



Taymouri F¹, Nogués X¹, Güerri-Fernández R¹, Mellibovsky L¹, Díez-Pérez A¹, Garcia-Giralt N¹, Ovejero D^{1,2}

¹ Grupo de Investigación Musculoesquelética. IMIM (Instituto Hospital del Mar de Investigaciones Médicas). Centro de Investigación Biomédica en Red de Fragilidad y Envejecimiento Saludable (CIBERFES). Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona (España)

² Consejo Nacional de Investigación. Instituto de Fisiología Clínica. Lecce (Italia)

La resistencia mecánica tisular ósea es independiente de la edad en individuos sanos

Correspondencia: Diana Ovejero Crespo - Unidad de Investigación Muculoesquelética - Instituto de Investigaciones Médicas del Hospital del Mar (IMIM) - C/Dr. Aiguader, 88 (Habitación 200.10) - 08003 Barcelona (España)
Correo electrónico: dianaovejero@hotmail.com

Fecha de recepción: 19/06/2018

Fecha de aceptación: 27/07/2018

Trabajo remitido como prestación de la beca FEIOMM de Investigación Genética 2010.

Resumen

Objetivo: La microindentación de impacto (MII) es una técnica que permite medir *in vivo* la resistencia tisular mecánica ósea. Se ha demostrado que la MII proporciona información útil sobre la evaluación de enfermedades esqueléticas, pero se desconoce el efecto que la edad puede ejercer sobre la propiedad ósea medida. El objetivo del estudio es analizar la relación entre la edad y la MII.

Material y métodos: El índice de Resistencia Mineral Ósea (BMSi), la variable de medición de MII, se midió en 69 mujeres (mediana de edad: 49 años; rango: 30-81 años) y 19 varones (mediana de edad: 34 años; rango: 24-98 años) sanos. La correlación entre BMSi y la edad se analizó mediante regresión lineal. La asociación entre BMSi y edad se evaluó mediante ANOVA tras ajustar por el índice de masa corporal. El posible efecto de depleción estrogénica postmenopáusica sobre el BMSi se estudió comparando el subgrupo de mujeres más jóvenes con las más mayores mediante la prueba t de Student.

Resultados: Los análisis de regresión lineal mostraron que la BMSi no se correlaciona con la edad en varones ($R^2=0,0016$, $p=0,74$) ni en mujeres ($R^2=0,076$, $p=0,25$). Asimismo, el análisis ajustado de ANOVA no demostró asociación entre la BMSi y la edad ni en varones ($p=0,78$) ni en mujeres ($p=0,73$). Finalmente, no se encontraron diferencias entre la BMSi entre las mujeres más jóvenes y las mayores ($p=0,8$).

Conclusiones: La resistencia tisular mecánica ósea en individuos sanos es independiente a la edad y a la depleción estrogénica postmenopáusica.

Palabras clave: *microindentación de impacto, índice de Resistencia Mineral Ósea (BMSi).*



Bone tissue mechanical strength is independent of age in healthy individuals

Summary

Objective: Impact microindentation (IMI) is a technique that allows the measurement of mechanical bone tissue resistance *in vivo*. IMI has proven to provide useful information on the evaluation of skeletal diseases, but the effect of age on the bone property that is measured by this technique is unknown. This study aims to analyze the relationship between age and MIH.

Material and methods: Bone Material Strength index (BMSi), IMI's output variable, was measured in 69 healthy women (median age: 49 years, range: 30-81 years) and 19 healthy men (median age: 34 years, range: 24-98 years). The correlation between BMSi and age was analyzed by linear regression. The association between BMSi and age was evaluated by ANOVA after adjusting for body mass index. The potential effect of postmenopausal estrogenic depletion on BMSi was studied by comparing the younger vs the older subset of women through a t-student test.

Results: Linear regression analysis showed that BMSi was not correlated with age in either men ($R^2=0.0016$, $p=0.74$) or women ($R^2=0.076$, $p=0.25$). Similarly, the BMI-adjusted ANOVA model revealed a lack of association of BMSi with age in men ($p=0.78$) and women ($p=0.73$). Finally, there were not significant differences on BMSi detected between the younger and the older subset of women ($p=0.8$).

