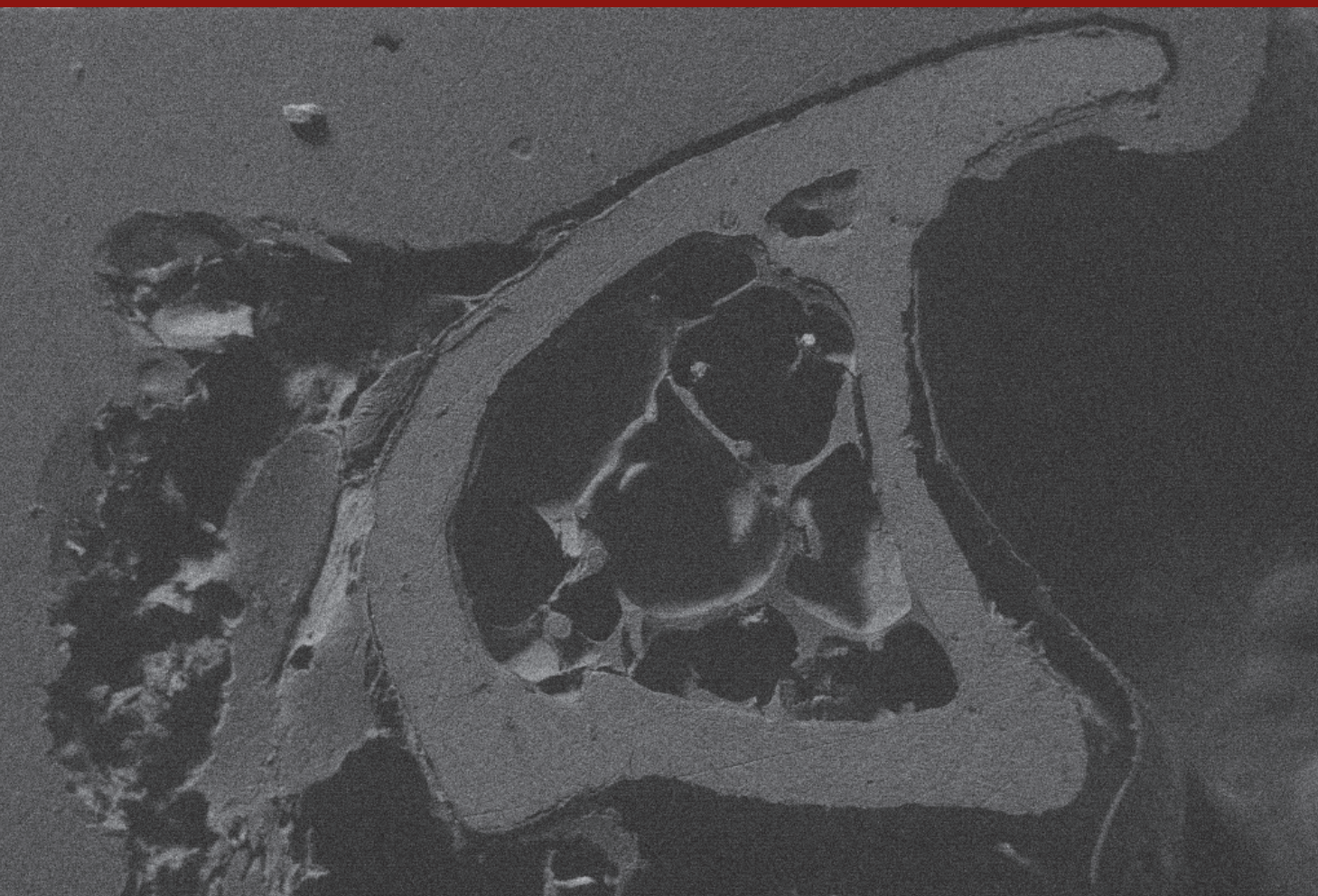


ACTUALIZACIONES EN OSTEOLÓGÍA

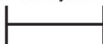
Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral

VOL. 20, Nº 1 - Enero/Abril 2024

Indizada en SCImago, EBSCO, Latindex, LILACS, SciELO, Scopus & Embase y SIIC Data Bases



200 μ m



EHT = 10.00 kV
WD = 8.6 mm

Signal A = SE2

Aperture Size = 60.00 μ m

Mag = 38 X

Width = 3.009 mm



LAMARX

Laboratorio de Microscopía
Electrónica y Análisis por Rayos X



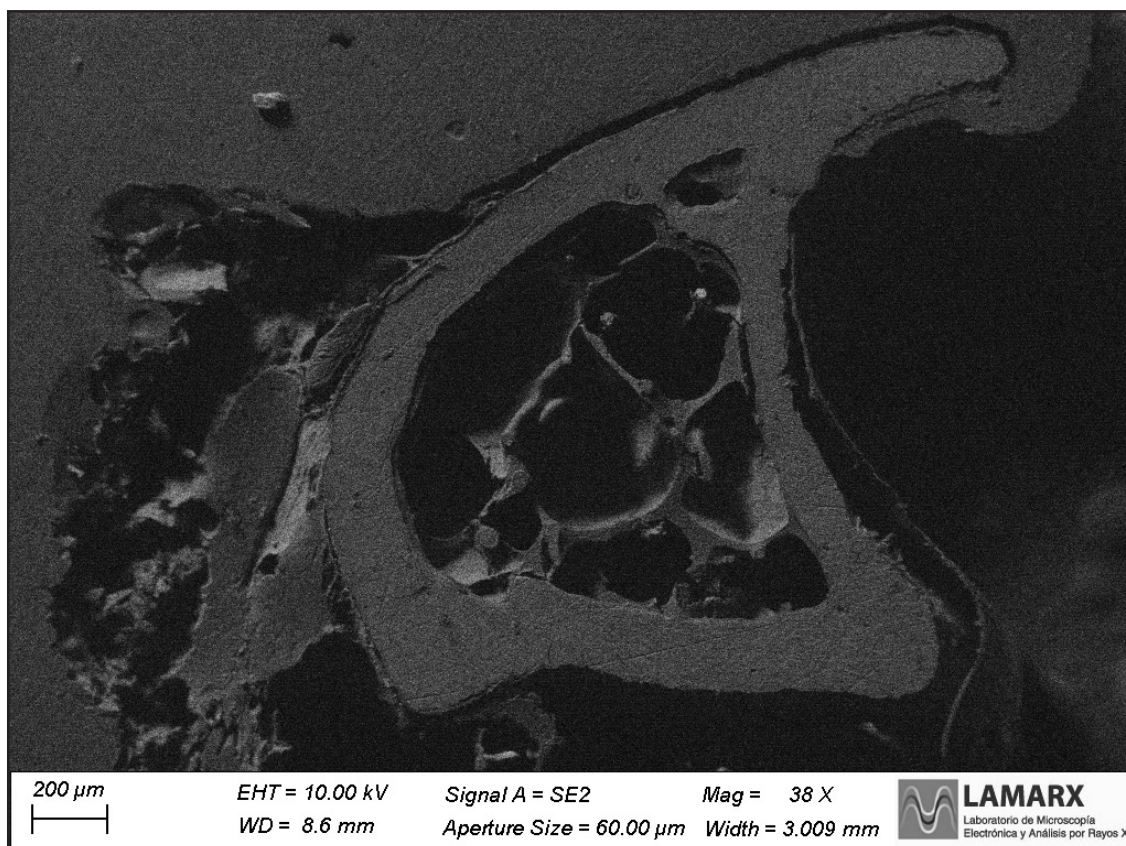
A.A.O.M.M.

(Asociación Argentina de Osteología
y Metabolismo Mineral)

ISSN 1669-8975 (Print);
ISSN 1669-8983 (Online)
Revista Cuatrimestral
Rosario, Santa Fe, Argentina
[https://ojs.osteologia.org.ar/ojs33010
/index.php/osteologia/index](https://ojs.osteologia.org.ar/ojs33010/index.php/osteologia/index)

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLÓGÍA

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral



Microscopía electrónica de barrido (Carl Zeiss Sigma) de corte transversal de tibia de ratón macho C57BL/6 de 8 meses de edad. El hueso se monta en metacrilato para luego cortarlo en rodajas y así poder visualizarlo en el microscopio. Realizado en el LAMARX-CONICET/UNC por la Dra. María Angélica Rivoira y la Lic. Constanza Quiroga.

VOL. 20, Nº 1

Enero / Abril 2024

ISSN 1669-8975 (Print); ISSN 1669-8983 (Online)

<https://ojs.osteologia.org.ar/ojs33010/index.php/osteologia/index>

Rosario, Santa Fe, Argentina

Indizada en SCImago, EBSCO, Latindex, LILACS, SciELO, Scopus & Embase y SIIC Data Bases



ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Publicación de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.

VOL. 20, Nº 1

Enero / Abril 2024

ISSN 1669-8975 (Print); ISSN 1669-8983 (Online)

<https://ojs.osteologia.org.ar/ojs33010/index.php/osteologia/index>

Rosario, Santa Fe, Argentina

Aparición: cuatrimestral

Editores responsables:

Virginia Massheimer: Cátedra Bioquímica Clínica II, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. San Juan 670, Bahía Blanca (B8000ICN), Argentina. Investigadora del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina.

Fernando Saravi: Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo. Servicio de Densitometría, Fundación Escuela de Medicina Nuclear, Mendoza. Instituto Balseiro, Comisión Nacional de Energía Atómica, Universidad Nacional de Cuyo, San Carlos de Bariloche, Río Negro. Argentina.

Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral

PROPIETARIO: Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral

DOMICILIO LEGAL: 9 de julio 1324, (2000) Rosario, Santa Fe, Argentina

www.aaomm.org.ar / info@aaomm.org.ar

Perfil de la revista

Actualizaciones en Osteología es el órgano científico de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral (AAOMM). Actualizaciones en Osteología acepta para su publicación trabajos redactados en español o en inglés, que aborden aspectos clínicos o experimentales dentro de la osteología y el metabolismo mineral que puedan considerarse de utilidad e interés para nuestra comunidad científica. Dichos trabajos habrán de ser inéditos, cumplir los requisitos de uniformidad para el envío demanuscritos y estar comprendidos en algunas de las secciones de la revista (Actualizaciones, Artículos Originales, Comunicaciones Breves, Casuísticas, Editoriales, Cartas al Editor). Los artículos son revisados por pares, expertos nacionales e internacionales.

Los artículos publicados en Actualizaciones en Osteología son indizados en EBSCO (EBSCO Host Research Databases), Latindex (Sistema Regional de Información en Línea para Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal), LILACS (Literatura Latinoamericana en Ciencias de la Salud), base de datos corporativa del Sistema BIREME (Centro Latinoamericano y del Caribe de Información en Ciencias de la Salud), SciELO (Scientific Electronic Library Online), Scopus & Embase (Elsevier Bibliographic Databases) y SIIC Data Bases (Sociedad Iberoamericana de Información Científica).

Actualizaciones en Osteología es una revista de Acceso Abierto (Open Access). Todo el contenido es de acceso libre y gratuito. Los usuarios pueden leer, descargar, copiar, distribuir, imprimir, buscar o enlazar los textos completos de los artículos de esta revista sin permiso previo del editor o del autor, siempre que no se pretenda su utilización para uso comercial. Para el correcto ejercicio de este derecho por parte de los usuarios, es condición necesaria que los derechos de propiedad intelectual sean reconocidos. Para ello, cualquier reproducción de los contenidos de cualquier artículo de la revista debe ser debidamente referenciada, indicando la autoría y la fuente bibliográfica. Por otra parte, para la reproducción escrita del material de la revista se deberá solicitar la autorización pertinente. El contenido y las opiniones expresadas en los trabajos publicados en la revista son de entera responsabilidad del(los) autor(es).

Scope

Actualizaciones en Osteología is the official scientific journal of the Argentinean Association of Osteology and Mineral Metabolism (AAOMM). Actualizaciones en Osteología publishes manuscripts written in Spanish or English describing clinical and experimental aspects within osteology and mineral metabolism. The articles should be original, meet the uniform requirements for manuscript submission and be comprised in one of the sections of the journal (Original Articles, Review Articles, Short Communications, Case Reports, Editorials, Letters to the Editor). Articles are peer-reviewed by national and international experts in the field.

The articles published in Actualizaciones en Osteología are indexed in EBSCO (EBSCO Host Research Databases), Latindex (Regional Information System for Scientific Journals Online of Latin America, the Caribbean, Spain and Portugal), LILACS (Latin American Literature in Health Sciences), BIREME (Latin American and Caribbean Center on Health Sciences), SciELO (Scientific Electronic Library Online), Scopus & Embase (Elsevier Bibliographic Databases) and SIIC data Bases (Iberoamerican Society Scientific Information).

Actualizaciones en Osteología is an Open Access journal. All its content is available free of charge. Users can read, download, copy, distribute, print, search or link the complete article texts from this journal without requiring permission from the editor or author, as long as it is not for commercial use. Users should recognize the intellectual property rights. For this, any reproduction of the contents of any article published in the journal should be properly referenced, indicating the authors and bibliographic source.

On the other hand, authorization should be requested for written reproduction of the journal material. The content and opinions expressed in the manuscripts published by the journal are the sole responsibility of the author(s).

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Publicación de la Asociación Argentina de Osteología y Metabolismo Mineral.

EDITORES RESPONSABLES

Virginia Massheimer

Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del Sur (INBIOSUR, CONICET-UNS). Universidad Nacional del Sur. Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Bahía Blanca. Argentina.

Fernando Saravi

Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo. Servicio de Densitometría, Fundación Escuela de Medicina Nuclear, Mendoza. Instituto Balseiro, Comisión Nacional de Energía Atómica, Universidad Nacional de Cuyo, San Carlos de Bariloche, Río Negro. Argentina.

EDITORAS ASOCIADAS

Silvina Mastaglia

Laboratorio de Osteoporosis y Enfermedades Metabólicas Óseas. Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEN). CONICET-UBA, Buenos Aires. Argentina.

Gabriela Picotto

Bioquímica y Biología Molecular, INICSA (CONICET-UNC), Córdoba. Argentina.

Lilian I. Plotkin

Department of Anatomy & Cell Biology. Indiana University School of Medicine. Indianapolis. USA.

María Josefina Pozzo

Servicio de Endocrinología, Hospital Alemán. Buenos Aires. Argentina.

EDITOR ASOCIADO SENIOR

Julio Ariel Sánchez

Director Centro de Endocrinología. Rosario, Argentina. Ex-director Actualizaciones en Osteología 2005-2012.

SECRETARIA DE REDACCIÓN

Patricia Mandalunis

Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Odontología, UBA. Buenos Aires. Argentina.

COORDINACIÓN EDITORIAL

Mariana Rapoport

asistente-editorial@osteologia.org.ar

CORRECCIÓN DE TEXTOS

Prof. María Isabel Siracusa

CUERPO EDITORIAL

Alicia Bagur

MAUTALEN, Salud e Investigación. Buenos Aires. Argentina.

Ricardo A. Battaglini

Department of Orthopedics. Miller School of Medicine, University of Miami.

Teresita Bellido

Dept. of Anatomy & Cell Biology. Division of Endocrinology, Dept. of Internal Medicine Indiana University School of Medicine. Indianapolis. USA.

Lucas R. M. Brun

Laboratorio de Biología Ósea. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario. Rosario, Argentina. Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Rosario. Argentina.

David Burr

Professor of Anatomy and Cell Biology. Indiana University School of Medicine. USA.

Marilia Buzalaf

Bauru School of Dentistry, University of São Paulo, Bauru-SP. Brazil.

Jorge B. Cannata Andía

Servicio de Metabolismo Óseo y Mineral. Hospital Universitario Central de Asturias. España.

Haraldo Claus Hermberg

Servicio de Endocrinología, Hospital Alemán. Buenos Aires, Argentina.

Gustavo Duque

Division of Geriatric Medicine, Department of Medicine & Director, Musculoskeletal Ageing Research Program. Sydney Medical School Nepean, University of Sydney. Australia.

Adriana Dusso

Laboratorio de Nefrología Experimental. IRB Lleida (Instituto de Investigaciones Biomédicas de Lleida). Facultad de Medicina. Universidad de Lleida. Lleida. España.

Pedro Esbrit

Laboratorio de Metabolismo Mineral y Óseo. Instituto de Investigación Sanitaria (IIS) - Fundación Jiménez Díaz. Madrid. España.

Sara Feldman

Directora Lab Biología Osteoarticular, Ingeniería Tisular y Terapias Emergentes. Facultad Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario (CONICET-CIUNR), Rosario, Argentina.



Ana María Galich

Sección Osteopatías Metabólicas del Servicio de Endocrinología. Hospital Italiano de Buenos Aires, Argentina.

Diana González

MAUTALEN, Salud e Investigación. Buenos Aires, Argentina.

María Luisa Gonzalez Casaus

Laboratorio de Nefrología y Metabolismo Mineral. Hospital Central de Defensa de Madrid. España.

Arancha R. Gortázar

Instituto de Medicina Molecular Aplicada. Facultad de Medicina. Universidad CEU San Pablo, Madrid, España.

Nuria Guañabens

Servicio de Reumatología del Hospital Clinic de Barcelona. España.

Suzanne Jan de Beur

Johns Hopkins University School of Medicine. Division of Endocrinology, Diabetes, and Metabolism. Johns Hopkins Bayview Medical Center. USA.

Patricia Jaurez Camacho

Unidad Biomédica. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. México.

Carlos Mautalen

MAUTALEN, Salud e Investigación. Buenos Aires, Argentina.

Michael McClung

Oregon Osteoporosis Center, Portland, OR, USA.

José Luis Millán

Sanford-Burnham Medical Research Institute. La Jolla, CA, USA.

Armando Negri

Instituto de Investigaciones Metabólicas. Buenos Aires, Argentina.

Beatriz Oliveri

MAUTALEN, Salud e Investigación. Laboratorio Osteoporosis y Enfermedades Metabólicas Óseas, INIGEM. Investigadora del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Buenos Aires, Argentina.

Luisa Carmen Plantalech

Sección Osteopatías Metabólicas. Servicio de Endocrinología y Metabolismo. Hospital Italiano de Buenos Aires, Argentina.

Hans L Porias Cuéllar

Nuevo Sanatorio Durango. México.

Alfredo Rigalli

Laboratorio de Biología Ósea. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario. Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Rosario, Argentina.

Emilio Roldán

Departamento de Investigaciones Musculo esqueléticas, Instituto de Neurobiología (IDNEU). Dirección Científica, Gador SA. Buenos Aires, Argentina.

Ana Russo de Boland

Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Argentina.

Helena Salerni

División Endocrinología del Hospital Durand. Buenos Aires, Argentina.

Eduardo Slatopolsky

Renal Division. Department of Internal Medicine. Washington University School of Medicine. St. Louis, Missouri, USA.

Nori Tolosa de Talamoni

Laboratorio de Metabolismo Fosfocálcico y Vitamina D "Dr. Fernando Cañas". Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Investigadora del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina.

José R. Zanchetta

Instituto de Investigaciones Metabólicas (IDIM), Buenos Aires, Argentina.

Susana Zeni

Investigadora principal del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina.

