavtomatski in avtomatski način. Uporabili smo preparate kostnine 29 preiskovancev z zlomom osteoporotično spremenjenega proksimalnega dela stegenice. Velikost vzorca smo preverili (22). Niso nas zanimale absolutne vrednosti stereološke analize, temveč primerjava rezultatov pri istih preparatih, dobljenih z vsako od treh metod.

Vzorce kostnine smo jemali med osteosintezo pri bolnikih, starih med 65 in 80 let, pri katerih je zaradi osteoporoze prišlo do zloma proksimalnega dela stegenice. Z mesta, kjer se izdolbe vrat stegenice za vstavitev osteosintetskega materiala, smo med operacijo jemali kortikospongiozne količke kostnine z votlim svedrom premera 3,5 mm. Stereološke značilnosti spongioze pri različnih tipih zlomov proksimalne stegenice ne sodijo v obravnavo pričujočega poročila.

Kortikospogiozne količke smo takoj shranili v 70 % hladnem alkoholu. Na Inštitutu za patologijo Medicinske fakultete v Ljubljani so naredili preparate kosti, ki ni bila dekalcinirana. Najprej je bila narejena dehidracija s 96 % in 100 % alkoholom, nato razmastitev s ksilenom. Sledilo je prepajanje z metilmetakrilatno smolo in polimerizacija pri 37 °C. Tri do štiri mikrometre debele rezine so dobili z rezanjem na Reichert-Jungovem mikrotomu za trda tkiva. Preparati so bili barvani na tri načine: trikromno po Goldnerju, Movattu in von Kossi. Pri prvem načinu se kostnina barva zeleno, pri drugem rumeno, pri tretjem, srebrenju, pa črno. Osteoid je pri vseh treh barvanjih rdeč. Za analizo smo uporabili zeleno-rdeče preparate, barvane po Goldnerju, ker so bili kontrasti najizrazitejši (23).

Stereološka analiza

Ročna metoda

Z ročno stereološko analizo smo merili prostorninsko gostoto kostnine v trabekulah (V_{VK}), površinsko gostoto kostnine v trabekulah (S_{VK}) in količnik površinske ter prostorninske gostote – specifično površinsko gostoto kostnine v trabekulah (S_{VK}/V_{VK}). Osteoid smo merili prav tako s prostorninsko gostoto (V_{VOS}), površinsko gostoto (S_{VOS}) in specifično površinsko gostoto (S_{VOS}/V_{VOS}). Standardni črtni testni sistem s 77 točkami je bil glede na velikost merjenih objektov najprimernejši. Z ulomkom med prostorninsko gostoto osteoida in vsoto volumske gostote osteoida ter kostnine v trabekulah smo izračunali delež osteoida v trabekulah ($V_{VOS}/(V_{VK} + V_{VOS})$).

Polavtomatska metoda

Na polavtomatskem računalniškem merskem sistemu IBAS smo merili V_{VK} , S_{VK} , S_{VK}/V_{VK} , V_{VOS} , S_{VOS} , S_{VOS}/V_{VOS} in $V_{VOS}/(V_{VK} + V_{VOS})$. Meritve se izvedejo tako, da s svetlobnim pisalom na računalniškem ekranu obkrožimo robove lika, katerega obseg ali dolžino merimo.

Avtomatska metoda

Z avtomatskim merskim sistemom merimo ploščino lika ustrezne barve. Valovno dolžino te barve računalniku natančno definiramo. Ker se mozgovni prostor barva podobno kot osteoid, in ker je v naših vzorcih osteoid prisoten v zelo majhnih količinah, ga z avtomatsko metodo nismo mogli meriti. Z njo smo uspeli meriti le trabekule (V_{VK} , S_{VK} , S_{VK}/V_{VK}).

Merske značilnosti stereoloških metod

Rezultate meritev V_{VK} , S_{VK} , S_{VK}/V_{VK} , izmerjenih na tri načine, smo med seboj primerjali po merskih značilnostih: veljavnosti, zanesljivosti, natančnosti in gospodarnosti (24, 25).