Conclusions: Bone tissue mechanical resistance in healthy individuals is independent of age and postmenopausal estrogenic depletion.

Key words: *impact microindentation, Bone Material Strength index (BMSi).*

Introducción

Las fracturas osteoporóticas representan un grave problema de salud pública dada su elevada prevalencia y enorme impacto en términos de morbilidad, mortalidad y coste económico¹. Consecuentemente, existe un gran interés en entender la fisiopatología subyacente de la fragilidad ósea, la cual, desde un punto de vista mecánico, está determinada por la resistencia ósea. La resistencia ósea, a su vez, proviene de la integración de tres componentes: la cantidad mineral ósea, la arquitectura ósea, y las propiedades materiales del hueso.

La cantidad mineral del hueso es medida habitualmente mediante la densitometría ósea (DXA), la cual representa el método más utilizado y estandarizado para la evaluación de la masa ósea y del riesgo de fractura². La arquitectura ósea, tanto a nivel micro- como macroscópico, se examina mediante diferentes técnicas de imagen, como la tomografía cuantitativa periférica de alta resolución, la resonancia magnética ósea, y la más accesible *Trabecular Bone Score*³, entre otras. Sin embargo, las propiedades materiales del hueso son difícilmente evaluables debido a su elevada complejidad que se refleja en sus múltiples constituyentes incluyendo las proteínas no colágenas, la cristalinidad, la hidratación del tejido óseo, y las características de la mineralización y del colágeno, entre otros^{4,5}. Dado que, además, se han requerido muestras de tejido óseo para su análisis, el estudio de estas propiedades ha estado tradicionalmente restringido a unos pocos centros especializados en Biomecánica.

La microindentación se ha introducido como una técnica capaz de medir las propiedades materiales del hueso de forma fácil y no invasiva. No obstante, cabe resaltar que aún no se ha determinado la propiedad específicamente medida por lo que por el momento se considera que evalúa la

resistencia mecánica del hueso de manera global. La técnica se basa en la medición de la distancia de penetración de una aguja en la cortical del hueso como reflejo de su resistencia mecánica⁶. El procedimiento se realiza habitualmente en la cara antero-medial de la tibia de una forma práctica, segura e indolora⁷. Actualmente existen 2 modalidades de microindentación clínica: la microindentación cíclica, realizada con el instrumento BioDent® (Active Life Scientific Inc., Santa Bárbara, EE.UU.) y la microindentación de impacto (MII), realizada con el instrumento OsteoProbe® (Active Life Scientific Inc., Santa Bárbara, EE.UU.). Diversos estudios clínicos han demostrado la capacidad de proporcionar información relevante sobre la resistencia ósea y el riesgo de fractura con ambas modalidades^{6,8}. No obstante, dada su mayor manejabilidad, el OsteoProbe® ha reemplazado al BioDent® en los estudios clínicos. A pesar de su creciente uso, todavía quedan muchas cuestiones básicas no resueltas alrededor de la implementación de la MII, incluyendo el efecto de la edad sobre las propiedades materiales óseas. Por este motivo, en el presente estudio se examinó la influencia de la edad sobre la resistencia mecánica tisular ósea en una cohorte de mujeres y varones sanos.

Materiales y métodos

Participantes

Se reclutaron voluntarios sanos mayores de 18 años de forma consecutiva procedentes de las consultas externas de Medicina Interna sin patologías relacionadas con el metabolismo óseo.

Se excluyeron del estudio aquellos individuos con los siguientes criterios:

- Antecedentes de fracturas por fragilidad o fracturas traumáticas en la tibia.



- Antecedentes de enfermedades óseas primarias (incluyendo la osteoporosis), enfermedades óseas secundarias, deformidades en las extremidades inferiores de origen congénito o adquirido, y metástasis ósea.

- Historial de diabetes *mellitus*, enfermedad renal crónica e insuficiencia hepática grave.