ACTUALIZACIONES EN OSTEOLOGÍA

Vol 20, Nº 1, Mayo / Agosto 2024

ÍNDICE

EDITORIAL / Editorial

FGF23 y enfermedades óseas

FGF23 and bone diseases

Nori Tolosa de Talamoni

6

ARTÍCULO ORIGINAL / Original

Obtención, caracterización y biocompatibilidad de hidrogeles poliméricos para Ingeniería de Tejidos: Estudio preliminar

Obtaining, characterization and biocompatibility of polymeric hydrogels for Tissue Engineering

María Victoria Marotta, Agustín H. Rojas, Tamara G. Oberti, Juan M. Fernández

9

Vitamina D, inhibidor de la proteasa leucocitaria secretora (SLPI) y obesidad en mujeres adultas mayores. Estudio preliminar

Vitamin D, secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) and obesity in elder women. Preliminary study

Mariana Seijo, Nella Gabriela Ambrossi, Marina Soledad Bonanno, Magalí Zeni Coronel, Eduardo Chuluyan, Susana Noemí Zeni, Beatriz Oliveri

24

High frequency of fragility fractures in postmenopausal women with dysmobility syndrome: a single-center, cross-sectional study

Alta frecuencia de fracturas por fragilidad en mujeres postmenopáusicas con síndrome de dismovilidad: estudio de diseño transversal de un solo centro

Mariana Gonzalez Pernas, Rubén Abdala, Fernando Jerkovich, María Belén Zanchetta

34

Mortalidad luego de una fractura de cadera: seguimiento a 10 años

Mortality after hip fracture: 10-year follow-up

María Eugenia Vera Santana, Betiana Pérez, María Diehl, Gastón Perman, Andrea Beratarrechea, Luisa Plantalech

43



EDITORIAL / Editorial

FGF23 Y ENFERMEDADES ÓSEAS

Nori Tolosa de Talamoni*

Profesora Emérita. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina

El hueso en su comportamiento como órgano endocrino libera varias citoquinas sistémicas, entre ellas el factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF23). Esta citoquina es secretada por osteoblastos y osteocitos hacia la circulación. Actúa principalmente en riñón, paratiroides, corazón y hueso. Tiene un rol esencial en la regulación del metabolismo del fósforo (Pi), pero su efecto se extiende más allá de la homeostasis del Pi, influenciando el metabolismo óseo, la salud cardiovascular, la homeostasis del hierro, la respuesta inmune y las alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad.¹ Si bien inicialmente fue descubierta en cerebro murino, con el tiempo se conoció que mutaciones en el FGF23 se identificaban como la causa del raquitismo hereditario autosómico dominante (RHAD) y de la osteomalacia inducida por tumor (conocida con la sigla inglesa: TIO). Ambas enfermedades son raras y comparten características clínicas en común, tales como la hipofosfatemia, los valores bajos de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ y raquitismo/osteomalacia.²

FGF23 regula el balance de Pi mediante la disminución de la reabsorción renal de Pi, la modulación de la síntesis de parathormona (PTH) y la disminución del $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.¹ Tiene efectos endocrinos, paracrinos y autocrinos. Los efectos endocrinos están bastante

establecidos, no así los demás efectos. La mayoría de los efectos endocrinos dependen del funcionamiento de αKlotho (αKL), el cual actúa como correceptor. Los efectos paracrinos, en cambio, son independientes de αKL . FGF23 modula la homeostasis del Pi mediante activación del receptor 1 de FGF (FGFR1) requiriendo el correceptor αKL , que está altamente expresado en el riñón y en las glándulas paratiroides. La dupla FGF23/ $\alpha\text{-KL}$ está involucrada en el metabolismo mineral a través de factores locales ligados a la mineralización de la matriz ósea y a efectos sistémicos de PTH, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ y calcio.³ En una reciente revisión de nuestro laboratorio hemos descripto los nuevos avances en la regulación y actividad de FGF23.⁴

Hay enfermedades óseas asociadas a altas y a bajas concentraciones séricas de FGF23. Entre las enfermedades óseas que ocurren con exceso de los niveles séricos de FGF23 se pueden citar las hipofosfatemias de origen genético, tales como la hipofosfatemia ligada al cromosoma X (HLX) y la RHAD. HLX es causada por mutaciones en el gen *PHEX*. Se desconocen los mecanismos por los cuales estas mutaciones del gen *PHEX* conducen a sobreexpresión de FGF23 y alteraciones metabólicas óseas. Los pacientes con RHAD tienen variantes patogénicas en el sitio de clivaje

*E-mail: ntolosa@biomed.fcm.unc.edu.ar

de FGF23, lo cual produce resistencia a la degradación proteolítica de FGF23. Estos pacientes presentan deficiencia de hierro. Normalmente la deficiencia de hierro produce aumento de la síntesis de FGF23 y también aumento en su degradación; en estos pacientes la síntesis de FGF23 está aumentada pero no su degradación, por lo cual exhiben altas concentraciones de la proteína.³

TIO es un síndrome paraneoplásico infrecuente caracterizado por mineralización defectuosa causada por sobreproducción tumoral de FGF23, el cual inhibe la reabsorción renal de Pi y la 1α -hidroxilación de la 25-hidroxivitamina D, lo que lleva a hipofosfatemia y, finalmente, a osteomalacia.⁵

La escoliosis congénita también parece asociarse a niveles altos de FGF23 y a baja densidad mineral ósea (DMO). Se propone que el FGF23 podría contribuir al desarrollo de osteopenia en estos pacientes a través de la vía del receptor 3 del factor de crecimiento fibroblástico/fosfatasa alcalina no específica de tejido/osteopontina.⁶

El deterioro de la función renal también conduce a una excesiva producción de FGF23 como respuesta compensatoria a una disminución de la pérdida renal de Pi. En pacientes con enfermedad renal crónica (ERC), la expresión de α -KL disminuye concomitantemente con una disminución de nefronas viables. A medida que progresa la enfermedad, la capacidad excretora de Pi del riñón no es suficiente pese a los altos niveles de FGF23 y de Pi en sangre, lo cual lleva a resistencia renal al FGF23. Los excesos de FGF23 conducen a anomalías en la mineralización ósea. Además, el exceso de FGF23 puede promover hipertrofia ventricular izquierda, hipertensión, inflamación y estrés oxidativo, que podría llevar a disfunción endotelial. Si la calcificación vascular en pacientes con ERC es producida por alto FGF23 está en discusión,

ya que algunos sostienen que estaría más bien asociada a la alta concentración de Pi sérico.⁷

En cuanto a patologías óseas que ocurren con bajas concentraciones séricas de FGF23 se puede mencionar la calcinosis tumoral hiperfosfatémica, la cual está asociada a mutaciones *missense* en FGF23 o en α -KL.⁸

Burosumab, un anticuerpo monoclonal anti-FGF23 aprobado en 2018 en varios países, ha emergido como un tratamiento alternativo para patologías que transcurren con niveles excesivos de FGF23. Un reciente metanálisis ha demostrado que burosumab tiene efectividad terapéutica en niños con HLX mejorando los parámetros bioquímicos, el *score* de raquitismo y el test de caminata de 6 minutos, pero aún resta conocer los efectos a largo término.⁹ En pacientes con tumores no operables o con tumores recurrentes o no localizables que presentan TIO, el uso de burosumab representa una alternativa al tratamiento convencional, pero con seguimiento controlado de los niveles de Pi y FGF23.¹⁰ Recientemente se reportó efecto beneficioso de burosumab en un paciente adulto con HLX y ERC en estadio 3b.¹¹ No obstante, todavía hay muchas dudas acerca de su uso en pacientes con ERC avanzada por los potenciales riesgos, debido a que –a nivel experimental– produjo hipercalcemia, hiperfosfatemia, calcificación vascular e incremento de la mortalidad. Quizás en el futuro burosumab pueda ser eficaz para el tratamiento de otros trastornos asociados a exceso de FGF23, pero es necesario hacer más estudios preclínicos y clínicos que, por el momento, no están disponibles.

Recibido: agosto 2024

Aceptado: septiembre 2024

Conflicto de intereses: la autora declara no tener conflicto de intereses.



Referencias

1. Martínez-Heredia L, Canelo-Moreno JM, García-Fontana B, Muñoz-Torres M. Non-Classical Effects of FGF23: Molecular and Clinical Features. *Int J Mol Sci* 2024;25:4875. doi: 10.3390/ijms25094875.
2. Aono Y, Yamazaki Y, Yasutake J, et al. Therapeutic effects of anti-FGF23 antibodies in hypophosphatemic rickets/osteomalacia. *J Bone Miner Res* 2009; 24:1879-88. doi: 10.1359/jbmr.090509.
3. Quarles LD. Fibroblast growth factor 23 and α -Klotho co-dependent and independent functions. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2019; 28:16-25. doi:10.1097/MNH.0000000000000467.
4. Rivoira MA, Peralta López ME, Areco V, Díaz de Barboza G, Dionisi MP, Tolosa de Talamoni N. Emerging concepts on the FGF23 regulation and activity. *Mol Cell Biochem* 2024 Apr 6. doi: 10.1007/s11010-024-04982-6.
5. Minisola S, Fukumoto S, Xia W, et al. Tumor-induced osteomalacia: a comprehensive review. *Endocr Rev* 2023;44:323-53. doi: 10.1210/endrev/bnac026.
6. Zhang H, Xiang G, Li J, et al. Promotion effect of FGF23 on osteopenia in congenital scoliosis through FGF3/TNAP/OPN pathway. *Chin Med J (Engl)* 2023;136:1468-77. doi: 10.1097/CM9.0000000000002690.
7. Vogt I, Haffner D, Leifheit-Nestler M. FGF23 and Phosphate-Cardiovascular Toxins in CKD. *Toxins (Basel)* 2019;11:647. doi: 10.3390/toxins11110647.
8. Zuo Q, Yang W, Liu B, et al. A novel FGF23 mutation in hyperphosphatemic familial tumoral calcinosis and its deleterious effect on protein O-glycosylation. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2022;13:1008800. doi: 10.3389/fendo.2022.1008800.
9. Wang K, Zhang R, Chen Z, Bai Y, He Q. Meta-analysis and systematic review: burosumab as a promising treatment for children with X-linked hypophosphatemia. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2024;15:1414509. doi: 10.3389/fendo.2024.1414509.
10. Álvarez-Rivas N, Lugo-Rodríguez G, Maneiro JR, et al. Tumor-induced osteomalacia: A systematic literature review. *Bone Rep* 2024; 8(21):101772. doi: 10.1016/j.bonr.2024.101772.
11. Michon-Colin A, Boudierlique E, Prié D, et al. Successful Burosumab Treatment in an Adult Patient with X-Linked Hypophosphatemia and Chronic Kidney Disease Stage 3b. *Calcif Tissue Int* 2024;114:310-4. doi: 10.1007/s00223-023-01169-x.

ARTÍCULO ORIGINAL / *Original*

OBTENCIÓN, CARACTERIZACIÓN Y BIOCMPATIBILIDAD DE HIDROGELES POLIMÉRICOS PARA INGENIERÍA DE TEJIDOS: ESTUDIO PRELIMINAR

M. Victoria Marotta,^{1,2} Agustín H. Rojas,¹ Tamara G. Oberti¹, Juan M. Fernández^{2*}

¹ Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), Facultad de Ciencias Exactas, UNLP – CONICET. La Plata, Argentina.

² Laboratorio de Investigación en Osteopatías y Metabolismo Mineral (LIOMM), Facultad de Ciencias Exactas, UNLP-CIC. La Plata, Argentina.

Resumen

La ingeniería de tejidos es una ciencia interdisciplinaria que se encuentra en constante búsqueda de materiales que puedan ayudar a reparar el tejido dañado; en nuestro caso, tejido óseo y cartilaginoso. En este trabajo obtuvimos un biomaterial utilizando alginato de sodio (polímero natural) y polielectrolito catiónico sintético (PEC) producido en nuestros laboratorios. La unión de ambos polímeros dada por fuerzas iónicas se vio incrementada gracias a la aplicación de ultrasonido. Cuando evaluamos la toxicidad *in vitro* de los biomateriales utilizando células macrofágicas RAW 264.7, encontramos que la aplicación de ultrasonido produjo un material menos tóxico con relación a cuando esta tecnología no se aplica, además de una mayor capacidad de fomentar la proliferación de células preosteoblásticas MC3T3-E1 y células condrocíticas crecidas sobre ellos. Si bien hace falta realizar experimentos adicionales, nuestro biomaterial Alginato-PEC tratado con ultrasonido resulta

ser prometedor para ser utilizado como *scaffolds* en Ingeniería de Tejidos óseo y cartilaginoso.

Palabras clave: alginato, ingeniería de tejidos, toxicidad.

OBTAINING, CHARACTERIZATION AND BIOCMPATIBILITY OF POLYMERIC HYDROGELS FOR TISSUE ENGINEERING

Abstract

Tissue engineering is an interdisciplinary science that is constantly searching for materials that can help repair damaged tissue, in our case, bone and cartilage. In this work, we obtained a biomaterial using sodium alginate (natural polymer) and synthetic cationic polyelectrolyte (PEC) produced in our laboratories. The union of both polymers, given by ionic forces, was increased thanks to the application of ultrasound. When we evaluated the *in vitro* toxicity of the biomaterials using

*E-mail: jmfernandez@biol.unlp.edu.ar



RAW 264.7 macrophage cells, we found that the application of ultrasound produced a non-toxic material compared to when this technology is not applied, in addition to a greater capacity to promote the proliferation of MC3T3-E1 preosteoblastic cells and chondrocytic cells grown on them. Although

additional experiments are needed, our Alginate-PEC biomaterial with ultrasound is a promising approach that can be used to generate scaffolds for bone and cartilage tissue engineering.

Keywords: *alginate, tissue engineering, toxicity.*

Introducción

La destrucción del tejido óseo debido a enfermedades (osteonecrosis, tumores, osteoporosis) o a cicatrización ineficaz posterior a lesión traumática es un problema que afecta a la población mundial. Actualmente se utilizan distintas terapias para las diversas lesiones óseas. Entre ellas se encuentra la utilización de diversos materiales e injertos (según su procedencia se clasifican en: autoinjerto, aloinjerto [homólogos], xenoinjerto [heterólogo]).¹ Además, una disminución en la calidad y/o densidad mineral ósea (DMO) puede incrementar la incidencia de fracturas debido a la osteoporosis, la enfermedad ósea metabólica más frecuente. Varios trabajos en la bibliografía científica pronostican un aumento de fracturas óseas debido a osteoporosis; por ejemplo, se estima que la incidencia de fractura de cadera a causa de la osteoporosis se incrementará en un 100% hacia el año 2050,² mientras que Lu y cols. informan que el número de casos aumentaría 2,7 veces entre 2015 y 2035.³ En la Argentina, aproximadamente 264/100.000 habitantes/año deben ser atendidos por estas lesiones (que afectan mayormente a mujeres mayores de 50 años), con altas tasas de complicaciones por infecciones, e incluso de mortalidad. Estas incidencias resultan ser similares a las informadas en el resto de Latinoamérica.⁴ Se estima que el 20-40% de los adultos mayores mueren al año tras sufrir esta lesión.⁵ Además, los costos de los tratamientos resultan ser elevados;

por ejemplo en nuestro país, los costos por fractura de cadera varían entre USD 3800 y USD 5500.⁶ Por otro lado, existe una dificultad adicional en la frecuencia y reparación de fracturas cuando coexisten enfermedades que afectan el metabolismo óseo, como la diabetes mellitus.^{7,8}

Asimismo, el cartílago puede sufrir diversas alteraciones que conllevan una disminución en la matriz extracelular o en la población celular. Estos daños pueden desencadenar un proceso llamado artrosis que afecta a más de 500 millones de personas en todo el mundo,^{9,10} siendo 300 millones de ellos afectados por artrosis de cadera o rodillas con causa multifactorial, los cuales se vinculan a problemas genéticos (como, por ejemplo, mutaciones del gen de colágeno tipo 2), sistémicos, edad avanzada, sexo femenino, metabólicos (como en el caso de hemocromatosis).¹¹ Además, diversos factores mecánicos consecuencia del sobrepeso o traumatismos han demostrado ser factores de riesgo para la artrosis.¹² Otros estudios demuestran que la artrosis afecta aproximadamente al 25% de la población de mediana y alta edad en los Estados Unidos, número que iría en aumento debido al incremento en la expectativa de vida y en casos de obesidad.¹³⁻¹⁵ En la mayoría de los pacientes (63%) sometidos a artroscopia de rodillas se observan defectos focales del cartílago, permaneciendo sin síntomas durante un largo período. Sin embargo, las lesiones sintomáticas suelen ser muy dolorosas y se ha demostrado

que un paciente con una lesión del cartílago articular tiene un riesgo aumentado en 5 veces de progresar a artrosis.^{16,17}

El impacto de los tratamientos en los defectos óseos desde el punto de vista clínico y económico es sumamente grande, tanto en nuestro país como a nivel global.^{7,18} Las distintas alternativas que existen como opción en el reemplazo y restauración del tejido óseo y del tejido cartilaginoso no siempre son eficaces, debido a que poseen diversas limitaciones y desventajas. Los metales poseen una baja capacidad de osteointegración, las cerámicas son frágiles y los injertos poseen distintas desventajas, entre las cuales las principales son escasez de donantes y el rechazo. En el caso de la utilización de terapias basadas en células condrocíticas, estas pierden la estabilidad fenotípica con el tiempo.^{9,13,19} Además, en paralelo al aumento de la población global y la expectativa de vida, las frecuencias y los costos antes descritos irán en aumento.

Frente a esta problemática surge como alternativa de tratamiento la Ingeniería de Tejidos, una ciencia interdisciplinaria que utiliza conceptos de diversas disciplinas tales como Medicina, Veterinaria, Bioquímica, Farmacia, Ingeniería, Química y Física para sintetizar materiales que sirvan para regenerar o reparar los tejidos dañados, no solo desde el punto de vista estructural sino también funcional.²⁰ Los tres pilares fundamentales de la Ingeniería de tejidos son *scaffolds* o matriz tridimensional, células y factores de crecimientos o moléculas de señalización. Cada uno de ellos garantizan los mecanismos de acción de los autoinjertos: los *scaffolds* proveen de soporte para el crecimiento de las células y movimiento de nutrientes y desechos (osteoconducción); las células se encargan de sintetizar el tejido óseo (osteogénesis) mientras que los factores de crecimiento guían el comportamiento celular (osteoinducción).

Actualmente existe una gran cantidad de estudios dedicados al diseño de *scaffolds* adecuados para ser utilizados en la regeneración

de distintos tipos de tejidos, los cuales han involucrado diversos tipos de materiales como: polímeros, cerámicas, metales o vidrios bioactivos o distintas combinaciones de ellos para potenciar sus cualidades. Una forma de obtención de los biomateriales es la formación de hidrogeles, los cuales pueden ser definidos como una red polimérica tridimensional con capacidad de absorber y retener grandes cantidades de agua.²¹ Estos pueden ser confeccionados utilizando macromoléculas naturales o polímeros sintéticos que presentan una capacidad intrínseca para interactuar con las células, así como una biodegradabilidad adecuada y una alta biocompatibilidad. En particular, los hidrogeles elaborados con polímeros sintéticos permiten el control preciso de las propiedades estructurales, funcionales y mecánicas.²² De esta manera, los hidrogeles resultan ser promisorios sobre otro tipo de *scaffolds* debido a que presentan un comportamiento mecánico, de hinchamiento y lubricante similar al cartílago articular; su naturaleza viscoelástica facilita la transferencia de la carga mecánica y permite que las células cargadas en ellos adquieran una morfología esférica, característica del fenotipo condrogénico.^{23,24} Además, los *scaffolds* utilizados deben cumplir una serie de requisitos: ser biocompatibles, no tóxicos, biodegradables y de una estructura porosa, la cual permita la infiltración de las células.