Veljavnost nam pove, ali so rezultati, dobljeni z metodo, v dovolj visoki korelaciji z rezultati standardne metode. Da je metoda veljavna, mora biti korelacijski koeficient večji od 0,9.

Zanesljivost (ponovljivost) nam pove, v kolikšni meri se rezultati metode pri ponovnih merjenjih istega objekta skladajo. Če je metoda zanesljiva, mora biti indeks korelacije čim bližje 1.

Natančnost nam pove, kako majhne razlike preučevane spremenljivke lahko s testom še razlikujemo pri določeni povečavi, velikosti vzorca in intervalu zaupanja. Računamo jo kot inverzno vrednost relativne standardne napake (RSE), ki jo dobimo tako, da standardno napako delimo z aritmetično sredino. RSE naj bi bila manjša od 5%.

Gospodarnost nam pove, kakšno natančnost dosežemo z metodo v določenem času. Z večanjem natančnosti posameznih meritev pridemo v območje, ko postanejo stroški in čas raziskave neracionalno veliki. Zato sta Kališnik in Pajerjeva definirala indeks ekonomičnosti (IE). Predstavlja ga obratna vrednost zmnožka RSE in kvadratnega korena časa, potrebnega za izvedbo meritve. Z IE lahko primerjamo gospodarnost različnih metod na istem objektu in pri isti velikosti vzorca (24).

Izsledki

Zanesljivost

Največjo zanesljivost (tabela 1) smo izračunali pri ročni metodi. Ugoden rezultat ima tudi polavtomatska metoda. Avtomatsko metodo ocenjujemo kot slabo ponovljivo.

Tabela 1. Zanesljivost (ponovljivost).

Metoda	Pearsonov korelacijski koeficient
Ročna	0,94
Polavtomatska	0,91
Avtomatska	0,67

Veljavnost

V primerjavi z ročno metodo se je avtomatska metoda izkazala za veljavnejšo kot polavtomatska (tabela 2).

Tabela 2. Veljavnost.

Metoda	Pearsonov korelacijski koeficient
Polavtomatska	0,851
Avtomatska	0,998

Natančnost

Vrednosti RSE so pri ročni metodi najnižje, vendar so vse večje od 5 % (tabela 3).

Tabela 3. Natančnost. RSE – relativna standardna napaka.

Metoda	Inverzna vrednost RSE
Ročna	0,08
Polavtomatska	0,11
Avtomatska	0,12

Gospodarnost

Ker so vrednosti RSE največje pri avtomatski metodi, se indeks ekonomičnosti kljub krajšim časom, porabljenim za meritve, bistveno ne razlikuje od indeksa ekonomičnosti ročne in polavtomatske metode (tabela 4).

Tabela 4. *Gospodarnost.*

Metoda	Indeks ekonomičnosti
Ročna	0,85
Polavtomatska	0,67
Avtomatska	0,87

Razpravljanje

Histomorfometrična analiza vzorcev kosti, ki ni bila dekalcinirana, je edina metoda za neposreden študij normalnega in patološko spremenjenega kostnega tkiva. Po eni strani omogoča količinsko analizo morfoloških in presnovnih sprememb na bolni kosti, tvorbe in razgradnje, po drugi strani pa omogoča natančno spremljanje uspehov zdravljenja. Vzoredno z razvojem metode, ki se je postopno avtomatizirala, se je večalo tudi poznavanje tkivnih struktur in njihove presnove (26, 27).