- Tratamiento previo o concurrente con glucocorticoides, inhibidores de la aromatasa, terapia de privación androgénica, quimioterapia y agentes antirresortivos u osteoformadores (bifosfonatos, teriparatida, denosumab, ranelato de estroncio y moduladores selectivos del receptor de estrógeno).

Se midió la altura y el peso de los participantes para calcular el índice de masa corporal (IMC, kg/m²).

El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Parque de Salud Mar y se obtuvo el consentimiento informado por escrito de todos los participantes.

Microindentación de impacto

La microindentación de impacto (MII) se evaluó mediante el OsteoProbe®, un instrumento de mano que consiste en un dispositivo con un mecanismo de impacto, una sonda desechable con una punta cónica (radio de nitidez de la punta: <10 µm) y un transductor de desplazamiento. Los aspectos del procedimiento han sido descritos de forma detallada con anterioridad⁷. Resumiendo, previamente a la microindentación se aplica un anestésico local (mepivacaína al 2%) en la parte anteromedial de la tibia no dominante. Posteriormente, la sonda se inserta perpendicularmente a la cortical ósea en la región anestesiada hasta alcanzar la superficie del hueso. El dispositivo se comprime lentamente hasta que alcanza una resistencia de precarga de 10 Newtons (N), después de lo cual se activa automáticamente una carga de impacto de 30 N. El transductor de desplazamiento mide la profundidad de la indentación. El operador tiene la capacidad de eliminar las mediciones que considera erróneas.

Después de 8 indentaciones válidas separadas por aproximadamente 2 mm, se realizan 5 indentaciones adicionales con la misma sonda en un bloque de polimetilmetacrilato (PMMA) para la calibración. El valor obtenido en la MII es el índice

de Resistencia Mineral Ósea (BMSi, del inglés *Bone Material Strength index*), que se define como 100 veces la relación entre la media armónica de la distancia de las 8 indentaciones óseas y la de las 5 indentaciones en el bloque de PMMA. Nueve operadores diferentes con un nivel de experiencia en la técnica similar realizaron las mediciones en el presente estudio.

Análisis estadístico

Se realizaron análisis separados para mujeres y varones. Los valores descriptivos se muestran utilizando media y desviación estándar, así como mediana y rango total, según corresponda. Se representó la correlación entre edad y BMSi mediante una regresión lineal, y se evaluó su asociación con una ANOVA ajustando por IMC. Debido a la falta de información clínica sobre el estado menstrual de las participantes, se analizó el potencial efecto de la privación de estrógenos en la resistencia tisular mecánica del tejido óseo comparando la BMSi de mujeres entre 20-39 años (muy probablemente premenopáusicas) con mujeres ≥60 años (muy probablemente postmenopáusicas) mediante la prueba t de Student.

Las figuras del estudio se obtuvieron a través del programa Prism 7 (GraphPad Software, La Jolla, California, EE.UU.). Los análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS versión 23 (IBM Corp®, Armonk, Nueva York, EE.UU.), aceptando como significativos los resultados con p<0,05.

Resultados

Para el estudio se reclutaron 69 mujeres y 19 varones de origen caucásico. Las características de los participantes y las mediciones de BMSi se exponen en la tabla 1. El coeficiente de variación interoperador fue menor del 5%.

Los análisis de regresión lineal mostraron que la BMSi no se correlaciona con la edad ni en mujeres (R²=0,076, p=0,25) ni en varones (R²=0,0016, p=0,74) (Figura 1). Asimismo, no se detectaron asociaciones significativas entre la BMSi y la edad en el análisis de ANOVA ajustado por IMC ni en mujeres (p=0,73) ni en varones (p=0,78). Finalmente, no se observaron diferencias significativas en el BMSi entre el subgrupo de mujeres de 20-39 años y el de más de 60 años (p=0,8) (Figura 2).

Tabla 1. Características de los participantes

	Mujeres (n=69)	Hombres (n=19)
Edad, años (mediana, rango)	49, 30-81	34, 24-98
IMC, kg/m ² (media ± DE)	24,3±4,5	24,6±3,1
BMSi (media ± DE)	82±7,4	88±7,6

IMC: índice de masa corporal; DE: desviación estándar; BMSi: índice de Resistencia Mineral Ósea.