Nuestro grupo de trabajo cuenta con amplia experiencia en el diseño y caracterización de *scaffolds* para ingeniería de tejido óseo y cartilaginoso, con un enfoque destacado en la caracterización biológica, particularmente en relación con la citotoxicidad. Utilizando polímeros de origen natural o sintético hemos obtenido un gran número de *scaffolds* tridimensionales con una alta biocompatibilidad, que no presentan citotoxicidad y pueden ser degradados por reacciones hidrolíticas, enzimáticas o mediadas por macrófagos.²⁵⁻²⁹

El objetivo general de este trabajo es realizar estudios de caracterización preliminar



de un hidrogel a partir de un polímero natural y uno sintético, compatibilizado con ultrasonido, el cual pueda actuar como *scaffold*. De esta forma, el biomaterial podrá, una vez implantado en el tejido dañado, servir como soporte y guiar la reparación del tejido óseo y cartílago.

La elección de los polímeros se centra en experiencia previa: por un lado, el alginato ha demostrado ser un polímero versátil, fácilmente obtenible de algas pardas invasoras de nuestras costas y que mejora la capacidad condroinductora cuando es incorporado en un hidrogel de polihidroxietil metacrilato.^{30,31} Además, es conocida la capacidad del alginato para formar hidrogeles a partir de la interacción electrostática con cationes bivalentes u otros polímeros que contengan cargas positivas en su estructura.³² En este caso, con el fin de obtener un hidrogel que nos permita regular las propiedades del alginato, se sintetizó un polímero policationico utilizando acetato de vinilo y N,N-dimetilaminoetilo metacrilato.

Materiales y métodos

Obtención de los hidrogeles

Síntesis del copolímero AcV-co-DMAEMA

Para la síntesis del copolímero polielectrolito catiónico (PEC) se utilizaron dos monómeros: acetato de vinilo (AcV) y N,N-dimetilaminoetilo metacrilato (DMAEMA). La elección del AcV en la síntesis se basa en que posee un comportamiento de polimerización aleatorio y ya ha sido empleado en nuestro grupo de trabajo para fines similares.²⁹ Por su parte, el DMAEMA fue elegido por ser un monómero catiónico (posee amina terciaria en su estructura),

lo que favorece la compatibilización gracias a la formación de puentes salinos con polímero aniónico (como el alginato) a un pH de trabajo adecuado (Figura 1).

Los monómeros fueron purificados antes de su utilización. Para el caso del AcV se realizó una destilación por arrastre a presión reducida; por otro lado, el DMAEMA fue purificado por filtración en columna de alúmina básica. Ambas purificaciones se llevaron a cabo para eliminar los inhibidores de polimerización presentes en los reactivos. Como iniciador de polimerización se utilizó azobisisobutironitrilo (AIBN), el cual fue purificado mediante recristalización a partir de metanol.

La síntesis del copolímero PEC se realizó por mecanismo de polimerización radicalaria convencional. Brevemente, en un Erlenmeyer se agregaron los monómeros AcV y DMAEMA y el iniciador AIBN. Se tapó la boca del Erlenmeyer con un *septum*, se colocó en baño de hielo/agua en oscuridad y se burbujeó la mezcla de reacción con N₂ durante 30 minutos. La reacción se llevó a cabo en baño térmico a 60 °C y oscuridad por 17 h y se obtuvo una solución viscosa. Se detuvo la reacción con metanol y se conservó a -20 °C a fin de lograr la precipitación del polímero. Se descartó el sobrenadante y el precipitado se disolvió en tetrahidrofurano (THF). La solución de PEC en THF se dejó gotear sobre hexano a fin de purificar el polímero sintético, en el cual –luego de precipitar– se descartó el sobrenadante y se secó en tambor de vacío hasta llegar a peso constante. En todos los casos, se determinó el porcentaje de conversión (%C) con la siguiente ecuación:

$$\%C = \frac{\text{masa de copolímero PEC}}{\sum_{i=1}^n \text{masa de monómeros}} \times 100 = \frac{\text{masa de copolímero PEC}}{\text{masa de AcV} + \text{masa de DMAEMA}} \times 100$$

Ecuación (1)

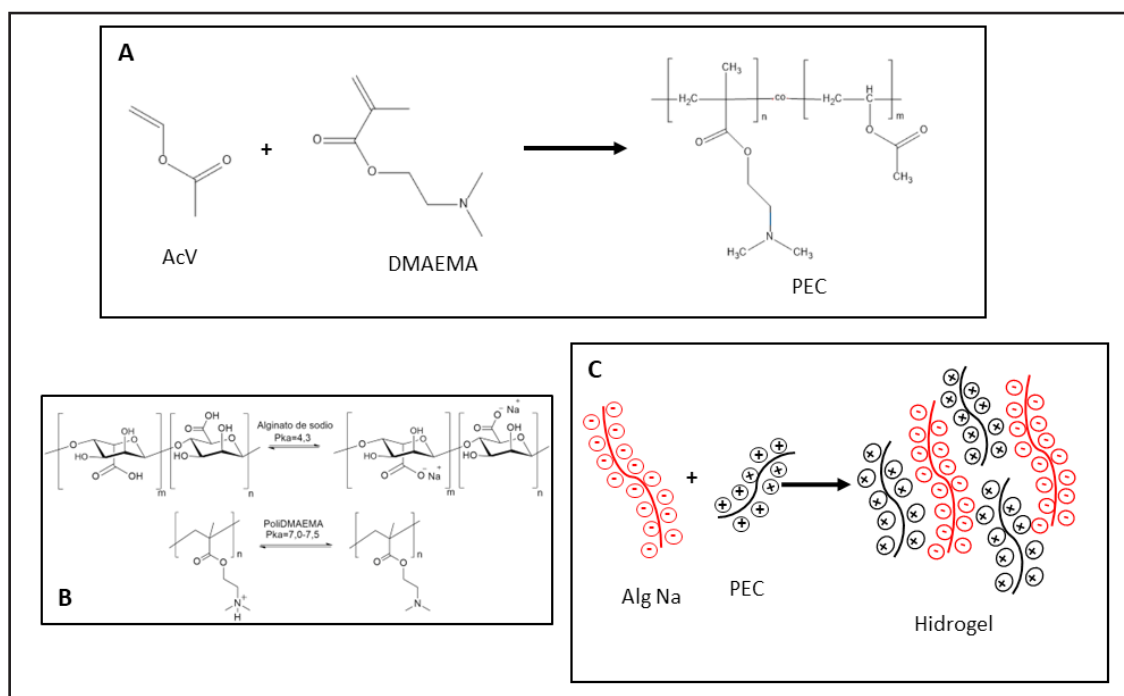


Figura 1. A) Estructura de los monómeros acetato de vinilo (AcV) y N,N-dimetilaminoetil metacrilato (DMAEMA) para la obtención del polielectrolito catiónico (PEC). B) Estructura iónica y no iónica dependiendo del pH de los grupos carboxílicos del alginato de sodio y de la amina terciaria del DMAEMA en PEC. C) Formación del hidrogel mediante fuerza iónicas sin sonicar.

Caracterización del copolímero mediante resonancia magnética nuclear (RMN)

La composición DMAEMA:AcV del PEC ha sido evaluada mediante resonancia magnética nuclear de protones (¹H-RMN). Para ello se empleó un equipo Burker Avance Neo 500®, solubilizando la muestra en cloroformo-d³ durante las 24 h previas al análisis y utilizando tetrametilsilano (TMS) como patrón interno.

Para el polímero sintetizado se puede calcular la proporción de los monómeros comparando la integración de la señal mediante la siguiente ecuación:

$$F_{AcV} = \frac{2I(OCH)}{I(OCH_2) + 2I(OCH)}$$

Ecuación (2)

donde F_{AcV} es la fracción molar de AcV en el copolímero PEC, $I_{(OCH)}$ corresponde a la intensidad del H unido al grupo acetilo (véase sección resultados y discusión: figura 2A, 4,89 ppm, H asignado = H) y $I_{(OCH_2)}$ al grupo metileno del DMAEMA (figura 2A, 4,07 ppm, H asignado = C).

La fracción de DMAEMA se dedujo de la siguiente manera:

$$F_{DMAEMA} = 1 - F_{AcV}$$

Ecuación (3)

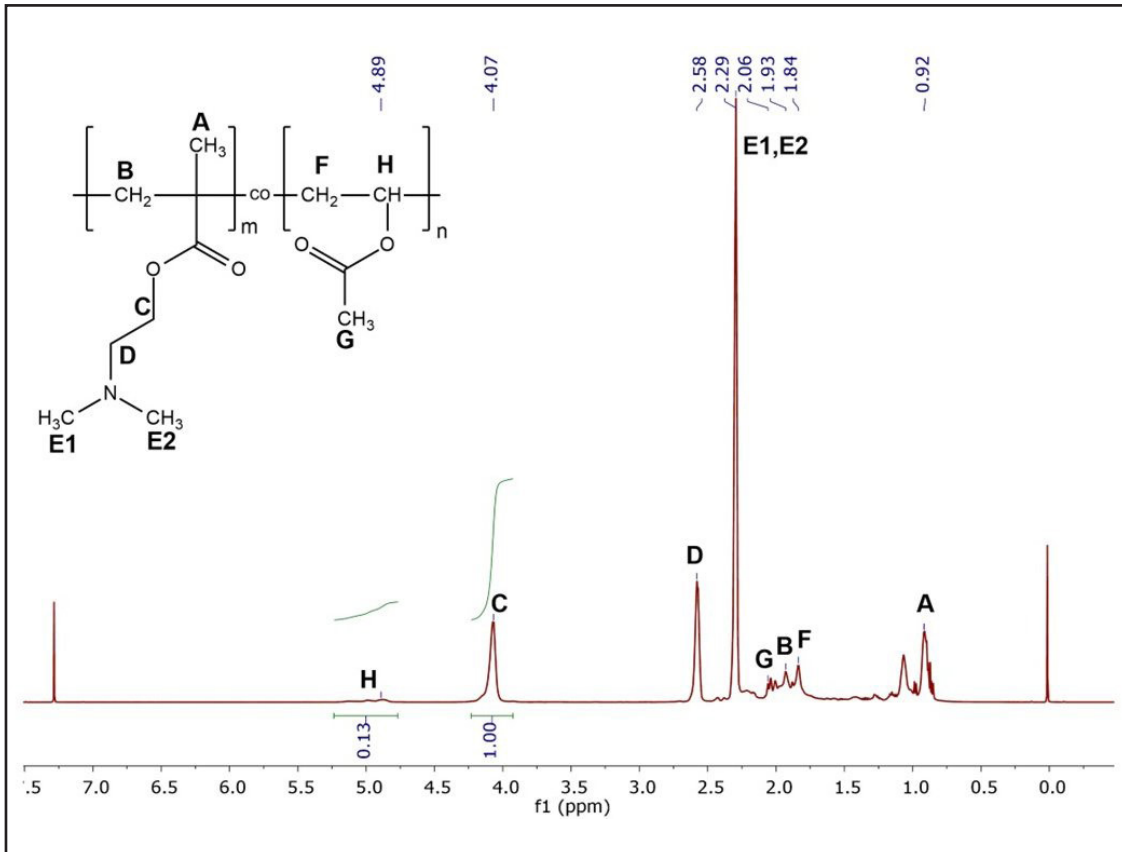


Figura 2. Espectro de ^1H -RMN de PEC empleada para determinar la integración de señales.

Obtención de los hidrogeles alginato-PEC:

El hidrogel se obtuvo a partir del polielectrolito sintético (PEC) y alginato de sodio (polímero natural) mediante entrecruzamiento físico debido a interacciones iónicas establecidas de los dos polímeros que, a $\text{pH}=7$, contienen cargas opuestas (Figura 1). Para mejorar las propiedades del material se compatibilizaron ambos polímeros por ultrasonido, utilizando un equipo HD 60 Bandelin SONOPULS® con accesorios de punta plana TT 12 de titanio, que funciona a una frecuencia de 20 kHz. Se usó una potencia de salida de 37 W en todos los experimentos y la temperatura del recipiente de vidrio con camisa de refrigeración se ajustó a $25,00 \pm 0,02$ °C usando un

termostato MGW Lauda Thermostar RCS6®, según la metodología.³³

El primer paso consistió en preparar las soluciones de polímeros (PEC y AlgNa) en agua destilada, las cuales se agitaron durante 24 h para lograr su total disolución. Los hidrogeles se prepararon mediante el goteo de la solución de AlgNa sobre la solución de PEC, bajo agitación constante y ultrasonido durante un tiempo determinado en una relación final de masa de 2 g de PEC por cada 1 g de alginato de sodio. También se preparó una mezcla con igual proporción que no fue sometida a ultrasonido, para ser utilizada como control con fines comparativos. Luego del proceso de obtención la mezcla se colocó en placas

de teflón tras descartar el sobrenadante y se dejó en el freezer a -20 °C durante toda la noche. Finalmente, las membranas se liofilizaron en un equipo de laboratorio modelo Scientz 10N® (Hinotek, China), hasta alcanzar peso constante.

Caracterización de los hidrogeles alginato-PEC

Hinchamiento

Se estudió la capacidad que tienen los hidrogeles para incorporar agua a la matriz. Para ello, una porción de estos (sin sonicar y sonicado) fueron colocados en agua destilada a 37 °C, midiendo el cambio de peso de la matriz en distintos tiempos. Una vez transcurrido el tiempo estipulado, las muestras se retiraron del medio, se secaron superficialmente y se determinó su peso. El porcentaje de hinchamiento (*swelling*, Sw) se calculó con la siguiente ecuación:

$$\%Sw = \frac{M_t - M_0}{M_0} \times 100$$

Ecuación (4)

donde M_t corresponde a la masa de la muestra hinchada al tiempo t y M_0 es la masa inicial de la membrana.

Caracterización biológica de los hidrogeles

Para los estudios de biocompatibilidad y citotoxicidad se utilizaron células preosteoblásticas MC3T3-E1, células condrocíticas de rata y células RAW 264.7. Las células condrocíticas fueron aisladas del cartílago xifoide de ratas Sprague-Dawley, según la técnica descrita previamente.²⁹ El protocolo de obtención de las células condrocíticas a partir de las ratas fue llevado a cabo de acuerdo con la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio publicada por los Institutos Nacionales de Salud, y fue aprobado por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (Protocolo CICUAL N.º 019-06-15) de Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de

La Plata (UNLP), Argentina. Las células fueron cultivadas en medio DMEM-10% suero fetal bovino (SFB) penicilina/estreptomicina (medio basal) a 37 °C en una atmósfera de 5% CO₂, hasta alcanzar la confluencia (10 días de cultivo). Al cabo de este período, fueron tripsinadas y sembradas sobre los biomateriales.

Evaluación de citotoxicidad

El estudio de la eventual citotoxicidad de los hidrogeles fue llevado a cabo mediante el dosaje de óxido nítrico (NO) liberado hacia el medio de cultivo por RAW 264.7 utilizando el método de Griess.^{34,35} Para eso se colocaron los hidrogeles en una placa con pocillos, se lavaron con PBS estéril, se expusieron a luz ultravioleta por 15 minutos y se agregó medio basal (RPMI + 2% de SFB) con células RAW 264.7. Luego de 3 y 24 horas de cultivo se evaluó la liberación de NO al medio de cultivo.³⁵ Como control positivo de toxicidad, las células fueron cultivadas en presencia de lipopolisacárido (LPS).

Viabilidad celular

Se evaluó la viabilidad de las células RAW 264.7, líneas preosteoblásticas MC3T3E1 y células condrocíticas luego de 3 y 24 horas de cultivo sobre los hidrogeles. Para ello, los materiales fueron cortados y colocados en placa de pocillo, se lavaron con PBS estéril, se expusieron al UV durante 15 min y se cultivaron las células sobre ellos utilizando como medio de cultivo DMEM + 2%SFB. A los tiempos establecidos, una cantidad de células viables se determinó mediante el ensayo de MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol). Este es un compuesto perteneciente a la familia de sales de tetrazolio, soluble en agua y de color amarillo. Al ser reducido por enzimas mitocondriales intactas el MTT se convierte en un compuesto de color violeta e insoluble en agua (formazan). Luego de los tiempos establecidos, se retiró el medio de cultivo, se lavaron los hidrogeles con PBS y se lisaron



las células con dimetilsulfóxido liberando el MTT reducido por las mitocondrias, el cual fue cuantificado midiendo su absorbancia a 570 nm. La intensidad de la absorbancia es directamente proporcional al número de células viables.³⁵

Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante el test-t de Student para las muestras asumiendo varianzas iguales, o mediante ensayos de ANOVA usando un único factor para comparar las muestras, según corresponda. Los datos se consideraron significativamente diferentes cuando la probabilidad sea $p < 0,05$.

Resultados y discusión

La Ingeniería de tejidos es una ciencia interdisciplinaria en busca de materiales que puedan, una vez implantados en el órgano dañado, guiar su reparación. En este trabajo realizamos los primeros ensayos de caracterización de un hidrogel obtenido a partir de alginato (un polímero natural) y un polielectrolito catiónico sintético (PEC).

Caracterización del polielectrolito catiónico

En la figura 1 se pueden ver los monómeros utilizados y la estructura del PEC obtenido. El porcentaje de conversión (% C) promedio de las reacciones de polimerización, calculado con la ecuación 1, fue del 72,8%. La técnica de resonancia magnética nuclear nos permite determinar la estructura molecular de las sustancias. Con esta técnica es posible analizar cuatro elementos: ^1H , ^{13}C , ^{19}F y ^{31}P . En el caso de compuestos orgánicos, estudiando los espectros de ^1H y ^{13}C es posible obtener información muy precisa, ya que estos elementos son los principales componentes de estas sustancias.³⁶ La identificación y determinación de la composición de comonómeros en el copolímero se realizó mediante ^1H -RMN. Debido a que las señales de los hidrógenos son características

de cada monómero, es posible determinar la composición de comonómeros en el copolímero integrando las señales específicas. En la figura 2 se muestra el espectro del copolímero con las asignaciones estructurales. La figura 2A muestra el espectro completo, donde la señal a $\delta = 0$ corresponde al estándar interno tetrametilsilano (TSM) y la señal a $\delta = 7,28$ ppm corresponde al solvente (cloroformo deuterado). Las asignaciones de los diferentes tipos de hidrógenos se detallan en la tabla 1. Fue posible observar señales particulares para cada monómero, cuyas asignaciones concuerdan con los datos de bibliografía.^{37,38}

Luego, al reemplazar el valor obtenido a partir de la integración de la señal (véase Figura 2) en la ecuación 2 y 3 se obtuvo que $F_{\text{DMAEMA}} = 0,81$ y $F_{\text{AcV}} = 0,19$. Sobre la base de este resultado podemos inferir que el monómero más reactivo es el DMAEMA, ya que la fracción de comonómeros en la mezcla inicial fue de $X_{\text{DMAEMA}} = 0,55$ y $X_{\text{AcV}} = 0,45$.