Za študij statičnih in dinamičnih parametrov kostne presnove je bilo treba razviti tehniko izdelave preparatov kosti, ki ni bila dekalcinirana. Ročno štetje točk in intersekcij na stereoloških testnih sistemih je možno nadomestiti z računalnikom. Tako pri polavtomatski metodi s svetlobnim pisalom na računalniškem zaslonu obkrožamo like, katerih obsege in ploščine računalnik izračuna, pri avtomatski metodi pa računalnik sam izračuna ploščino likov, katerih barvo smo mu določili. Pri obeh metodah stroj odloča namesto človeka in šteje tudi tisto, kar bi oko pri ročni metodi spoznalo kot artefakt, ki se je pobarval podobno kot faza, ki jo merimo, kot del trabekule, ki sega v vidno polje iz sosednjega ipd. Pri polavtomatski metodi so vzroki napak nenatančni gibi roke s svetlobnim pisalom, zlasti pri majhni povečavi ali pri majhnih strukturah v vidnem polju. Slabo obarvan preparat pri avtomatski metodi lahko povzroči lažno velike rezultate zaradi podobnih barvnih odtenkov posameznih faz, ali pa dele, odlomljene s trabekul, upošteva pri izračunu in dobimo lažno majhno povprečje.

Za računanje strukturalnih značilnosti trabekul sta najprimernejši ročna in avtomatska metoda. To smo z visoko korelacijo veljavnosti 0,99 potrdili tudi v naši analizi. Korelacija med ročno in polavtomatsko analizo v naši analizi (veljavnost 0,85) odraža nenatančnost preiskovalčeve roke, ko s svetlobnim pisalom obkroža merjeno strukturo. Tudi drugi avtorji je ne priporočajo (28). Za analizo statičnih presnovnih karakteristik merimo osteoid in štejemo celice. Te strukture se zaradi majhnosti in podobnosti barvanja ne dajo meriti z avtomatsko metodo. Dolžine stičnih črt se najlažje merijo s pomočjo svetlobnega pisala. Za merjenje majhnih površin osteoida je ročna metoda še vedno najbolj natančna, čeprav počasnejša.

Ugotovili smo dobro zanesljivost (ponovljivost) ročne in polavtomatske metode. Nizek rezultat ponovljivosti pri avtomatski metodi pripisujemo neenakomernemu barvanju preparatov, ki so se med seboj razlikovali po intenzivnosti barv in nehomogenih poljih.

Sklep

Ročna metoda ima po naših izračunih največjo natančnost. Ob upoštevanju časa, potrebnega za meritve, je tudi najbolj gospodarna. Ob uporabi avtomatske obdelave rezultatov ni zamudnejša od polavtomatske in avtomatske metode merjenja, je natančnejša in najbolj ponovljiva. Zavedamo se, da je na naše rezultate lahko vplivala velikost vzorca, vendar so skladni z rezultati drugih avtorjev (23, 29).

Zahvala

Zahvaljujem se mentorju prof. dr. Miroslavu Kališniku za vsestransko pomoč pri izdelavi doktorske disertacije, katere del so tukaj objavljeni rezultati.