Figura 1. Análisis de regresión lineal realizado para evaluar la correlación entre el índice de Resistencia Mineral Ósea (BMSi) y edad en mujeres y hombres sanos

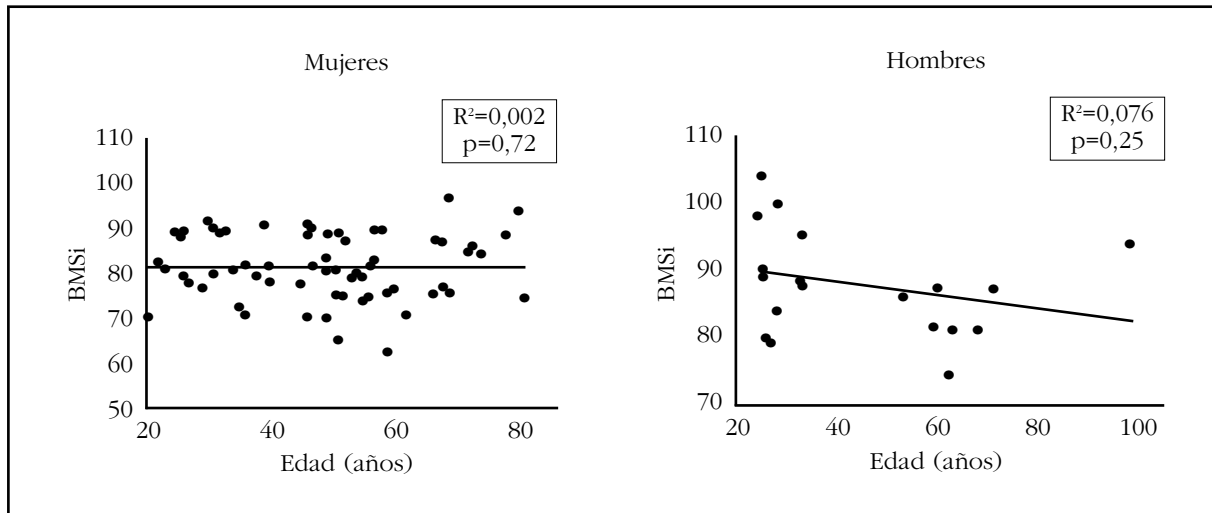
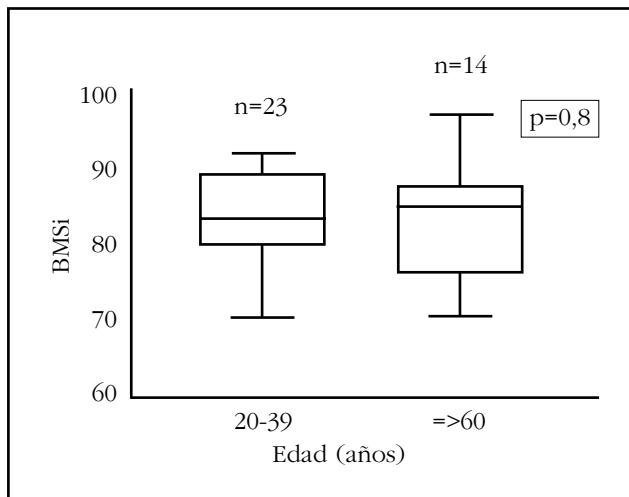


Figura 2. T-test realizado para comparar el índice de Resistencia Mineral Ósea (BMSi) entre mujeres de 20-39 años y mujeres de >60 años como medida indirecta del estatus pre y postmenopáusico, respectivamente



Discusión

En el presente estudio se ha evaluado la influencia de la edad en la resistencia mecánica del tejido óseo medida mediante MII en una cohorte de mujeres y varones sanos. Los resultados indican que la resistencia del tejido óseo no está determinada por la edad ni en mujeres ni en varones, y que por lo tanto, no se ve afectada por el envejecimiento. Además, el hecho de no encontrar diferencias en la BMSi entre el subconjunto de mujeres más jóvenes frente al subconjunto de mujeres más mayores indica que la depleción de estrógenos que acompaña a la menopausia no ejerce un efecto significativo sobre la resistencia mecánica del tejido óseo.