Caracterización de los hidrogeles

Como se indicó en la sección experimental, luego de preparar ambas soluciones de polímeros (alginato de sodio y PEC) a $\text{pH}=7$, se prepararon los hidrogeles mediante el goteo de una de las soluciones sobre la otra, bajo agitación constante, con ultrasonido y sin él durante 40 min en un tiempo determinado. Después de separar el precipitado del sobrenadante, el complejo polielectrolito se colocó en moldes de teflón, se llevó a freezer y, por último, se liofilizó hasta lograr peso constante. La elección de pH del medio se debió a la necesidad de poseer ambos polímeros en la forma ionizada. Como se puede observar en la figura 1B, el pKa del alginato de sodio es 4.3, mientras que el pKa del Poli-DMAEMA entre 7.0-7.5; así, eligiendo el pH de 7, ambos polímeros se encuentran ionizados, el alginato presenta cargas negativas, mientras que el polímero sintético presenta cargas positivas.^{39,40}

Tabla 1. Asignaciones de los desplazamientos de ^1H -RMN

| Hidrógeno | Desplazamiento (ppm) | Asignación |
|-----------|----------------------|---|
| A | 0,92 | -CH3 cadena principal de la unidad repetitiva DMAEMA |
| B | 1,93 | -CH2- cadena principal de la unidad repetitiva DMAEMA |
| C | 4,07 | -OCH2- grupo pendiente unidad repetitiva DMAEMA |
| D | 2,58 | -CH2N- grupo pendiente unidad repetitiva DMAEMA |
| E | 2,29 | -NCH3 grupo pendiente unidad repetitiva DMAEMA |
| F | 1,84 | -CH2- cadena principal de la unidad repetitiva AcV |
| G | 2,06 | -CH3 grupo pendiente unidad repetitiva AcV |
| H | 4,89 | -CH- cadena principal unidad repetitiva AcV |

Un importante desafío en la síntesis de biomateriales es conseguir un material que sea estable y, al mismo tiempo, garantice una estructura homogénea cuando se mezclan los componentes (en este caso, polímeros). Para mejorar la compatibilización se han desarrollado diversos métodos entre los cuales se destaca el uso de ultrasonido. Las ondas ultrasónicas de baja frecuencia provocan cambios estructurales y químicos en los sistemas de polímeros generando la rotura de cadenas poliméricas, principalmente cerca del centro de las cadenas, lo que conduce a la formación de macrorradicales.^{41,42} Estos pueden reaccionar a través de procesos de transferencia o combinación, lo que modifica la distribución inicial del peso molecular, generando incluso polímeros ramificados. Se ha demostrado que este proceso sonoquímico puede derivar en la unión de radicales entre polímeros de distinta naturaleza, lo que amplía las posibilidades de compatibilización.^{27,42-44} La estabilidad mecánica ganada de un hidrogel que ha sido expuesto un proceso de entrecruzamiento químico, como en este caso el ultrasonido, puede demostrarse evaluando la capacidad de hinchamiento o *swelling* del material.^{28,45,46} En la figura 3 observamos el % de hinchamiento, luego de aplicar la ecuación 4, de ambos hidrogeles Alg-PEC sonificado y sin sonificar. Observamos que ambos hidrogeles presentan

una cinética de hinchamiento típica, las cuales poseen dos regiones características: la primera es un aumento lineal del *swelling* en función del tiempo, seguido de una segunda parte donde el hinchamiento de la matriz polimérica llega a un valor máximo, permaneciendo constante ya que se ha alcanzado el equilibrio. Encontramos una rápida incorporación de agua por parte de ambas muestras en los primeros 30 min y luego se alcanza el equilibrio a 40 min logrando un porcentaje de *swelling* máximo (%Smáx) de 143 para la muestra sin sonificar y de 110 en el caso de la muestra con sonicación a los 60 min. Encontramos que el hidrogel sin sonificar absorbe más solvente (en nuestro caso agua) que el hidrogel que ha sido expuesto a ultrasonido; esto se debe a que la condensación de los macrorradicales desarrollados ha generado entrecruzamiento químico entre las moléculas poliméricas, dando lugar a una estructura tridimensional más rígida y por ende con menos grados de libertad para el movimiento de las cadenas, lo que repercute en una menor capacidad de absorber el solvente.

Una característica importante de los biomateriales resulta ser su biocompatibilidad, es decir, que posea la capacidad de colaborar en reparar el tejido de interés sin desencadenar efectos tóxicos.⁷ Para los ensayos de citotoxicidad se utilizaron células RAW 2647, que derivan

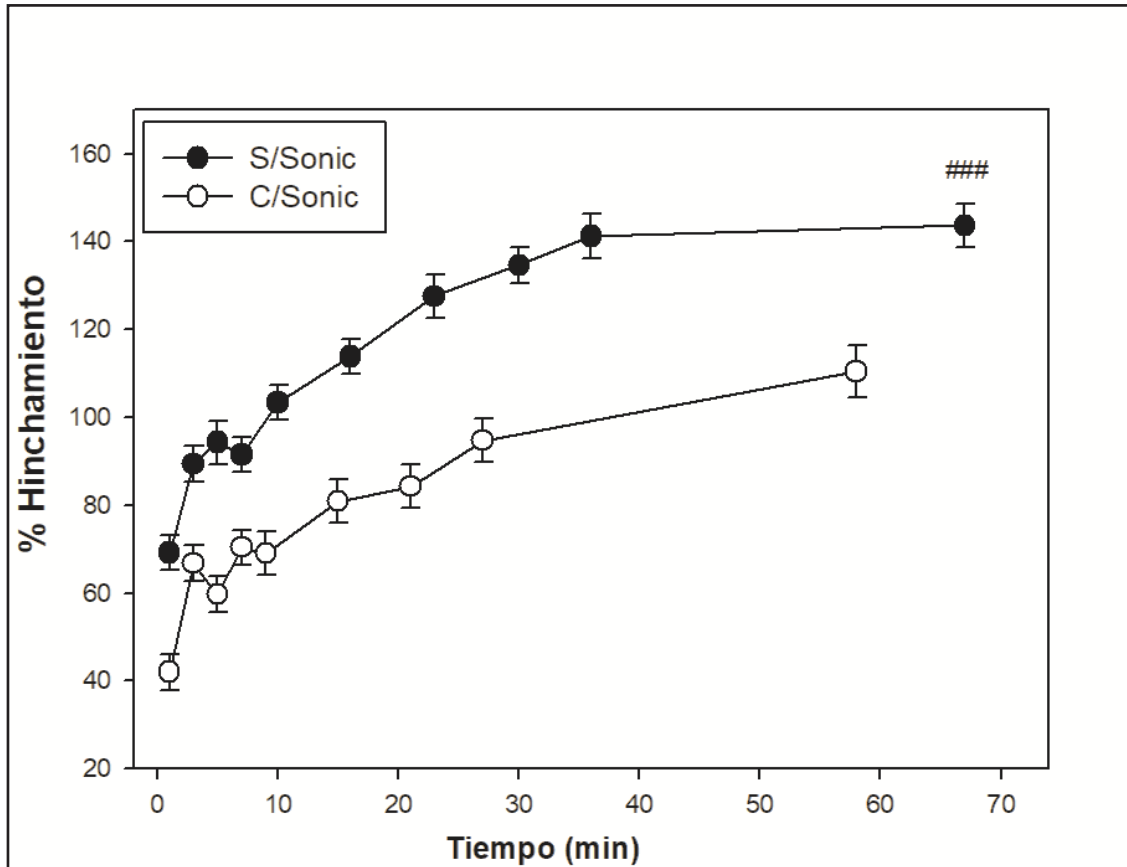


Figura 3. Porcentaje (%) de hinchamiento en agua para los hidrogeles con sonicado y sin él. ###: $p < 0,001$ con respecto al sonicado.

de macrófagos murinos (*Mus musculus*) obtenidos a partir de un tumor inducido por la inyección intraperitoneal del virus de leucemia Abselon en ratones macho adultos de la cepa BALB/c. Estas células crecen adhiriéndose a las superficies de cultivo estándares y poseen morfología monocítica.⁴⁷ La línea celular expresa distintos marcadores de citotoxicidad tales como síntesis de interleuquinas, producción de óxido nítrico (NO), expresión de óxido nítrico sintasa (NOS) y, además, poseen capacidad de diferenciarse hacia macrófagos con alta capacidad fagocítica.^{48,49} Por este motivo constituyen un excelente modelo biológico *in vitro* para estudios de citotoxicidad y degradación

de distintos materiales y sustancias.³⁵ En la figura 4A se puede observar la producción y liberación de NO al medio de cultivo por parte de las células RAW264.7 tanto a 3 h como a 24 h de cultivo crecidas sobre los hidrogeles. Como control y control positivo de toxicidad se utilizaron las células crecidas sobre los pocillos sin o con LPS, respectivamente. Encontramos que las células crecidas sobre los hidrogeles sin sonicar produjeron un aumento significativo en la producción de NO con respecto al control e hidrogel con sonicación tanto a 3 h como a 24 h, pero significativamente menor que el control positivo. En cambio, las células crecidas sobre el hidrogel con sonicación

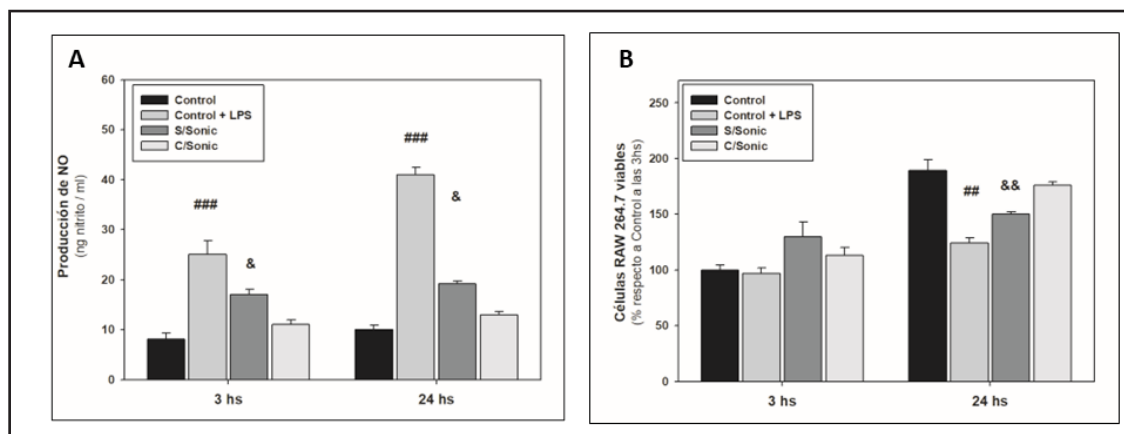


Figura 4. A) Producción de NO luego de 3 y 24 h de las células RAW264.7 crecidas sobre los hidrogeles, control y control más lipopolisacárido (LPS). B) Viabilidad de las células RAW 264.7 cultivadas sobre las distintas condiciones a 3 h y 24 h. ###: $p < 0,001$ con respecto al resto de las condiciones en igual tiempo de cultivo; &: $p < 0,05$ con respecto a control e hidrogel con sonicación en igual tiempo de cultivo; &&: $p < 0,01$ con respecto a control e hidrogel con sonicación en igual tiempo de cultivo.

produjeron para ambos tiempos niveles de NO similares a los de las células control. Para ambos tiempos también hemos evaluado la viabilidad de las células crecidas sobre las distintas condiciones.

Como se ve en la figura 4B, no hubo diferencia significativa en la viabilidad celular luego de 3 h; en cambio, después de 24 h, hubo menos células viables sobre el hidrogel sin sonicación con respecto al control, no así sobre el hidrogel sonificado, en el cual no hubo diferencia con respecto al control. Estos resultados sugieren que la interacción lograda por ultrasonido de los polímeros que componen el biomaterial produce un material menos citotóxico para las células y una superficie más propicia para su crecimiento, debido probablemente a la homogeneidad lograda en la muestra.

Debido a que los hidrogeles aquí evaluados han sido diseñados para ser utilizados como *scaffolds* en Ingeniería de Tejidos tanto óseo como cartilaginoso, resulta importante saber

cómo es el comportamiento de células específicas de estos tejidos sobre los biomateriales. En la figura 5 se pueden observar los resultados al evaluar la viabilidad celular de las células MC3T3E1 y células condrocíticas sobre los hidrogeles. En la figura 5A encontramos que al cabo de 3 h no hubo diferencia significativa en la cantidad de células MC3T3E1 entre los hidrogeles y control. Después de 24 h de cultivo, las células proliferaron menos sobre ambos hidrogeles con respecto al control, lo cual es un hecho comúnmente encontrado, pues los pocillos de cultivo están diseñados para aumentar la proliferación celular;^{29,31,33} no obstante, las células mostraron una mayor proliferación sobre el hidrogel que fue obtenido con sonicación que el que se obtuvo sin sonicación. En la figura 5B se evaluó la proliferación de las células condrocíticas y encontramos un efecto similar al de las células MC3T3E1, con la salvedad de que no hubo diferencia en la proliferación de las células condrocíticas sobre los hidrogeles sin

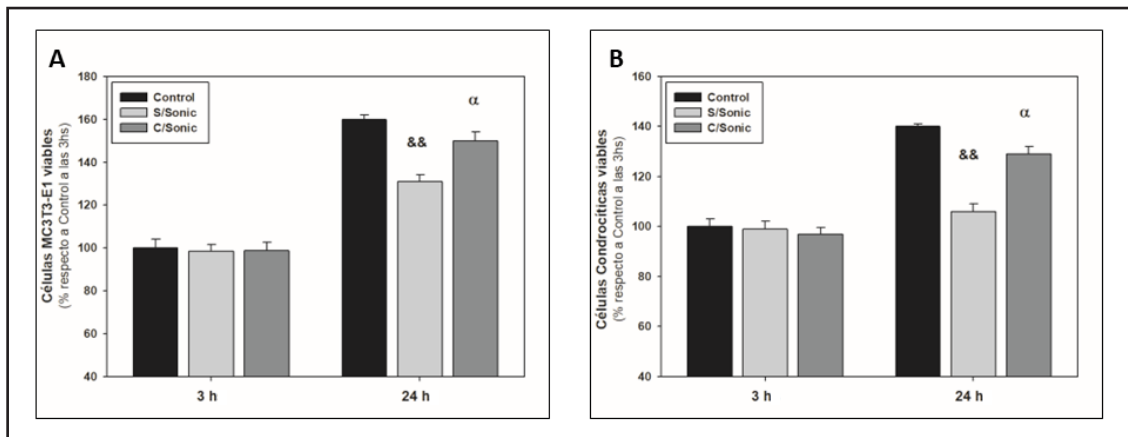


Figura 5. Viabilidad de las células preosteoblásticas MC3T3E1 (A) y células condrocíticas (B) crecidas sobre control, hidrogel sin sonicación e hidrogel con sonicación. &&: $p < 0,01$ con respecto a control e hidrogel con sonicación en igual tiempo de cultivo; α : $p < 0,05$ con respecto a control en igual tiempo de cultivo.

sonicar entre ambos tiempos ($99\% \pm 3\%$ a 3 h vs. $106\% \pm 3\%$ a 24 h).

La estrategia del uso de alginato como polianión entrecruzado con poliacrilato para obtener biomaterial que pueda servir como *scaffold* en ingeniería de tejido también ha sido utilizada por otros autores. Recientemente, Singh y Pramanik han desarrollado un sistema tridimensional de complejos polielectrolitos con distintas proporciones de alginato y quitosano. Demostraron que el aumento de proporción de alginato aumenta la capacidad de hinchamiento del material; además, mostraron que la cantidad de células de osteosarcoma Saos-2 viables crecidas sobre todos los biomateriales aumentaron durante los 5 días en que se evaluó la proliferación celular.⁵⁰ En otro trabajo interesante, Xue y cols. desarrollaron un hidrogel utilizando alginato y poly-L-ornitina como PEC con función de *carrier* de células para ingeniería de tejido.⁵¹

En conclusión, hemos sintetizado un poliacrilato que, al ser utilizado junto a alginato de sodio con ultrasonido, permitió obtener un novedoso

e interesante biomaterial con capacidad de rápido hinchamiento, no citotóxico y biocompatible durante el período de tiempo estudiado. Si bien los resultados aquí detallados son prometedores, deben ser desarrollados estudios adicionales a fin de mejorar la caracterización de los materiales; por ejemplo, estudios de degradación y propiedades mecánicas. Además, debido a que el objetivo del presente estudio es comenzar a caracterizar los biomateriales, los resultados de pruebas adicionales nos permitirán evaluar la capacidad osteoinductora, condroinductora y angiinductora de los hidrogeles para luego realizar estudios en modelos *in vivo* y poder conocer la eficacia y seguridad del uso de estos como biomaterial en el área Ingeniería de Tejidos óseo y cartilaginoso.

Agradecimientos: Este trabajo fue subsidiado por ANPCyT (Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, PICT 2019-1007), por la Universidad Nacional de La Plata (UNLP) y por la Comisión de Investigaciones Científicas (CIC) de la Provincia de Buenos Aires.

MVM es Lic. en Biotecnología y Biología Molecular de la FCE, UNLP; AHR es becario posdoctoral de CONICET; TGO y JMF son miembros de la Carrera del Investigador del CONICET.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Recibido: abril 2024

Aceptado: septiembre 2024

Referencias

1. Azi ML, Aprato A, Santi I, Kfuri M Jr, Masse A, Joeris A. Autologous bone graft in the treatment of post-traumatic bone defects: a systematic review and meta-analysis. *BMC Musculoskeletal Disord* 2016;14:465.
2. Morosano M, Masoni A, Sánchez A. Incidence of hip fractures in the city of Rosario, Argentina. *Osteoporos Int* 2005;16:1339.
3. Lu Y-C., Lin Y-C., Lin Y-K., Liu Y-J. Prevalence of Osteoporosis and Low Bone Mass in Older Chinese Population Based on Bone Mineral Density at Multiple Skeletal Sites. *Scientific Reports* 2016;6:25206.
4. Rojas Padilla LG, Quintero Hernández S, Jiménez Ávila J, López Cervantes RE, Amadei R, Pesciallo C, et al. Hip fracture care – Latin America. *OTA Int* 2020;3(1):e064.
5. Garabano G, Cubecino A, de Bielke HS, Robador N, Olivetto JM, Sierto M, Gamarra D. Epidemiología de la fractura de cadera en la Argentina. *Rev Asoc Arg Ortop Traumatol* 2020;85:437-446.
6. IOF2022 <https://www.osteoporosis.foundation/sites/iofbonehealth/files/2022-09/LATAM%20Audit%202021%20-%20Secci%C3%B3n%20General%20-%20FINAL.pdf>
7. Fernández JM. Importancia de la angiogénesis en el diseño de scaffolds para ingeniería de tejido óseo. *Actual Osteol* 2020;16(3):211-31.
8. Schurman L, Bagur A, Claus-Hermsberg H, Messina OD, Negri A, Sánchez AI. Guías para diagnóstico, prevención y tratamiento de la osteoporosis 2007. *Rev Arg Osteol* 2007;6:27-42.
9. Vinatier C, Guicheux J. Cartilage tissue engineering: From biomaterials and stem cells to osteoarthritis treatments. *Ann Phys Rehab Med* 2016;59:139-44.
10. Yao Q, Wu X, Tao C, Gong W, Chen M, Qu M, et al. Osteoarthritis: pathogenic signaling pathways and therapeutic targets. *Signal Transduct Target Ther* 2023;8(1):56.
11. Giorgino R, Albano D, Fusco S, Peretti GM, Mangiavini L, Messina C. Knee Osteoarthritis: Epidemiology, Pathogenesis, and Mesenchymal Stem Cells: What Else Is New? An Update. *Int J Mol Sci* 2023;24(7):6405.
12. Allen KD, Thoma LM, Golightly YM. Epidemiology of osteoarthritis. *Osteoarthr Cartilage* 2022;30:184-95.
13. Correa D, Lietman SA. Articular cartilage repair: Current needs, methods and research directions. *Semin Cell Dev Biol* 2017;62:67-77.
14. Grotle M, Hagen KB, Natvig B, Dahl FA, Kvien TK. Obesity and osteoarthritis in knee, hip and/or hand: an epidemiological study in the general population with 10 years follow-up. *BMC Musculoskel Dis* 2008;9:132-6.
15. Zhang Y, Jordan JM. Epidemiology of osteoarthritis. *Clin Geriatric Med* 2010;26:355-69.
16. Gelber AC, Hochberg MC, Mead LA, Wang NY, Wigley FM, Klag MJ. Joint injury in young adults and risk for subsequent knee and hip osteoarthritis. *Ann Intern Med* 2000;133:321-8.