Literatura

1. Dempster DW, Lindsay R. Pathogenesis of Osteoporosis. *Lancet* 1993; 341: 797–801.
2. Bartl R, Frisch B. Osteoporosis. In: Bartl, Frisch, eds. *Biopsy of bone in internal medicine*. Dordrecht, Boston, London: Kluwer academic publishers, 1993: 98–115.
3. Kocijančič A. Klinične oblike osteoporoze. In: Kocijančič, ed. *Osteoporozna*. Ljubljana: Posebne edicije Feniks, 1989; 26–9.
4. Cooper C. Bone mass throughout life. In: Francis, ed. *Osteoporosis, pathogenesis and management*. Dordrecht, Boston, London: Kluwer academic publishers, 1990: 1–26.
5. Gallagher JC. Drug Therapy. In: Riggs, Melton, eds. *Osteoporosis*. Philadelphia, New York: Lippincott, Raven publishers, 1995: 371–90.
6. Jevtić V. Rentgenska diagnostika osteoporoze. In: Kocijančič A, ed. *Osteoporozna*. Ljubljana: Posebne edicije Feniks, 1989: 42–9.
7. Posinkovič B. *Prijelom vrata bedrene kosti*. Zagreb: Školska knjiga, 1985: 46–53.
8. Van Kuijk C, Genant HK. Radiological Diagnosis. In: Riggs, Melton, eds. *Osteoporosis*. Philadelphia, New York: Lippincott, Raven publishers, 1995: 249–74.
9. Faulkner KG, Gluer CC, Grampp S, et al. Cross-calibration of liquid and solid QCT calibration standards: correction to the UCSF normative data. *Osteoporosis Int* 1993; 3: 36–42.
10. Johnston CC, Melton LJ. Bone Densitometry. In: Riggs, Melton, eds. *Osteoporosis*. Philadelphia, New York: Lippincott, Raven publishers, 1995: 275–98.
11. Hans D, Dargent-Molina P, Schott AM, et al. Ultrasonographic heel measurements to predict hip fracture in elderly women: the EPIDOS prospective study. *Lancet* 1996; 384: 511–4.
12. Henck A, Block J, Gluer CC, et al. Mild versus definite osteoporosis comparison of bone densitometry techniques using different statistical models. *J Bone Miner Res* 1989; 4: 891–900.
13. Wasnich RD, Ross PD, Davis JW, et al. A comparison of single and multi-site BMC measurements for assessment of spine fracture probability. *J Nucl Med* 1989; 30: 1166–71.
14. Melton LJ, Atkinson EJ, O'Fallon WM, et al. Long-term fracture risk prediction with bone mineral measurements made at various skeletal sites. *J Bone Miner Res* 1991; Suppl 6: 136.
15. Lilley J, Walters BG, Heath DA, et al. Comparison and investigation of bone mineral density in opposing femora by dual-energy x-ray absorptiometry. *Osteoporosis Int* 1992; 2: 274–8.
16. Pocock NA, Sambrook PN, Nguyen T, et al. Assessment of spinal and femoral bone density by dual x-ray absorptiometry: comparison of Lunar and Hologic instruments. *J Bone Miner Res* 1992; 7: 1081–4.

17. Cummings SR, Black DM, Nevitt MC, et al. Bone density at various sites for prediction of hip fractures. *Lancet* 1993; 341: 72–5.
18. Felsenberg D, Kalender W, Ruegsegger P. Osteodensitometrische Untersuchungsverfahren. *Osteologie* 1993; 3: 123–39.
19. Lai K, Reucken M, Drinkwater BL, et al. Site of bone density measurement may affect therapy decision. *Calcif Tissue* 1993; 53: 225–8.
20. Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FA, et al. Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols and units. Report of the American Society of Bone and Mineral Research histomorphometry nomenclature committee. *J Bone Miner Res* 1987; 6: 595–611.
21. Ferluga D, Perković T. Histomorfologija osteoporoze v nedekalciniranih biopsijskih vzorcih črevnice. In: Kocijančič A, ed. *Osteoporoza*. Ljubljana: Posebne edicije Feniks, 1989: 42–9.
22. Kališnik M. Temelji stereologije. *Stereol Jugosl* 1982; 3 Suppl 2: 99–102.
23. Bartl R, Frisch B. Histomorphometry In: Bartl, Frisch, ed. *Biopsy of bone in internal medicine*. Dordrecht, Boston, London: Kluwer academic publishers, 1993: 61–5.
24. Kališnik M, Pajer Z. O merskih značilnostih stereoloških testov, zlasti o gospodarnosti. *Stereol Jugosl* 1981; 3: 21–30.
25. Kališnik M. Temelji stereologije. *Stereol Jugosl* 1982; 3 Suppl 2: 103–4.
26. Olah AJ. Bau und Funktion des Knochens: Physiologische und pathologische Aspekte. *Therapie Woche* 1976; 26: 6194–210.
27. Xipell JM, Brown DJ. Histology of normal bone – a computerized study in the iliac crest. *Pathology* 1979; 11: 235–40.
28. Chavassieux PM, Arlot ME, Meunier PJ. Intermethod variation in bone histomorphometry: comparison between manual and computerized methods applied to iliac bone biopsies. *Bone* 1985; 6: 221–9.
29. Schnitzler CM, Mesquita JM, Wane L. Bone histomorphometry of the iliac crest, and spinal fracture, prevalence in atrophic and hipertrophic osteoarthritis of the hip. *Osteoporosis Int* 1992; 2: 186–94.

Prispelo 7. 2. 1997