La microindentación ósea se ha incorporado como una nueva herramienta prometedora para evaluar la resistencia mecánica ósea en individuos vivos⁶⁻⁸. Aunque todavía no está claro cuáles son

las propiedades físicas específicamente medidas, varios estudios clínicos han revelado que esta técnica tiene una buena capacidad discriminante entre pacientes con y sin fracturas por fragilidad⁹⁻¹¹, si bien es cierto que hay estudios en poblaciones geriátricas con fracturas osteoporóticas que muestran resultados discrepantes¹².

Las mediciones que resultan en un BMSi alterado parecen ser especialmente informativas en aquellas condiciones asociadas con un mayor riesgo de fractura que no se explican por valores anormales de DMO¹³⁻¹⁶.

Dado el creciente uso de la MII como una técnica complementaria para la evaluación de la salud ósea en la investigación clínica y su potencial función en el futuro en la práctica clínica, es imperativo aclarar cuáles son los efectos de los factores fisiológicos, como la edad, sobre la resistencia mecánica del tejido óseo.

Los resultados de nuestro estudio indican que la BMSi no se ve significativamente afectada por el envejecimiento o la depleción estrogénica. De acuerdo con nuestros hallazgos, Mirzaali MJ, *et al.* observaron mediante estudios micromecánicos en hueso de cadáver, que las propiedades de microindentación en ancianos eran constantes con la edad¹⁷. Por el contrario, es conocido que el envejecimiento y la depleción estrogénica ejercen un efecto negativo sobre la DMO y la arquitectura ósea^{18,19}. Esto refuerza la noción de que la técnica de la microindentación mide una característica muy concreta de la resistencia ósea o calidad ósea completamente diferente al resto de técnicas disponibles hasta ahora. Se especula que la microindentación provoca la separación de las proteínas pegamentosas (del inglés, *protein-based "glue"*) a las que se les atribuye la función de mantener unidas las fibrillas de colágeno mineralizadas, propiedad que constituiría la primera barrera de resistencia a la fractura²⁰.



En la actualidad, se postula que la resistencia tisular del tejido óseo está genéticamente determinada, pero, al mismo tiempo, estudios clínicos muestran que puede verse negativamente influenciada por factores no genéticos, como un control glucémico deficiente^{13,15,21}, un exceso de tejido adiposo local¹⁶, tratamiento con glucocorticoides²², exceso de hormona de crecimiento²³, enfermedad renal crónica^{24,25} e infección por VIH²⁶. Además, alteraciones en ciertas vías de señalización y en el almacenamiento intracelular de lípidos también parecen afectar la resistencia mecánica del tejido óseo como se ha observado en estudios sobre las enfermedades de Camuratti-Englemann²⁷ y Gaucher tipo 1²⁸, respectivamente.

Nuestro estudio tiene varias limitaciones. Primero, el número reducido de sujetos incluidos en el estudio limita la generalización de nuestros hallazgos. Otra limitación es que aún no se conocen completamente los factores que pueden afectar la resistencia mecánica del tejido óseo y, por lo tanto, dichos factores no se han introducido como covariables en el modelo estadístico para el ajuste del factor de confusión. Esto se ha intentado compensar mediante los estrictos criterios de exclusión utilizados en el momento del reclutamiento de los individuos y así controlar la posible heterogeneidad de la cohorte estudiada. Otra limitación reside en el hecho de que esta técnica se realiza exclusivamente en el hueso cortical de la tibia anteromedial, por lo que es discutible la generalización de los resultados de BMSi a otras localizaciones esqueléticas. No obstante, pensamos que los valores obtenidos mediante la microindentación en la tibia reflejan la resistencia mecánica del hueso a nivel global, ya que estudios clínicos han demostrado una correlación inversa entre los valores de BMSi y la incidencia de fracturas osteoporóticas en otras localizaciones esqueléticas como la cadera, e incluso en huesos con una mayor componente trabecular, como las vértebras^{10,11}. Finalmente, no se recogieron los datos sobre el estado menstrual, limitando así la evaluación de los efectos de la menopausia sobre la resistencia mecánica del tejido óseo. Este problema se contrarrestó categorizando el subgrupo de mujeres más jóvenes como premenopáusicas y el subconjunto de mujeres más mayores como postmenopáusicas.