17. Ritcher W. Mesenchymal stem cells and cartilage in situ regeneration. *J Int Med* 2009;266:390-405.
18. Loures FB, Chaoubah A, Oliveira VM, Almeida AM, Campos EM, Paiva EP. Economic analysis of surgical treatment of hip fracture in older adults. *Rev Saude Publica* 2015;49:12.
19. Krajewska-Włodarczyk M, Owczarczyk-Saczonek A, Placek W, Osowski A, Wojtkiewicz J. Articular Cartilage Aging-Potential Regenerative Capacities of Cell Manipulation and Stem Cell Therapy. *Int J Mol Sc* 2018;19:623-48.
20. Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science* 1993;14:920-6.
21. Spiller KL, Maher SA, Lowman AM. Hydrogels for the repair of articular cartilage defects. *Tissue Eng Part B Rev* 2011;17(4):281-99
22. Suamte L, Tirkey A, Barman J, Babu PJ. Various manufacturing methods and ideal properties of scaffolds for tissue engineering applications. *Smart Mater Manufact* 2023;1:100011.
23. Liu M, Zeng X, Ma C, Yi H, Ali Z, Mou X, et al. Injectable hydrogels for cartilage and bone tissue engineering. *Bone Res* 2017;5:17014.
24. Costa L, Silva-Correia J, Oliveira JM, Reis RL. Gellan Gum-Based Hydrogels for Osteochondral Repair. En: Oliveira JM, Pina S, Reis RL, San Roman J (eds). *Osteochondr Tiss Eng* 2018;1058:281-304.
25. Cortizo MS, Molinuevo MS, Cortizo AM. Biocompatibility and biodegradation of polyester and polyfumarate based-scaffolds for bone tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med* 2008;2:33-42.
26. Belluzo MS, Medina LF, Cortizo AM, Cortizo MS. Ultrasonic compatibilization of polyelectrolyte complex based on polysaccharides for biomedical applications. *Ultrasonics Sonochem* 2016;30:1-8.
27. Fernández JM, Molinuevo MS, Cortizo AM, McCarthy AD, Cortizo MS. Characterization of poly (ϵ -caprolactone)/ Polyfumarate blends as scaffolds for bone tissue engineering. *J Biomat Sci Polym E* 2010;21(10):1297-312.
28. Fernández JM, Oberti TG, Vikingsson L, Gomez-Ribelles JL, Cortizo AM. Biodegradable polyester networks including hydrophilic groups favor BMSCs differentiation and can be eroded by macrophage action. *Polym Deg Stab* 130;2016:38-46.
29. Lastra ML, Molinuevo MS, Cortizo AM, Cortizo MS. Fumarate Copolymer-Chitosan Cross-Linked Scaffold Directed to Osteochondrogenic Tissue Engineering. *Macromol Bioc* 2017;17:1600219.
30. Torres ML, Fernández JM, Dellatorre FG, Cortizo AM, Oberti TG. Purification of alginate improves its biocompatibility and eliminates cytotoxicity in matrix for bone tissue engineering. *Algal Res* 2019;40:101499.
31. Torres ML, Oberti TG, Fernández JM. HEMA and Alginate-based chondrogenic semi-interpenetrated hydrogels: Synthesis and Biological Characterization. *J Biomat Sci Polym E* 2021; 32(4):504-23.
32. Zhang M, Zhao X. Alginate hydrogel dressings for advanced wound management. *Int J Biol Macromol* 2020;162:1414-28
33. Belluzo MS, Medina LF, Molinuevo MS, Cortizo MS, Cortizo AM. Nanobiocomposite based on natural polyelectrolytes for bone regeneration. *J Biomed Mater Res Part A* 2019;108:1467-78.
34. Fernández JM, Cortizo MS, Cortizo AM. Fumarate/Ceramic Composite Based Scaffolds for Tissue Engineering: Evaluation of Hydrophylicity, Degradability, Toxicity and Biocompatibility. *J Biomat Tiss Eng* 2014;4:227-34.
35. Hurtado Cuba AG, Borgeaud M, Belluzo MS, Oberti TG, Fernández JM. Estudio de biocompatibilidad de matrices poliméricas combinadas, responsivas al pH, con potencial aplicación en ingeniería de tejido óseo. *Actual Osteol* 2023;19:128-43.
36. Ibbett RN (eds). NMR spectroscopy of

- polymers. New Delhi: Springer Science & Business Media; 1993
37. Ni H, Yang Y, Chen Y, Liu J, Zhang L, Wu M. Preparation of a poly(DMAEMA-co-HEMA) self-supporting microfiltration membrane with high anionic permselectivity by electrospinning. *e-Polymer* 2016;17:149-57.
 38. Cherifi BI, Belbachir M, Rahmouni A. Green anionic polymerization of vinyl acetate using Maghnite-Na⁺ (Algerian MMT): synthesis characterization and reactional mechanism. *Discov Chem Eng* 2021;1:5.
 39. Dong Z, Wei H, Mao J, Wang D, Yang M, Bo S, Ji X. Synthesis and responsive behavior of poly(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate) brushes grafted on silica nanoparticles and their quaternized derivatives. *Polymer* 2012;53:2074-84.
 40. Yan P, Lan W, Xie J. Modification on sodium alginate for food preservation: A review. *Trends Food Sci Tech* 2024;143:104217.
 41. Suslick KS, Price GJ. Applications of ultrasound to materials chemistry. *Annu Rev Mater Sci* 1999;29(1):295-326.
 42. Feng W, Isayev AI. In situ compatibilization of PP/EPDM blends during ultrasound aided extrusion. *Polymer* 2004;45(4):1207-16.
 43. Tabata M, Miyazawa T, Kobayashi O, Sohma J. Direct evidence of main-chain scissions induced by ultrasonic irradiation of benzene solutions of polymers. *Chem Phys Lett* 1980;73(1):178-80.
 44. Lebovitz AH, Gray MK, Chen AC, Torkelson JM. Interpolymer radical coupling reactions during sonication of polymer solutions. *Polymer* 2023;44(10):2823-28.
 45. Oh JS, Isayev AI, Rogunova MA. Continuous ultrasonic process for in situ compatibilization of polypropylene/natural rubber blends. *Polymer* 2023;44(8):2337-49.
 46. El Sherbiny IM, Yacoub MJ. Hydrogel scaffolds for tissue engineering: Progress and challenges. *Glob Cardiol Sci Pract* 2013;3: 316-42.
 47. Radulescu DM, Neacsu IA, Grumezescu AM, Andronescu E. New Insights of Scaffolds Based on Hydrogels in Tissue Engineering. *Polymers* 2022;14(4):799.
 48. Raschke WC, Baird S, Ralph P, Nakoinz I. Functional macrophage cell lines transformed by Abelson leukemia virus. *Cell* 1978;15(1):261-7.
 49. Denlinger LC, Fiset PL, Garis KA, et al. Regulation of inducible nitric oxide synthase expression by macrophage purinoreceptors and calcium. *J Biol Chem* 1996;271(1):337-42.
 50. Singh AK, Pramanik K. Fabrication and investigation of physicochemical and biological properties of 3D printed sodium alginate-chitosan blend polyelectrolyte complex scaffold for bone tissue engineering application. *J Appl Polym Sci* 2023;140:e53642.
 51. Xue W, Liu B, Zhang H, et al. Controllable fabrication of alginate/poly-L-ornithine polyelectrolyte complex hydrogel networks as therapeutic drug and cell carriers. *Acta Biomater* 2022;138:182-92.



ARTÍCULO ORIGINAL / Original

VITAMINA D, INHIBIDOR DE LA PROTEASA LEUCOCITARIA SECRETORA (SLPI) Y OBESIDAD EN MUJERES ADULTAS MAYORES. ESTUDIO PRELIMINAR

Mariana Seijo,^{1*} Nella Gabriela Ambrossi,² Marina Soledad Bonanno,¹ Magalí Zeni Coronel,¹ Eduardo Chuluyan,² Susana Noemí Zeni,¹ Beatriz Oliveri¹

1. Laboratorio Osteoporosis y Enfermedades metabólicas óseas. INIGEM-CONICET-UBA.

Buenos Aires, Argentina

2. CEFYBO-CONICET, Facultad de Medicina, UBA. Buenos Aires, Argentina

Resumen

La vitamina D tiene acciones antiinflamatorias y aumenta la expresión de péptidos antimicrobianos. Niveles bajos de 25 hidroxivitamina D (25OHD) se relacionan con la obesidad. El inhibidor secretor de proteasa leucocitaria (SLPI) es un péptido serina proteasa no glicosilado con actividad antimicrobiana y antiinflamatoria que podría asociarse con la obesidad y la inflamación. Objetivo: evaluar la correlación entre la 25OHD y el SLPI en las mujeres y su relación con la obesidad. Para ello, se incluyeron 32 mujeres posmenopáusicas (69±6 años), sin patologías o medicaciones que pudieran afectar el estado inflamatorio. Se midieron el peso corporal (PC) (kg) y estatura (m) y se calculó el índice de masa corporal (IMC). Se determinaron los niveles de SLPI (ng/mL) (ELISA) y 25OHD (ng/mL) (RIA). La masa grasa (densitometría) (gr) se normalizó por el PC para obtener el porcentaje de masa

grasa (PMG). Resultados (X±SD): el IMC fue de 30,3±6,9 y el PMG de 43,9±9,6. SLPI osciló entre 1,9 y 29,7 (13,1±6,8) y la 25OHD entre 8,2 y 48 ng/mL (22,1±13,7). El PMG, pero no el IMC, se correlacionó negativamente con el SLPI ($r=-0,64$, $p=0,01$) y la 25OHD ($r=-0,69$, $p=0,01$). El SLPI se correlacionó con la 25OHD ($r=0,61$, $p=0,01$). Tomando las mujeres obesas con suficiencia de 25OHD, la correlación entre ambos fue altamente significativa ($r=0,97$; $p<0,0001$). Conclusiones: además de favorecer la liberación de péptidos antimicrobianos, nuestros resultados mostraron que niveles adecuados de 25OHD correlacionan positivamente con SLPI en obesidad. Serían necesarios estudios adicionales en una población más amplia para aclarar si esta correlación es clínicamente relevante.

Palabras clave: inhibidor de la proteasa leucocitaria secretora, vitamina D y obesidad, mujeres

*E-mail: mseijo@fmed.uba.ar

VITAMIN D, SECRETORY LEUKOCYTE PROTEASE INHIBITOR (SLPI) AND OBESITY IN ELDER WOMEN. PRELIMINARY STUDY

Abstract

Vitamin D has anti-inflammatory actions, increasing the expression of antimicrobial peptides. Low levels of 25hydroxyvitamin D (25OHD) are associated with obesity. Secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) is a non-glycosylated serine protease peptide with antimicrobial and anti-inflammatory activity, which could be associated with obesity and inflammation. Objective: to evaluate the correlation between 25OHD and SLPI in women and its relationship with obesity. Thirty-two postmenopausal women (69±6 years), without conditions or medications that could affect their inflammatory status, were included. Body weight (BW) (kg) and height (m) were measured and body mass index (BMI) was calculated. SLPI (ng/mL)

(ELISA) and 25OHD (ng/mL) (RIA) levels were determined. Fat mass (densitometry) (gr) was normalized by BW to obtain percent fat mass (PFM). Results (X±SD): BMI was 30.3±6.9 and PFM was 43.9±9.6. SLIP ranged from 1.9 to 29.7 (13.1±6.8) and 25OHD ranged from 8.2 to 48 ng/mL (22.1±13.7). PFM, but not BMI, negatively correlated with SLIP ($r=-0.64$, $p=0.01$) and 25HOD ($r=-0.69$, $p=0.01$). SLPI correlated with 25OHD ($r=0.61$, $p=0.01$). For obese women with 25OHD sufficiency, the correlation between both was highly significant ($r=0.97$; $p<0.0001$). Conclusions: In addition to favoring the release of antimicrobial peptides, our results showed that adequate 25OHD levels correlate positively with SLIP in obesity. Further studies in a larger population would be necessary to clarify whether this correlation is clinically relevant.

Keywords: Secretory leukocyte protease inhibitor, vitamin D and obesity, women

Introducción

La vitamina D (VD) es esencial para la salud ósea y la regulación del metabolismo fosfocálcico. En los últimos años se han ampliado las investigaciones sobre su participación en la homeostasis de diferentes sistemas: cardiovascular, muscular, sistema inmune tanto innato como adquirido, y en la regulación del crecimiento y diferenciación celular.¹

El estado nutricional respecto de la VD se clasifica en suficiencia, insuficiencia y deficiencia según los niveles séricos 25OHD. Diversos factores de riesgo se encuentran implicados en la posibilidad de alcanzar niveles bajos de 25OHD. Entre ellos podemos citar la edad extrema, el sexo femenino, la desnutrición, el fototipo de piel oscura, la estación invernal, el nivel socioeconómico bajo y la obesidad.² Se ha demostrado que la obesidad, definida por un IMC > 30 kg/m², se encuentra asociada a un mayor riesgo de insuficiencia/

deficiencia de VD en sujetos de todas las edades independiente de la latitud y del estado de desarrollo socioeconómico del individuo.^{2,3}

El inhibidor secretor de proteasa leucocitaria (SLPI) es una proteína catiónica no glicosilada, secretada por varios tipos celulares incluyendo neutrófilos, macrófagos, plaquetas y células epiteliales, entre otras. Su expresión puede ser alterada por diversos estímulos, incluyendo lipopolisacáridos (LPS), elastasa neutrofílica y citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias.⁴ El SLPI desempeña funciones entre las que podemos citar: (i) efectos antimicrobianos, proporcionando una primera línea de defensa contra la infección, (ii) control del procesamiento de mediadores inflamatorios que protegerán al huésped de daños tisulares excesivos generados por enzimas proteolíticas liberadas durante la inflamación, (iii) supresión de las respuestas inflamatorias controlando la actividad del factor de transcripción



NFKB, (iv) regulación de la producción y la función proinmunogénica de las trampas extracelulares de neutrófilos y (v) favorecer la reparación; asimismo es un componente de la maquinaria molecular que controla el crecimiento, la diferenciación y la apoptosis celular. El resultado neto de las acciones del SLPI es contrarrestar las respuestas inflamatorias excesivas.⁵

Como es sabido, la obesidad es un estado crónico multifactorial de balance energético positivo y acumulación excesiva de grasa, que conlleva un estado de inflamación crónica de bajo grado asociado a una disminución de la esperanza de vida.^{2,6} La relación de la VD y la obesidad ha sido estudiada y se ha reportado que tanto la masa grasa (MG) como el porcentaje de masa grasa (PMG) se asocian de forma inversa con los niveles de VD independientemente de la latitud y la edad^{2,7} y tanto en los individuos con obesidad como en los que presentan insuficiencia de VD existe una elevación de los niveles de citoquinas proinflamatorias.⁸⁻¹⁰ El SLPI también se expresa en el tejido adiposo y puede desempeñar una función antiinflamatoria en los adipocitos reduciendo la expresión sistémica y local de las citoquinas inflamatorias, incluido el TNF- α .^{10,11}

Sobre la base de lo expuesto, el objetivo del presente estudio fue relacionar los niveles de SLPI con el sobrepeso y la obesidad y determinar la relación existente entre los niveles de VD y SLPI en mujeres posmenopáusicas.

Materiales y métodos

Materiales

Diseño del estudio

Estudio descriptivo de base poblacional.

Población

Un total de 123 mujeres mayores de 65 años se presentaron para ser evaluadas en el contexto de la Semana de la Osteoporosis en el Hospital de Clínicas José de San Martín de la Universidad de Buenos Aires (UBA), en el año 2019. Del total de participantes, solo 32 fueron

incorporadas al análisis ya que el resto contaba con uno o más de los criterios de exclusión.

Muestra

Todas las mujeres completaron un cuestionario que incluía antecedentes clínicos, nutricionales y tipo de medicación utilizada durante los últimos 3 meses previos al estudio.

Las muestras de sangre fueron obtenidas en ayunas. Dichas muestras fueron centrifugadas y los sueros guardados congelados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta la realización de las mediciones bioquímicas.

Criterios de inclusión: mujeres mayores de 65 años.

Criterios de exclusión: mujeres bajo tratamiento con fármacos que afecten el metabolismo óseo y mineral, y mujeres con patologías o medicaciones que pudieran alterar el estado inflamatorio (enfermedades infecciosas en los últimos 3 meses; enfermedades autoinmunes; insuficiencia renal [clearance de creatinina $<60\text{ mL/min}$], cáncer, medicación glucocorticoide o inmunosupresora).

Variables del estudio

Variables antropométricas

- Edad: en años.
- Talla: medida en centímetros, tomando la altura desde la coronilla de la cabeza hasta los pies (talones) de pie (parado).
- Peso corporal: expresada en kilogramos, tomando el valor del peso corporal con la ropa puesta, sin zapatos o accesorios pesados, como teléfonos móviles y carteras, y utilizando balanzas de pesaje manual.
- Índice de masa corporal (IMC): talla sobre el peso al cuadrado. Se utilizaron los puntos de corte del IMC establecidos por la OMS que define un IMC $< 18,5$ con delgadez, entre 18,5 y 24,9 normal, entre 25 y 29,9 con sobrepeso y de 30 o más con obesidad.¹²
- Porcentaje de masa grasa (PMG): valor de masa grasa (MG) en gramos normalizada por el peso corporal en kilogramos.

Variables densitométricas

- Masa grasa: medida en gramos por el método de absorciometría de rayos X de energía dual (DEXA), la cual utiliza una dosis muy pequeña de radiación ionizante para producir imágenes del interior del cuerpo.

Consideraciones éticas

Las participantes firmaron un consentimiento informado previo a quedar incluidas dentro de él. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital de Clínicas, según disposición de ANMAT 5330/97, cumpliendo con sus requisitos éticos, legales y jurídicos basados en el Código de Núremberg y la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (última versión y sus modificaciones).

Métodos

Seguimiento de las participantes

Al finalizar el procesamiento de todas las muestras, cada participante recibió el informe de los resultados de sus estudios.

Determinaciones bioquímicas

Las determinaciones de 25OHD fueron realizadas mediante el método de radioinmunoanálisis (RIA)/Competición proteica comercial (Elecsys® Vitamin D Roche S.A.) (Sensibilidad 2,2 ng/mL). Para el estudio de los distintos parámetros, las mujeres fueron divididas según la concentración de 25OHD en aquellas con niveles < 30 ng/mL (insuficiencia) y aquellas con niveles > 30 ng/mL (suficiencia).¹³

Las determinaciones de SLPI fueron realizadas en el CEFYBO-CONICET, Facultad de Medicina, UBA, Argentina, mediante metodología de doble anticuerpo por ELISA.¹⁴

Los análisis bioquímicos fueron realizados en un único ensayo para evitar las variaciones interensayo, al final del estudio.