En conclusión, la resistencia mecánica del tejido óseo no parece verse afectada por el envejecimiento y la depleción estrogénica relacionada con la menopausia. Se necesitan estudios adicionales para corroborar estos hallazgos a fin de facilitar la implementación de la MII en la investigación y en la práctica clínica.

Conflicto de intereses: Adolfo Diez-Pérez declara que posee acciones de Active Life Scientific, el fabricante de los dispositivos de microindentación. Los autores restantes declaran que no tienen ningún conflicto de interés.

Financiación: Este trabajo ha sido financiado por la beca de Investigación FEIOMM 2010, el Centro

de Investigación Biomédica en Red de Fragilidad y Envejecimiento Saludable (CIBERFES; CB16/10/00245), y los fondos FEDER.

Bibliografía

1. Johnell O, Kanis JA. An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporos Int.* 2006;17(12):1726-33.
2. Leslie WD, Brennan-Olsen SL, Morin SN, Lix LM. Fracture prediction from repeat BMD measurements in clinical practice. *Osteoporos Int.* 2016;27(1):203-10.
3. Hans D, Goertzen AL, Krieg MA, Leslie WD. Bone microarchitecture assessed by TBS predicts osteoporotic fractures independent of bone density: the Manitoba study. *J Bone Miner Res.* 2011;26(11):2762-9.
4. Bala Y, Seeman E. Bone's material constituents and their contribution to bone strength in health, disease, and treatment. *Calcif Tissue Int.* 2015;97(3):308-26.
5. Fantner GE, Hassenkam T, Kindt JH, Weaver JC, Birkeedal H, Pechenik L, et al. Sacrificial bonds and hidden length dissipate energy as mineralized fibrils separate during bone fracture. *Nat Mater.* 2005;4(8):612-6.
6. Allen MR, McNerny EM, Organ JM, Wallace JM. True gold or pyrite: a review of reference point indentation for assessing bone mechanical properties in vivo. *J Bone Miner Res.* 2015;30(9):1539-50.
7. Diez-Perez A, Bouxsein ML, Eriksen EF, Khosla S, Nyman JS, Papapoulos S, et al. Technical note: Recommendations for a standard procedure to assess cortical bone at the tissue-level in vivo using impact microindentation. *Bone Rep.* 2016;5:181-5.
8. Herrera S, Diez-Perez A. Clinical experience with microindentation in vivo in humans. *Bone.* 2017;95:175-82.
9. Malgo F, Hamdy NA, Papapoulos SE, Appelman-Dijkstra NM. Bone material strength as measured by microindentation in vivo is decreased in patients with fragility fractures independently of bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(5):2039-45.
10. Malgo F, Hamdy NAT, Papapoulos SE, Appelman-Dijkstra NM. Bone material strength index as measured by impact microindentation is low in patients with fractures irrespective of fracture site. *Osteoporos Int.* 2017;28(8):2433-7.
11. Sosa DD, Eriksen EF. Reduced bone material strength is associated with increased risk and severity of osteoporotic fractures. An impact microindentation study. *Calcif Tissue Int.* 2017;101(1):34-42.
12. Rozental TD, Walley KC, Demissie S, Caksa S, Martinez-Betancourt A, Parker AM, et al. Bone material strength index as measured by impact microindentation in postmenopausal women with distal radius and hip fractures. *J Bone Miner Res.* 2018;33(4):621-6.
13. Farr JN, Drake MT, Amin S, Melton LJ, 3rd, McCready LK, Khosla S. In vivo assessment of bone quality in postmenopausal women with type 2 diabetes. *J Bone Miner Res.* 2014;29(4):787-95.
14. Guerri-Fernandez RC, Nogue X, Quesada Gomez JM, Torres Del Pliego E, Puig L, Garcia-Giralt N, et al. Microindentation for in vivo measurement of bone tissue material properties in atypical femoral fracture patients and controls. *J Bone Miner Res.* 2013;28(1):162-8.
15. Nilsson AG, Sundh D, Johansson L, Nilsson M, Mellstrom D, Rudang R, et al. Type 2 Diabetes mellitus is associated with better bone microarchitecture but lower bone material strength and poorer physical function in elderly women: a population-based study. *J Bone Miner Res.* 2017;32(5):1062-71.
16. Sundh D, Rudang R, Zoulakis M, Nilsson AG, Darelid A, Lorentzon M. A high amount of local adipose tissue is associated with high cortical porosity and low bone material strength in older women. *J Bone Miner Res.* 2016;31(4):749-57.
17. Mirzaali MJ, Schwiedrzik JJ, Thaiwichai S, Best JP, Michler J, Zysset PK, et al. Mechanical properties of



- cortical bone and their relationships with age, gender, composition and microindentation properties in the elderly. *Bone*. 2016;93:196-211.
18. <https://www.nof.org/patients/what-is-osteoporosis/>.
 19. Dufour R, Winzenrieth R, Heraud A, Hans D, Mehsen N. Generation and validation of a normative, age-specific reference curve for lumbar spine trabecular bone score (TBS) in French women. *Osteoporos Int*. 2013;24(11):2837-46.
 20. Hansma PK, Fantner GE, Kindt JH, Thurner PJ, Schitter G, Turner PJ, et al. Sacrificial bonds in the interfibrillar matrix of bone. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2005;5(4):313-5.
 21. Furst JR, Bandeira LC, Fan WW, Agarwal S, Nishiyama KK, McMahon DJ, et al. Advanced glycation endproducts and bone material strength in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(6):2502-10.
 22. Mellibovsky L, Prieto-Alhambra D, Mellibovsky F, Guerri-Fernandez R, Nogues X, Randall C, et al. Bone tissue properties measurement by reference point indentation in glucocorticoid-induced osteoporosis. *J Bone Miner Res*. 2015;30(9):1651-6.
 23. Malgo F, Hamdy NA, Rabelink TJ, Kroon HM, Claessen KM, Pereira AM, et al. Bone material strength index as measured by impact microindentation is altered in patients with acromegaly. *Eur J Endocrinol*. 2017;176(3):339-47.
 24. Perez-Saez MJ, Herrera S, Prieto-Alhambra D, Nogues X, Vera M, Redondo-Pachon D, et al. Bone density, microarchitecture, and tissue quality long-term after kidney transplant. *Transplantation*. 2017;101(6):1290-4.
 25. Perez-Saez MJ, Herrera S, Prieto-Alhambra D, Vilaplana L, Nogues X, Vera M, et al. Bone density, microarchitecture, and material strength in chronic kidney disease patients at the time of kidney transplantation. *Osteoporos Int*. 2017;28(9):2723-7.
 26. Guerri-Fernandez R, Molina D, Villar-Garcia J, Prieto-Alhambra D, Mellibovsky L, Nogues X, et al. Brief Report: HIV infection is associated with worse bone material properties, independently of bone mineral density. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2016;72(3):314-8.
 27. Herrera S, Soriano R, Nogues X, Guerri-Fernandez R, Grinberg D, Garcia-Giralt N, et al. Discrepancy between bone density and bone material strength index in three siblings with Camurati-Engelmann disease. *Osteoporos Int*. 2017;28(12):3489-93.
 28. Herrera S, Perez-Lopez J, Molto-Abad M, Guerri-Fernandez R, Cabezudo E, Novelli S, et al. Assessment of bone health in patients with type 1 Gaucher disease using impact microindentation. *J Bone Miner Res*. 2017;32(7):1575-81.