Análisis estadístico

Los datos se expresaron como media \pm desvío estándar (DE) para variables continuas. Se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov

para analizar la normalidad de las variables. En función de los resultados de esta prueba se realizaron análisis descriptivos de la población, paramétricos o no paramétricos. Las comparaciones entre grupos se efectuaron usando ANOVA para muestras independientes. Las correlaciones se calcularon mediante la prueba de Pearson. Un valor de $p < 0,05$ se consideró significativo. Para el análisis estadístico se utilizó un procesador SPSS 20.0® Chicago, IL, USA.

Resultados

La edad promedio de las mujeres incluidas en el estudio fue de 69 ± 6 años, con una talla de $1,55 \pm 0,07$ metros, un peso de $72,1 \pm 16,1$ kg y un IMC de $30,3 \pm 6,9$ kg/m². El valor total promedio de MG fue de $32,4 \pm 12,2$ g y de PMG fue de $44,7 \pm 29,7\%$. El valor promedio de los niveles de 25OHD fueron de $22,1 \pm 13,7$ ng/mL, mientras que los de SLPI fueron de $13,1 \pm 6,8$ ng/mL (Tabla 1).

El % de PMG correlacionó negativamente tanto con los niveles de SLPI ($r = -0,64$; $p < 0,01$) como con los niveles de 25OHD ($r = -0,69$; $p < 0,01$) (Figura 1).

Los niveles de SLPI y los de 25OHD cuando se consideró el grupo total de las mujeres estudiadas presentaron una correlación positiva entre ellos ($r = 0,61$; $p < 0,01$) (Figura 2 A). Sin embargo, cuando solo se tomaron las mujeres obesas con suficiencia de VD, la correlación se hizo altamente significativa ($r = 0,97$; $p < 0,0001$) (Figura 2 B). Contrariamente, la correlación entre VD y SLPI en las mujeres con niveles de 25HOD < 30 ng/mL no presentó significancia estadística ($r = -0,23$; $p = 0,35$).

Cuando las mujeres fueron divididas en grupos según el nivel de 25OHD, se observó que aquellas con niveles < 30 ng/mL presentaban menor talla, mayor peso corporal y mayor IMC. Por otra parte, en este grupo, los niveles de SLPI fueron significativamente menores ($p < 0,0001$), mientras que los valores promedio de MG y PMG fueron significativamente mayores ($p < 0,001$) (Tabla 1).



Tabla 1. Variables antropométricas y bioquímicas en el total de mujeres y divididas por grupos según el nivel de 25OHD.

| | Total de mujeres (n=32) | < 30ng/mL (n=18) | >30ng/mL (n=14) |
|--------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|
| Edad (años) | 69±6 (60 - 82) | 68±6 (60 - 82) | 70±5 (61 - 80) |
| Talla (m) | 1,55±0,07 (1,43 - 1,68) | 1,52±0,06 (1,42 - 1,63) | 1,58±0,07* (1,50 - 1,68) |
| Peso (kg) | 72,1±16,1 (50 - 122) | 77,2±16,9 (55 - 122) | 65,5±12,6* (50 - 90) |
| IMC (kg/m ²) | 30,3±6,9 (18,5 - 48,1) | 33,3±6,7 (24 - 48,1) | 26,5±5,4** (18,5 - 37,5) |
| MG (g) | 32,4±12,2 (8 - 56) | 37,7±10,1 (24 - 56) | 25,1±10,6*** (8 - 48) |
| PMG (%) | 43,9±9,6 (16,3 - 62,3) | 48,6±5,7 (42,6 - 62,3) | 37,8±10,1*** (16,3 - 53,2) |
| VD (ng/mL) | 22,1±13,7 (8,2- 48) | 10,6±1,9 (8,2 - 18) | 36,9±5,2*** (30- 48) |
| SLIP (ng/mL) | 13,1±6,8 (1,9 - 29,7) | 9,5±5,2 (1,9 - 18,5) | 18,6±5,2*** (7,9 - 29,7) |

*p<0.05 Vs. < 30ng/mL; **p<0.01 Vs. < 30ng/mL; ***p<0.001 Vs. < 30ng/mL.

IMC: índice de masa corporal; MG: masa grasa; PMG: porcentaje masa grasa; VD: vitamina D (25OHD).

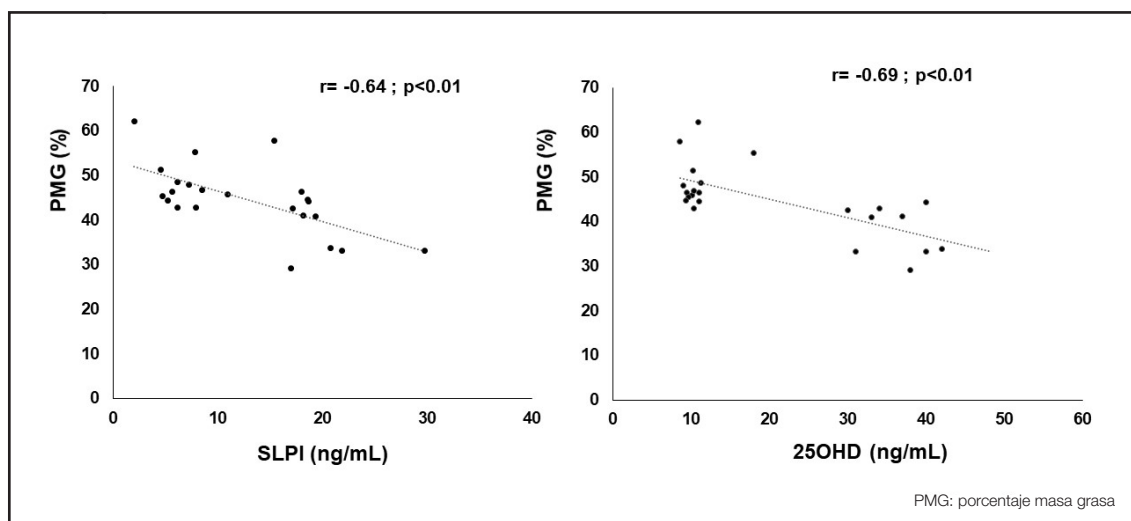


Figura 1. Correlación entre los niveles de SLPI y 25OHD con el porcentaje de masa grasa en el total de mujeres. Se observa una correlación negativa y significativa entre los niveles de SLPI y 25OHD con el porcentaje de masa grasa, indicando posibles implicaciones en la regulación del metabolismo lipídico y la salud general.

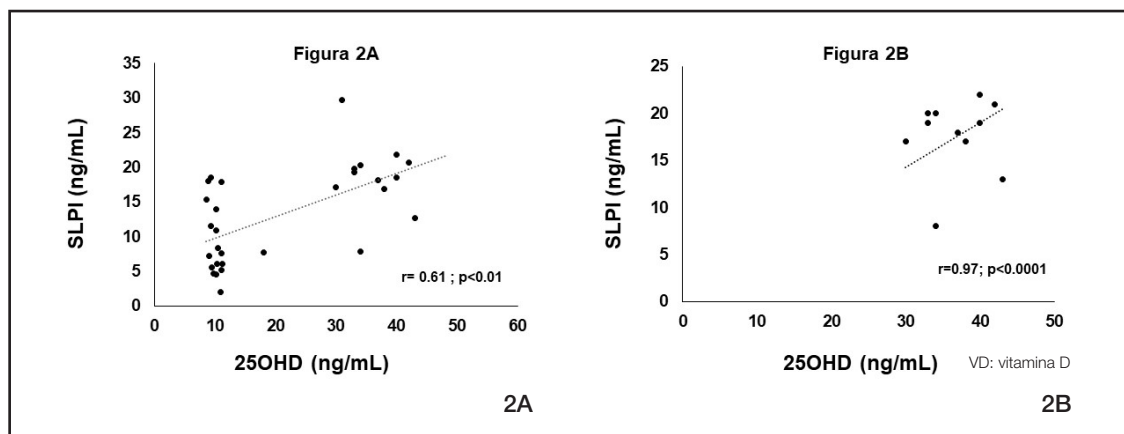


Figura 2. Correlación entre los niveles de SLPI y 25OHD. La figura muestra una correlación positiva y significativa entre los niveles de SLPI y 25OHD, sugiriendo una posible interacción entre estos biomarcadores en el contexto del metabolismo lipídico y la salud general. **A:** Correlación entre los niveles de SLPI y 25OHD en el total de mujeres analizadas. La figura muestra una relación significativa entre estos biomarcadores en la población general de mujeres. **B:** Correlación entre los niveles de SLPI y 25OHD en mujeres obesas con suficiencia de vitamina D. Se observa una interacción notable entre los niveles de SLPI y 25OHD en este subgrupo específico, sugiriendo posibles implicaciones en el metabolismo y la salud de las mujeres obesas con niveles adecuados de vitamina D.

Discusión

Los resultados de este estudio preliminar evidenciaron que los niveles de SLPI correlacionan directamente con los niveles de 25OHD.

La relación inversa entre el estado nutricional de VD y la MG ha sido ampliamente estudiada.^{2,7} En el presente estudio en mujeres posmenopáusicas con distinto IMC confirmamos dichas investigaciones, lo cual muestra que la insuficiencia/deficiencia de VD estaría directamente asociada a mayor contenido corporal de masa grasa.

Varias hipótesis tratan de explicar los bajos niveles de VD observados en sujetos obesos. Se ha postulado que estarían relacionados no solo con una menor exposición solar sino con una menor hidroxilación hepática de la VD. La menor síntesis de 25OHD sería responsable del desarrollo del hiperparatiroidismo secundario que se observa frecuentemente en sujetos

con alto grado de obesidad.² Sin embargo, el mecanismo más aceptado es el secuestro de VD en el exceso de tejido adiposo. Una reciente revisión sistemática y metanálisis de ensayos controlados aleatorios demostró que la obesidad disminuye significativamente los niveles de 25OHD respecto de sujetos con sobrepeso, concluyendo que el almacenamiento en el tejido adiposo sería el responsable de ello.^{2,15-18}

Varias hipótesis trataron de explicar la asociación entre obesidad e inflamación crónica, entre ellas el efecto ejercido por el excesivo consumo de dietas ricas en grasas saturadas. Esta dieta estimula el desarrollo de proteobacterias liberadoras de LPS, los cuales promueven un estado inflamatorio y con ello un aumento en la permeabilidad intestinal. Este hecho facilita el pasaje de LPS al torrente sanguíneo, proceso denominado “endotoxemia metabólica”. Los LPS junto a los ácidos grasos



(especialmente los saturados) y especies reactivas de oxígeno favorecen la activación de receptores *toll*s (TLRs). Dicho proceso activa la vía de señalización del NFκB, lo cual conduce a un incremento en la liberación de citoquinas inflamatorias, responsables de la inflamación sistémica observada en personas con alto grado de obesidad.^{9,16,19}

Varios estudios epidemiológicos recientes han indicado la existencia de una asociación significativa entre la deficiencia de VD y la mayor incidencia, o agravamiento, de enfermedades infecciosas y enfermedades inflamatorias autoinmunes asociadas al aumento de citoquinas proinflamatorias.^{9,15,19} En este sentido, se necesitan niveles adecuados de 25OHD

para el proceso por el cual la VD controla el estado inflamatorio. Diversos estudios experimentales han demostrado que la VD reduce la activación de receptores TLRs y mantiene en estado inactivo a NFκB impidiendo la fosforilación y degradación de la proteína inhibidora de kappa B (IκB). Por otra parte, la unión 1,25(OH)₂D/VDR dificulta la translocación del NF-κB al núcleo promoviendo una disminución del proceso inflamatorio. Por último, la VD reduciría la fosforilación de la subunidad p65 dentro del complejo NF-κB impidiendo la liberación de citoquinas proinflamatorias (Figura 3).^{9,17,18}

El mecanismo intracelular graficado en la figura 3 explicaría alguno de los hallados clínicos

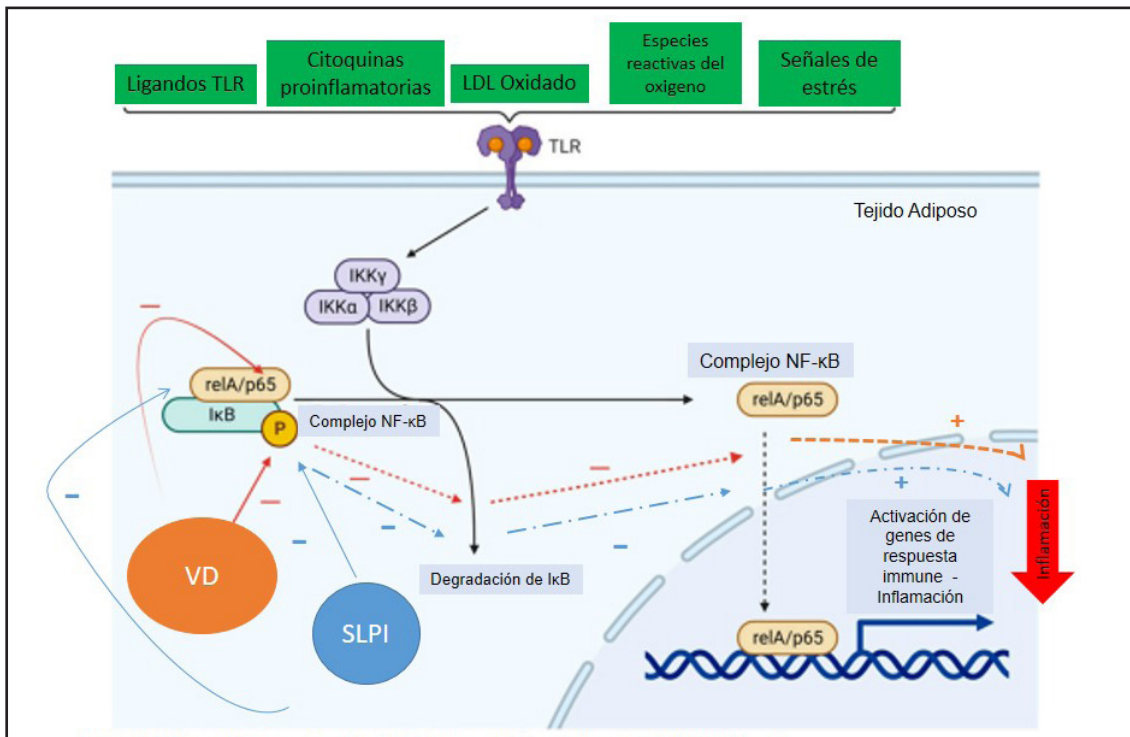


Figura 3. Mecanismo de acción de la VD y SLPI en la inflamación asociada a la obesidad. La vitamina D (VD) y el inhibidor secretor de leucoproteasa (SLPI) juegan roles cruciales en la modulación de la inflamación en el contexto de la obesidad. La VD ayuda a reducir la inflamación al inhibir la producción de citoquinas proinflamatorias, mientras que el SLPI protege los tejidos al neutralizar las proteasas liberadas durante la respuesta inflamatoria. Juntos, estos mecanismos contribuyen a mitigar los efectos inflamatorios asociados con la obesidad. Tomado y adaptado de Popa AD y col.⁹ SLPI: Inhibidor secretor de proteasa leucocitaria; VD: Vitamina D.

y epidemiológicos observados en sujetos con algo grado de obesidad. En este sentido se ha reportado que los niveles de VD se asocian inversamente con los niveles de TNF- α e IL6; contrariamente, la suplementación con VD disminuye los niveles de marcadores inflamatorios.^{20,21} Estos hechos evidencian los beneficios de la adecuación de VD sobre la condición de inflamación crónica asociada a la obesidad.⁹

Se ha sugerido la existencia de una asociación entre el estado inflamatorio crónico de la obesidad y SLPI.^{22,23} Experimentalmente se observó que la expresión de SLPI aumenta en tejido adiposo por el consumo de dietas que inducen obesidad y que regula la inmunidad innata y adaptativa, previniendo la degradación de los inhibidores de NFkB, I κ B α e I κ B β , respectivamente.^{5,22,23} Asimismo, SLPI compite con el componente p65 de NFkB para unirse a las regiones promotoras de genes proinflamatorios, incluyendo TNF- α y CXCL8 inhibiendo su producción (Figura 3).^{22,23} Clínicamente se reportó una correlación significativa entre los niveles circulantes de SLPI e IMC.²² En concordancia con estos hallazgos, los resultados del presente estudio muestran que los niveles circulantes de SLPI presentan una relación inversa con el IMC y con el PMG.

De acuerdo con el mecanismo de acción de SLPI y VD ejemplificado en la figura 3 se observa un efecto similar de ambos en el proceso de activación de NFkB y p65. A pesar de que no existen estudios que relacionen SLPI con VD, la asociación evidenciada a través de los resultados del presente estudio sugiere la existencia de un efecto sinérgico entre ambos en el control del proceso de inflamación crónica.^{19,21}

La fortaleza del presente estudio consiste en demostrar, por primera vez, una interacción de SLPI y niveles adecuados de 25OHD. Sin embargo, la debilidad estaría dada por el escaso número de participantes y la falta de la determinación de algún tipo de proteínas proinflamatorias.

Conclusiones

Una vez encontrada esta asociación entre VD, SLPI y obesidad en mujeres posmenopáusicas, serían necesarios estudios adicionales ampliando el número de participantes y en ambos sexos, para aclarar si esta correlación es clínicamente relevante.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener conflictos de interés.

Recibido: septiembre 2024

Aceptado: noviembre 2024

Referencias

1. Bikle DD. Vitamin D: Production, Metabolism and Mechanisms of Action. 2021 Dec 31. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, et al., editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. PMID: 25905172.
2. Karampela I, Sakelliou A, Vallianou N, Christodoulatos GS, Magkos F, Dalamaga M. Vitamin D and Obesity: Current Evidence and Controversies. *Curr Obes Rep* 2021;10(2):162-80. doi: 10.1007/s13679-021-00433-1.
3. Harahap IA, Landrier JF, Suliburska J. Interrelationship between Vitamin D and Calcium in Obesity and Its Comorbid Conditions. *Nutrients* 2022 ;14(15):3187. doi: 10.3390/nu14153187.
4. Nugteren S, Samsom JN. Secretory Leukocyte Protease Inhibitor (SLPI) in mucosal tissues: Protects against inflammation, but promotes cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 2021;59:22-35. doi: 10.1016/j.cytogfr.2021.01.005.
5. Majchrzak-Gorecka M, Majewski P, Grygier



- B, Murzyn K, Cichy J. Secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI), a multifunctional protein in the host defense response. *Cytokine Growth Factor Rev* 2016;28:79-93.
- Purnell JQ. Definitions, Classification, and Epidemiology of Obesity. 2023 May 4. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, et al. , editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000.
 - Konradsen S, Ag H, Lindberg F, Hexeberg S, Jorde R. Serum 1,25-dihydroxy vitamin D is inversely associated with body mass index. *Eur J Nutr* 2008;47:87- 91. <https://doi.org/10.1007/s00394-008-0700-4>.
 - Moslemi E, Musazadeh V, Kavyani Z, Naghsh N, Shoura SMS, Dehghan P. Efficacy of vitamin D supplementation as an adjunct therapy for improving inflammatory and oxidative stress biomarkers: An umbrella meta-analysis. *Pharmacol Res* 2022;186:106484. doi: 10.1016/j.phrs.2022.106484.
 - Popa AD, Niță O, Caba L, Gherasim A, Graur M, Mihalache L, Arhire LI. From the Sun to the Cell: Examining Obesity through the Lens of Vitamin D and Inflammation. *Metabolites* 2023;14(1):4. doi: 10.3390/metabo14010004.
 - Zhong QQ, Wang X, Li YF, Peng LJ, Jiang ZS. Secretory leukocyte protease inhibitor promising protective roles in obesity-associated atherosclerosis. *Exp Biol Med (Maywood)* 2017 ;242(3):250-7. doi: 10.1177/1535370216672747.
 - Mongkolpathumrat P, Pikwong F, Phutiyothin C, et al. The secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) in pathophysiology of non-communicable diseases: Evidence from experimental studies to clinical applications. *Heliyon* 2024;10(2):e24550. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e24550.
 - Organización Mundial de la Salud (OMS). Uso e interpretación de la antropometría. Serie de Reporte Técnico N.º854. Ginebra: OMS; 1995.
 - Sánchez A, Oliveri MB, Mansur JL, Fradinger E, Mastaglia SR. Guía de la Federación Argentina de Sociedades de Endocrinología sobre diagnóstico, prevención y tratamiento de la hipovitaminosis D. *Actual Osteol* 2015; 11(2):151-71.
 - Ambrosi NG, Caro FY, Osella F, et al. SLPI in the perfusion solution helps to identify graft quality in kidney transplants. *Biomark Med* 2019;13(11):895-906. doi: 10.2217/bmm-2018-0428. Epub 2019 Aug 5. PMID: 31379196.
 - Ao T, Kikuta J, Ishii M. The Effects of Vitamin D on Immune System and Inflammatory Diseases. *Biomolecules* 2021;11(11):1624. doi: 10.3390/biom11111624.
 - de Oliveira LF, de Azevedo LG, da Mota Santana J, de Sales LPC, Pereira-Santos M. Obesity and overweight decreases the effect of vitamin D supplementation in adults: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Rev Endocr Metab Disord* 2020;21(1):67-76. doi: 10.1007/s11154-019- 09527-7.
 - Kopp L, Schweinlin A, Tingö L, et al. Potential Modulation of Inflammation and Physical Function by Combined Probiotics, Omega-3 Supplementation and Vitamin D Supplementation in Overweight/Obese Patients with Chronic Low-Grade Inflammation: A Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Int J Mol Sci* 2023;24(10):8567. doi: 10.3390/ijms24108567.
 - Golzarand M, Hollis BW, Mirmiran P, Wagner CL, Shab-Bidar S. Vitamin D supplementation and body fat mass: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Nutr* 2018;72:1345-57. <https://doi.org/10.1038/s41430-018-0132-z>.
 - Moslemi E, Musazadeh V, Kavyani Z, Naghsh N, Shoura SMS, Dehghan P. Efficacy of vitamin D supplementation as an adjunct therapy for improving inflammatory and oxidative stress biomarkers: An umbrella meta-analysis. *Pharmacol Res* 2022;186:106484. doi: 10.1016/j.phrs.2022.106484.
 - Chattranukulchai Shantavasinkul P,



- Nimitphong H. Vitamin D and Visceral Obesity in Humans: What Should Clinicians Know?. *Nutrients* 2022;14(15):3075. doi: 10.3390/nu14153075.
21. Bellia A, Garcovich C, D'Adamo M, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D levels are inversely associated with systemic inflammation in severe obese subjects. *Intern Emerg Med* 2013;8(1):33-40. doi: 10.1007/s11739-011-0559-x. Epub 2011 Mar 25. PMID: 21437585.
22. López-Bermejo A, Ortega FJ, Castro A, Ricart W, Fernández-Real JM. The alarm secretory leukocyte protease inhibitor increases with progressive metabolic dysfunction. *Clin Chim Acta* 2011;412(11-12):1122-6. doi: 10.1016/j.cca.2011.02.037.
23. Chang E. Effects of Vitamin D Supplementation on Adipose Tissue Inflammation and NF- κ B/AMPK Activation in Obese Mice Fed a High-Fat Diet. *Int J Mol Sci* 2022;23(18):10915. doi: 10.3390/ijms231810915.

ARTÍCULO ORIGINAL / Original

HIGH FREQUENCY OF FRAGILITY FRACTURES IN POSTMENOPAUSAL WOMEN WITH DYSMOBILITY SYNDROME: A SINGLE-CENTER CROSS-SECTIONAL STUDY

Mariana Gonzalez Pernas, Rubén Abdala, Fernando Jerkovich,^{ID} María Belén Zanchetta*^{ID}

IDIM, Universidad del Salvador. Buenos Aires, Argentina

Abstract

Purpose: To assess the frequency of dysmobility syndrome (DS) in a group of postmenopausal women, to determine the frequency of fragility fractures in these patients, and to compare the frequency of fragility fractures and other clinical, biochemical, densitometric, and muscle health characteristics between patients with and without DS.

Methods: Postmenopausal women aged ≥ 60 years were invited to participate in a muscle health study program in our bone clinic. The diagnosis of DS was considered when at least three of the following factors were present: osteoporosis, ≥ 1 fall in the preceding year, low muscle mass, slow gait speed, low grip strength, and high-fat mass. The cohort was divided into patients with DS and without DS.

Results: The mean age in the study cohort ($n = 250$) was 70.36 ± 7.72 years. DS was diagnosed

in 77 patients (30.8 %). A history of falls in the preceding year and the prevalence of fragility fractures were more frequent in patients with DS in comparison with the control group (60% vs. 19%, $p < 0.001$ and 42% vs 17%, $p < 0.001$, respectively). Furthermore, the history of fragility fractures was significantly associated with the presence of DS (OR 4.92, 95% CI 2.3-10.4, $p < 0.001$).

Discussion: A significant association was found between DS and a history of fragility fractures. Although this new concept needs further investigation, it seems that the identification of various compartments affected by the aging process results in an opportunity to better predict major adverse events in the elderly.

Keywords: Dysmobility syndrome. fragility fractures, risk of falls, osteoporosis

*Email: mbzanchetta@idim.com.ar



ALTA FRECUENCIA DE FRACTURAS POR FRAGILIDAD EN MUJERES POSTMENOPÁUSICAS CON SÍNDROME DE DISMOBILIDAD: ESTUDIO DE DISEÑO TRANSVERSAL DE UN SOLO CENTRO

Resumen

Propósito: Evaluar la frecuencia del síndrome de dismovilidad (SD) en un grupo de mujeres posmenopáusicas, determinar la frecuencia de fracturas por fragilidad en estas pacientes y comparar la frecuencia de fracturas por fragilidad y otras características clínicas, bioquímicas, densitométricas y de salud muscular entre pacientes con y sin SD.

Métodos: Se invitó a mujeres posmenopáusicas de edad ≥ 60 años a participar en un programa de estudio de la salud muscular en nuestra clínica ósea. Se consideró el diagnóstico de SD cuando estaban presentes al menos tres de los siguientes factores: osteoporosis, ≥ 1 caída en el año anterior, baja masa muscular, velocidad de marcha lenta, baja fuerza de prensión y masa grasa elevada. La cohorte se dividió en pacientes con SD y sin SD.

Resultados: La edad media de la cohorte de estudio ($n = 250$) fue de $70,36 \pm 7,72$ años. Se diagnosticó SD en 77 pacientes (30,8%). Los antecedentes de caídas en el año anterior y la prevalencia de fracturas por fragilidad fueron más frecuentes en los pacientes con SD en comparación con el grupo de control (60% frente a 19%, $p < 0,001$ y 42% frente a 17%, $p < 0,001$, respectivamente). Además, el antecedente de fracturas por fragilidad se asoció significativamente con la presencia de SD (OR 4,92; IC 95% 2,3-10,4; $p < 0,001$).

Discusión: Se encontró una asociación significativa entre el SD y los antecedentes de fracturas por fragilidad. Aunque este nuevo concepto requiere más investigación, parece que la identificación de diversos compartimentos afectados por el proceso de envejecimiento brinda la oportunidad de predecir mejor los principales acontecimientos adversos en los ancianos.

Palabras clave: Síndrome de dismovilidad, fracturas por fragilidad, riesgo de caídas, osteoporosis.

Introduction

Advancing age is accompanied by a decrease in the function of various systems, including the musculoskeletal system.¹⁻⁴ The term “sarcopenia” was proposed in 1989 to describe the loss of muscle mass that occurs with age.⁵ Later, this concept evolved to include other parameters such as muscle quality and function.⁶⁻¹⁰ This multifactorial and progressive phenomenon is associated with increased morbidity and mortality, falls, fractures, disability, and hospitalization.^{3,11-15}

Additionally, the bone tissue is also affected by aging, resulting in an increased risk of fracture.¹⁶⁻¹⁸ Multiple studies identify a bidirectional relationship between bone and muscle tissue (“the muscle-bone unit”)

which involves mechanical and biochemical factors.¹⁹⁻²⁴

In 2013, Binkley et al. described the term “dysmobility syndrome” (DS), which includes osteoporosis, falls in the preceding year, obesity/high-fat mass, low lean mass, slow gait speed, and low grip strength. DS was considered when three or more of these factors were present.²⁴ This new and extended concept, which includes bone, muscle, and adiposity, may be a better predictor for adverse events in the elderly.²⁴

However, there is a lack of consensus on the parameters to be evaluated in DS, and the cut-off points to be used, representing a need for further research and validation in different populations. Therefore, in this study

we aimed: i) to assess the frequency of DS in a group of postmenopausal women referred to our institution. ii) to determine the prevalence of fragility fractures in these patients, and iii) to compare the prevalence of fragility fractures and other clinical, densitometric, and muscle health characteristics between patients with and without DS.

Methods

This is a single-center cross-sectional study analyzing data from medical records of post-menopausal women aged ≥ 60 years who were invited to participate in a muscle health study program in our bone clinic. Patients using walking aids, those with neuromuscular illnesses who were not able to perform the physical performance tests, and patients with chronic conditions associated with low muscular mass (history of cancer, renal failure, chronic obstructive pulmonary disease, and insulin-dependent diabetes) were excluded from the study. Informed consent was obtained from all individual participants included.

The following parameters were collected at our institution through medical records and/or questionnaires: age, regular physical activity, risk factors for osteoporosis, history of fragility fractures (wrist, spine, hip, and humerus) assessed by X-rays, and 25-hydroxyvitamin D values in the previous 6 months. Weight and height were determined using a mechanical scale and a wall-mounted height rod.

We evaluated the following predicting factors of DS:

Bone mineral density: BMD was measured by dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) with GE Lunar Prodigy equipment (General Electric Lunar, Madison, WI, USA) at the lumbar spine (LS) (L1-L4), femoral neck (FN), and total hip (TH). Diagnosis of osteoporosis was based on a T score of ≤ -2.5 at any region, using the manufacturer's database (USA, Lunar).

History of falls: At least one fall in the preceding year, assessed by self-report.

Lean mass: Lean mass was assessed by DXA total body scan. The body composition software analyzes total lean mass (kg), arms and legs lean mass (kg), appendicular skeletal muscle mass (ASM) (the sum of the lean mass of the 4 limbs), and appendicular skeletal mass index (ASMI) ($ASM/height^2$) (kg/m^2). Low muscle mass was considered with an ASMI $< 5.5 kg/m^2$ or an ASM $< 15 kg$, as proposed by the European Working Group on Sarcopenia in Older People 2 (EWGSOP2).¹⁴

Gait speed: Gait speed was defined as the time it takes to walk in a straight line over a flat surface at a comfortable speed. Low gait speed was defined using a value $\leq 0.8 m/s$ as proposed by EWGSOP2.¹⁴

Muscle strength: Muscle strength was evaluated by hand-grip strength assessment (Jamar Hydraulic Hand Dynamometer, USA). The best result of three trials performed in both hands was recorded. Low strength was defined as $< 20 kg$ as proposed by Binkley et al.²⁴

Fat mass: Total fat mass was assessed by body composition derived from DXA. High-fat mass was defined as $> 40 \%$.²⁵

We considered patients with DS those who presented with at least 3 of the following factors: osteoporosis, one or more falls in the preceding year, low muscle mass, slow gait speed, low grip strength, and high-fat mass. We divided the study population into patients with DS and without DS (control group).

Statistical analysis

Quantitative data were presented as the mean \pm standard deviation (SD), and categorical data were presented as frequencies and percentages (%). The normal distribution of continuous data was assessed using the Shapiro-Wilks test. To compare quantitative data, the Student's t-test was used for parametric variables and the Wilcoxon Rank Sum Test for non-parametric variables. Comparisons between qualitative variables were assessed using a chi-squared test. A



p-value <0.05 was considered statistically significant. Statistical analysis was performed using STATISTICS 7.0 Copyright ©1995, 2000 Analytical software (Statsoft).

Results

The basal characteristics of the 250 women included in the study are presented in Table 1. The mean age of the cohort was 70.36 ± 7.72 years. DS was diagnosed in 77 patients (30.8%). Out of these patients, 55% presented with 3 factors of DS, 34% with 4, 6% had 5 and 5% presented with the 6 clinical factors. The relative frequency of each

factor is detailed in Table 2. The frequency of prevalent fragility fractures in patients with DS was 42%.

In Table 3, we compare the demographic, clinical, bone densitometry, vitamin D, and muscle health data between patients with and without DS. Women with DS were older ($p < 0.001$), had shorter stature ($p < 0.001$), and presented lower FN ($p = 0.007$) and TH BMD ($p = 0.046$) than the group without DS. Regarding body composition, women with DS had higher fat mass and lower lean mass. A history of falls in the preceding year and the frequency of fragility fractures were more frequent in patients with DS in comparison with the control group (60% vs. 19%, $p < 0.001$ and 42% vs. 17%, $p < 0.001$, respectively). There were no statistical differences regarding vitamin D levels and reported physical activity (Table 3).

In the multivariate analysis, the history of fragility fractures was significantly associated with the presence of DS (Odds ratio 4.92, 95% confidence interval: 2.3-10.4, $p < 0.001$) (Table 4).

Table 1. General characteristics of the total cohort (n=250).

| | |
|-----------------------------|--------------------|
| Age (years) | 70.36 ± 7.72 |
| Weight (kg) | 61.80 ± 11.02 |
| Height (m) | 1.57 ± 0.06 |
| BMI (kg/m ²) | 25.08 ± 4.38 |
| Lumbar spine | |
| BMD (g/cm ²) | 0.963 ± 0.162 |
| T-score | -2.0 ± 1.3 |
| Femoral neck | |
| BMD (g/cm ²) | 0.755 ± 0.096 |
| T-score | -2.0 ± 0.8 |
| Total hip | |
| BMD (g/cm ²) | 0.792 ± 0.108 |
| T-score | -1.8 ± 0.9 |
| Fat mass (%) | 38.66 ± 7.88 |
| 25 hydroxyvitamin D (ng/ml) | 31.68 ± 11.26 |
| ASMI (kg/m ²) | 5.85 ± 0.66 |
| MM in arms (kg) | 3.376 ± 0.551 |
| MM in legs (kg) | 11.142 ± 1.586 |
| Hand grip (kg) | 22 ± 4 |
| Sit-to-stand test (s) | 12.4 ± 3.9 |
| Gait speed test (m/s) | 1.0 ± 0.2 |

BMI (body mass index), LS (lumbar spine), FN (femoral neck), TH (total hip), ASMI: (appendicular skeletal mass index), MM (muscle mass)

Data presented as mean and SD

Discussion

In this cohort of postmenopausal women over 60 years attending our bone clinic, DS was frequent, present in 30.8%. According to a systematic review by Hill et al., the prevalence of DS varied from 22 to 34%.²⁶ Besides, an increased prevalence of DS has been reported with increasing age.^{24,26,27} Similar to our study, Ribeiro dos Santos et al found a prevalence of 27%, in a cohort of 375 subjects aged ≥ 60 years (70% women, recruited from two Public Health Services and from the general population).²⁹ On the other hand, population-based studies in elderly subjects reported a lower prevalence (between 5.1 and 20%).^{25,26}

Importantly, almost half of the women with DS from our research group had suffered a fragility fracture in the preceding year.

Table 2. Frequency of each factor from the dysmobility syndrome in our cohort.

| Factor | Frequency (n, %) | |
|---|---------------------------------|--------------------------------|
| | Within the total cohort (n=250) | Within patients with DS (n=77) |
| Osteoporosis (T-score ≤ -2.5) | 111 (44.4%) | 44 (57.1%) |
| High fat mass (> 40%) | 103 (41.2%) | 44 (57.1%) |
| Falls in the preceding year | 78 (31.2%) | 45 (58.4%) |
| Low lean mass (ASMI < 5.5 kg/m ² or an ASM <15 kg) | 74 (29.6%) | 39 (50.6%) |
| Low grip strength (< 20 kg) | 67 (26.8%) | 47 (61.0%) |
| Slow gait speed (≤ 0.8 m/s) | 56 (22.4%) | 44 (57.1%) |

ASMI: (appendicular skeletal mass index), ASM: (appendicular skeletal mass)

Table 3. Comparison of demographic, clinical, bone densitometry, laboratory, and muscle health data between patients with and without dysmobility syndrome.

| | Patients with dysmobility syndrome (n = 77) | Patients without dysmobility syndrome (n = 173) | p |
|-----------------------------------|---|---|--------|
| Age (y) | 73.26 ± 8.47 | 69.17 ± 7.08 | <0.001 |
| Weight (kg) | 61.11 ± 11.36 | 62.09 ± 10.89 | 0.484 |
| Height (mts) | 1.54 ± 0.05 | 1.58 ± 0.06 | <0.001 |
| BMI (kg/m ²) | 25.63 ± 4.73 | 24.85 ± 4.22 | 0.168 |
| BMD | | | |
| Lumbar spine (g/cm ²) | 0.958 ± 0.208 | 0.964 ± 0.139 | 0.283 |
| Femoral neck (g/cm ²) | 0.728 ± 0.100 | 0.766 ± 0.093 | 0.007 |
| Total hip (g/cm ²) | 0.769 ± 0.112 | 0.801 ± 0.105 | 0.046 |
| Fat mass (%) | 40.74 ± 7.80 | 37.77 ± 7.77 | <0.001 |
| Vitamin D (mg/ml) | 30.46 ± 12.91 | 32.21 ± 10.49 | 0.175 |
| ASMI (kg/m ²) | 5.60 ± 0.70 | 5.95 ± 0.62 | <0.001 |
| Arms MM (kg) | 3.117 ± 0.503 | 3.484 ± 0.535 | <0.001 |
| Legs MM (kg) | 10.258 ± 1.284 | 11.509 ± 1.557 | <0.001 |
| Hand grip (Kg) | 19 ± 4 | 24 ± 4 | <0.001 |
| Sit-stand test (s) | 14.6 ± 5.0 | 11.5 ± 2.9 | <0.001 |
| Gait speed (m/s) | 0.9 ± 0.2 | 1.1 ± 0.2 | <0.001 |
| History of falls (previous year) | 60% (44) | 19% (34) | <0.001 |
| Fragility fractures | 42% (31) | 17% (31) | <0.001 |

BMI (body mass index), LS (lumbar spine), FN (femoral neck), TH (total hip), ASMI: (appendicular skeletal mass index), MM (muscle mass)

Data presented as mean and SD



Table 4. Multivariate analysis for factors predicting history of fragility fractures.

| | OR | 95% CI | P |
|-----------------------------|-----------|---------------|----------|
| Age | 1.01 | 0.9-1.1 | 0.752 |
| Dysmobility syndrome | 4.96 | 2.3-10.4 | <0.001 |
| Falls in the preceding year | 1.14 | 0.4-2.2 | 0.735 |
| Osteoporosis | 1.43 | 0.7-3.0 | 0.213 |

OR (Odds ratio), CI (Confidence interval)

Moreover, the presence of DS was significantly associated with a history of fragility fractures, meaning that the current classification of DS seems accurate to help us determine the risk of this serious adverse health outcomes in the elderly.^{24,29,30} The fracture frequency in our cohort seems to be higher in comparison to other studies.^{24,26,28} The group of Binkley et al. reported that in patients with DS, 30% had had a previous fragility fracture.²⁴ Burgueno-Aguilar et al., in a study conducted in Mexico, reported that 30% of women who met the DS criteria had a history of fragility fractures.³¹ Finally, in an elderly community-based population from Korea, the prevalence of fragility fractures in patients with DS was 25%.²⁷

Considering that postmenopausal women showed higher frequencies of fragility fractures in comparison to men and younger women, our research focuses on this population group.^{24,26} However, among men enrolled in the Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) prospective cohort study, the presence of DS was independently associated with a higher risk of major osteoporotic fracture during a 14-year follow-up (Hazard ratio 3.45, 95% CI: 2.78-4.29). Moreover, when the DS criteria were combined with the Fracture Risk Assessment Tool (FRAX) score, it resulted in a better prediction of major osteoporotic fractures in men.³²

In our group, when compared with women who did not have DS, patients with DS presented less muscle mass in upper and

lower limbs, lower strength, and physical performance (sit-stand and walk). In line with this observation, more than half of the women with DS had a higher frequency of falls during the previous year. Other studies have linked DS with falls.²⁹⁻³¹ Consistent with our study, Burgueno-Aguilar et al. reported a frequency of falls of around 60%.³² In the above-mentioned study by Binkley et al, 36% of older adults with DS had had a fall in the preceding year.²⁴ In clinical practice, recognizing people at risk of falling is crucial, since falls are an independent risk factor for fragility fractures.³³ What is more, falls represent a significant cause of morbidity and mortality in the elderly.³⁴

Additionally, the introduction of adipose tissue in the diagnostic criteria for DS collaborates with the detection of those individuals at risk. A higher fat mass is associated with lower muscle quality, and it predicts an accelerated loss of lean mass.^{35,36} Therefore, it is important to highlight that these criteria recently proposed by Binkley identify those individuals at risk of fragility fractures and other comorbidities associated with old age.²⁴ From a clinician's point of view, this syndrome reminds us of the importance of having a broader view, integrating different systems that, mistakenly, have in the past been considered separately when evaluating these patients.

Our investigation has several limitations, one being the small number of subjects and lack of biochemical studies. Second, given the lack of national reference values, we used

the cut-off points proposed in the literature. Additionally, the patients in our cohort were evaluated at a reference center and this might overestimate the real prevalence of DS (referral bias). Indeed, the prevalence of DS seems to be lower in community-based studies.^{27,29} It should be noted that the diagnosis of DS does not have a defined methodology. Indeed, in the original publication, Binkley et al. established the importance of comparing the cut-off points and approaches with other studies to define the best-fit factors capable of predicting adverse musculoskeletal outcomes in older adults.²⁴ This cohort was previously evaluated using only the concepts of sarcopenia without considering other parameters.³

These findings may encourage comprehensive evaluation of patients by adding the importance of fat compartment and previous falls.

In conclusion, 30% of our patients complied with the definition of DS. A significant association between DS and a history of fragility fractures was described. Although this new concept needs further investigation, it seems that the identification of various compartments affected by the aging process (bone, muscle, and adipose tissue) results in a better prediction of fracture prevalence.

In the future, we strongly believe that DS criteria would be a useful tool for physicians aiming to identify patients at risk and therefore reduce morbidity and mortality in these patients.

Acknowledgments

We are sincerely grateful to Susana Carballo for her contribution in proofreading the manuscript.

Ethics declarations

Conflicts of interest: Rubén Abdala, Mariana Gonzalez Pernas, Fernando Jerkovich, and María Belén Zanchetta declare that they have no conflict of interest regarding this publication.

Ethics approval: The study was in accordance with the ethical standards of the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Consent for publication: Written informed consent was obtained from all the patients included in this study.

Conflict of interest: the authors declare that they have no conflicts of interest.

Received: February 2024

Accepted: September 2024

References

1. Cooper R, Bann D, Wloch EG, Adams JE, Kuh D. "Skeletal muscle function deficit" in a nationally representative British birth cohort in early old age. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2015;70(5):604-7.
2. Roberts S, Colombier P, Sowman A, Mennan C, Rölfing JH, Guicheux J, Edwards JR. Ageing in the musculoskeletal system. *Acta Orthop.* 2016;87(sup363):15-25.
3. Zanchetta MB, Abdala R, Massari F, Rey P, Spivacow R, Miechi L, Longobardi V, Brun LR. Postmenopausal women with sarcopenia have higher prevalence of falls and vertebral fractures. *Medicina (B Aires).* 2021;81(1):47-53.
4. Landi F, Liperoti R, Fusco D, Mastropaolo S, Quattrocioni D, Proia A, Tosato M, Bernabei R, Onder G. Sarcopenia and mortality among older nursing home residents. *J Am Med Dir Assoc.* 2012;13(2):121-6.
5. Rosenberg IH. Sarcopenia: origins and clinical relevance. *J Nutr.* 1997;127(5 Suppl):990S-991S.



6. Sayer AA, Cruz-Jentoft A. Sarcopenia definition, diagnosis and treatment: consensus is growing. *Age Ageing*. 2022 6;51(10):afac220.
7. Coletta G, Phillips SM. An elusive consensus definition of sarcopenia impedes research and clinical treatment: A narrative review. *Ageing Res Rev*. 2023 Apr;86:101883.
8. Kirk B, Cawthon PM, Arai H, Ávila-Funes JA, et al ; Global Leadership Initiative in Sarcopenia (GLIS) group. The Conceptual Definition of Sarcopenia: Delphi Consensus from the Global Leadership Initiative in Sarcopenia (GLIS). *Age Ageing*. 2024 1;53(3):afae052.
9. Cruz-Jentoft AJ, Baeyens JP, Bauer JM, Boirie Y, et al; European Working Group on Sarcopenia in Older People. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing*. 2010;39(4):412-23.
10. Studenski SA, Peters KW, Alley DE, et al. The FNIH sarcopenia project: rationale, study description, conference recommendations, and final estimates. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2014;69(5):547-58.
11. Larsson L, Degens H, Li M, Salviati L, Lee YI, Thompson W, Kirkland JL, Sandri M. Sarcopenia: Aging-Related Loss of Muscle Mass and Function. *Physiol Rev*. 2019;99(1):427-511.
12. Fielding RA, Vellas B, Evans WJ, et al. Sarcopenia: an undiagnosed condition in older adults. Current consensus definition: prevalence, etiology, and consequences. International working group on sarcopenia. *J Am Med Dir Assoc*. 2011;12(4):249-56.
13. Chen LK, Liu LK, Woo J, Assantachai P, Auyeung TW, et al. Sarcopenia in Asia: consensus report of the Asian Working Group for Sarcopenia. *J Am Med Dir Assoc*. 2014;15(2):95-101.
14. Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, Boirie Y, Bruyère O, et al; Writing Group for the European Working Group on Sarcopenia in Older People 2 (EWGSOP2), and the Extended Group for EWGSOP2. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing*. 2019 1;48(1):16-31.
15. Gay-As MU, Lee SC, Lai FC. Sarcopenia Among Older People in the Philippines: A Scoping Review. *Creat Nurs*. 2024 May;30(2):133-144.
16. Raisz LG, Rodan GA. Pathogenesis of osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2003;32(1):15-24.
17. Akkawi I, Zmerly H. Osteoporosis: Current Concepts. *Joints*. 2018;6(2):122-127.
19. Melton LJ, Chrischilles EA, Cooper C. Perspective: How many women have osteoporosis? *J Bone Min Res*. 1992;7:1005-1010.
20. Seeman E. Pathogenesis of bone fragility in women and men. *Lancet*. 2002;359(9320):1841-1850.
21. Paintin J, Cooper C, Dennison E. Osteosarcopenia. *Br J Hosp Med (Lond)*. 2018;79(5):253-258.
22. Girgis CM, Mokbel N, Digirolamo DJ. Therapies for musculoskeletal disease: can we treat two birds with one stone? *Curr Osteoporos Rep*. 2014;12(2):142-153.
23. Frost HM. Bone's mechanostat: a 2003 update. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*. 2003;275(2):1081-1101
24. Tagliaferri C, Wittrant Y, Davicco MJ, Walrand S, Coxam V. Muscle and bone, two interconnected tissues. *Ageing Res Rev*. 2015;21:55-70.
25. Binkley, N., Krueger, D. Buehring, B. What's in a name revisited: should osteoporosis and sarcopenia be considered components of "dysmobility syndrome?" *Osteoporos Int*. 2013;24(12):2955-2959.
26. Dufour AB, Hannan MT, Murabito JM, Kiel DP, McLean RR. Sarcopenia definitions considering body size and fat mass are associated with mobility limitations: the Framingham Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2013;68(2):168-74.
27. Hill KD, Farrier K, Russell M, Burton E.



- Dysmobility syndrome: current perspectives. *Clin Interv Aging*. 2017;12:145-152.
28. Hong N, Kim CO, Youm Y, Choi JY, Kim HC, Rhee Y. Dismobility syndrome is associated with prevalent morphometric vertebral fracture in older adults: the Korean Urban-Rural Elderly (KURE) study. *Arch Osteoporos*. 2018;13(1):86.
 29. Lee WJ, Liu LK, Hwang AC, Peng LN, Lin MH, Chen LK. Dismobility Syndrome and Risk of Mortality for Community-Dwelling Middle-Aged and Older Adults: The Nexus of Aging and Body Composition. *Sci Rep*. 2017;7(1):8785.
 30. Dos Santos VR, Diniz TA, Batista VC, Júnior IFF, Gobbo LA. Practice of physical activity and dysmobility syndrome in community-dwelling older adults. *J Exerc Rehabil*. 2019;15(2):294-301.
 31. Iolascon G, Moretti A, Giamattei MT, Migliaccio S, Gimigliano F. Prevalent fragility fractures as risk factor for skeletal muscle function deficit and dysmobility syndrome in post-menopausal women. *Aging Clin Exp Res*. 2015;27 Suppl 1:S11-S16.
 32. Burgueno-Aguilar K, Cons-Molina FF, Garcia-Jimenez D, Bejarano-Lopez LE, Gudino-Barroso MA. Dismobility syndrome: a case-series study describing a musculoskeletal syndrome in postmenopausal Mexican women. *Arch Osteoporos*. 2021 Mar 8;16(1):54.
 33. Buehring B, Hansen KE, Lewis BL, et al; Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Study Research Group. Dismobility Syndrome Independently Increases Fracture Risk in the Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Prospective Cohort Study. *J Bone Miner Res*. 2018;33(9):1622-1629.
 34. Ambrose AF, Cruz L, Paul G. Falls and Fractures: A systematic approach to screening and prevention. *Maturitas*. 2015;82(1):85-93.
 35. Berková M, Berka Z. Falls: a significant cause of morbidity and mortality in elderly people. Pády: významná příčina morbidity a mortality seniorů. *Vnitr Lek*. 2018;64(11):1076-1083.
 36. Koster A, Ding J, Stenholm S, et al; Health ABC study. Does the amount of fat mass predict age-related loss of lean mass, muscle strength, and muscle quality in older adults? *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2011;66(8):888-95.

ARTÍCULO ORIGINAL / *Original*

MORTALIDAD LUEGO DE UNA FRACTURA DE CADERA: SEGUIMIENTO A 10 AÑOS*

María Eugenia Vera Santana,^{1**} Betiana Pérez,¹ María Diehl,¹ Gastón Perman,² Andrea Beratarrechea,² Luisa Plantalech¹

1. Sección de Osteopatías Metabólicas. Servicio de Endocrinología. 2. Servicio de Clínica Médica. Hospital Italiano de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.

Resumen

Las fracturas de cadera por osteoporosis constituyen un problema de salud y se relacionan con el aumento de la morbimortalidad. Objetivo: determinar las tasas, las causas y factores de riesgo de mortalidad en los pacientes con fracturas de cadera, en un período de seguimiento de 10 años.

Metodología: estudio de cohorte, retrospectivo, realizado en pacientes ≥ 50 años pertenecientes al Plan de Salud del Hospital Italiano de Buenos Aires que se internaron por fractura de cadera entre el 01-7-2005 y el 31-12-2010. Se evaluaron: sexo, edad, comorbilidades y tratamiento con bifosfonato prefractura y posfractura. Se utilizaron los métodos: Chi cuadrado, media, mediana y DS, sobrevida de Kaplan-Meier y modelos de riesgo proporcionales de Cox.

Resultados: se incluyeron 965 pacientes. La media de edad al momento de la fractura fue 81,6 años; el 80,7% fueron mujeres. La mortalidad global al año fue de 14,9% y de 73,2% a los 10 años, siendo mayor en hombres (HR: 1,31; IC 95%: 1,10-1,58; $p=0,003$), mayor

edad (HR: 1,10; IC 95%: 1,09-1,11; $p<0,001$) y aumento del puntaje (*score*) de Charlson (HR:1,29; IC 95%: 1,23-1,34; $p<0,001$).

Los factores de riesgo de mortalidad según el análisis multivariable de Cox en el período son: edad, índice de Charlson, sexo masculino, fractura medial, demencia e insuficiencia cardíaca congestiva. Los bifosfonatos favorecieron la sobrevida de la población (Cox). Las causas de muerte más frecuentes fueron las infecciosas y las cardiovasculares.

A los 10 años sobrevivió la población que era más joven al inicio del estudio, más sana y tratada con bifosfonatos después de la fractura de cadera.

Conclusiones: de esta observación a largo plazo surge la importancia del seguimiento y tratamiento con fármacos osteoactivos después de la fractura de cadera a toda la población, especialmente a la más añosa, masculina y con comorbilidades.

Palabras clave: fractura de cadera, mortalidad, factores de riesgo, seguimiento a 10 años.

* Este trabajo es un extracto del Trabajo Final Integrador de la Carrera de Osteología defendida en 2023 cuya autora es la Dra. María Eugénia Vera Santana

**E-mail: mariavera181082@gmail.com



MORTALITY AFTER HIP FRACTURE: 10-YEAR FOLLOW-UP

Abstract

Hip fractures due to osteoporosis constitute a health problem and are associated with increased morbidity and mortality.

Objective: To determine the rates, causes, and risk factors for mortality in patients with hip fractures over a 10-year follow-up period.

Methodology: This retrospective cohort study included patients aged ≥ 50 years who were part of the health plan at the Italian Hospital of Buenos Aires and were hospitalized for hip fracture between July 1, 2005, and December 31, 2010. Sex, age, comorbidities, and pre- and post-fracture bisphosphonate treatment were evaluated. Statistical methods included chi-square tests, mean, median, standard deviation, Kaplan-Meier survival analysis, and Cox proportional hazards model.

Results: A total of 965 patients were included. The mean age at the time of fracture was 81.6 years, and 80.7% were women. The overall mortality rate at one year was 14.9%,

increasing to 73.2% at 10 years. Mortality was higher in men (HR: 1.31; 95% CI 1.10-1.58; $p=0.003$), older age (HR: 1.10; 95% CI 1.09-1.11; $p<0.001$), and Charlson comorbidity score (HR: 1.29; 95% CI 1.23-1.34; $p<0.001$) at ten years of follow-up.

Risk factors for mortality during the study period, according to multivariate Cox analysis, included age, Charlson index, male sex, medial fracture, dementia, and congestive heart failure. Bisphosphonates improved survival (Cox analysis). The most common causes of death were infectious and cardiovascular.

Patients that survived after ten years of follow-up were healthier, younger at baseline, and showed a higher proportion of treatment with bisphosphonates after hip fracture.

Conclusions: This long-term observation highlights the importance of follow-up and osteoactive drug treatment after hip fracture, especially in older, male and patients with comorbidities

Key words: *hip fracture, mortality, risks factors, 10 years of follow up.*

Introducción

La fractura de cadera provocada por un traumatismo de bajo impacto constituye un importante problema de Salud Pública y se relaciona con dependencia, invalidez, morbilidad, muerte y alto costo.

Las fracturas por osteoporosis están vinculadas al envejecimiento. El número de personas mayores de 50 años en todo el mundo se ha duplicado desde 1980, y se prevé que alcance un estimado de 2000 millones para el año 2030, con el consiguiente aumento de la prevalencia de fracturas por osteoporosis, especialmente de cadera.¹

En la Argentina, la tasa anual de fracturas de

cadera en personas mayores de 50 años oscila entre 167 y 443 casos por cada 100.000 mujeres y entre 78 y 164 casos por cada 100.000 hombres. La edad promedio de las fracturas de cadera en las poblaciones analizadas se ubicó entre 75 y 82 años, siendo significativamente más baja en los hombres. La tasa de egresos por esta fractura mostró una tendencia creciente en hospitales públicos de la Argentina entre los años 2000 y 2008. Se estimó una tasa de crecimiento interanual del 1,4% (2,7% en mujeres y 0,47% en hombres) y la relación mujeres:hombres fue de 2,3, incrementándose notablemente con la edad, especialmente en personas mayores de 75 años.²⁻⁴

El proceso involutivo asociado a la edad induce a la osteoporosis, la sarcopenia y la disminución de la coordinación neuromuscular, de la visión, de la audición y de los sistemas de alerta autónomos. La coexistencia de comorbilidades y la pérdida de la función cognitiva reducen la capacidad de respuesta del organismo y favorecen una situación de mayor fragilidad. Del mismo modo, el aumento del consumo de fármacos, especialmente las medicaciones psicotrópicas facilitan las caídas y, por ende, la aparición de la fractura.^{1,5-7}

La complicación más grave de la osteoporosis es la fractura de cadera, debido a su elevada mortalidad. De hecho, la fractura de cadera es capaz por sí sola de disminuir la esperanza de vida en dos años comparada con la de la población sin fractura. Además, uno de cada cinco pacientes que la sufre requerirá asistencia sociosanitaria permanente.⁸⁻¹²

Las tasas de mortalidad de fractura de cadera referidas en la literatura oscilaron entre el 8,4 y el 36% al año y, a los 10 años, entre 77 y 79,8% después del evento. Los pacientes mayores de 66 años tenían un mayor riesgo de muerte.¹⁰⁻¹⁵

En 2010 se realizó un estudio de mortalidad posterior a la fractura de cadera en el Hospital Italiano de Buenos Aires (HIBA), estimando que a corto plazo la tasa de mortalidad de la población sería del 18,6% a los 30 meses. Sin embargo, se conoce poco a nivel nacional e internacional sobre las tasas de mortalidad a largo plazo. Por ello, el objetivo de la presente investigación fue determinar las tasas, las causas y los factores de riesgo de mortalidad en esta población durante un período de 10 años de seguimiento.^{3,15}

Materiales y métodos

El estudio es de cohorte retrospectivo. Se incluyeron varones y mujeres ≥ 50 años, pertenecientes al Plan de Salud del HIBA (sistema cerrado de salud), que fueron internados por fractura de cadera entre el 01-7-2005 y el 31-12-2010. Se realizó un seguimiento de 10 años.

A partir de los datos de la historia clínica electrónica (HCE), se determinó el estado vital mediante los registros del sistema informático, y se consideró final del seguimiento la última asistencia de salud registrada.

Se excluyeron pacientes con otros tipos de fracturas de cadera como las periprotésicas, subtrocantéricas, patológicas o aquellas causadas por traumatismo de alto impacto. También se excluyeron pacientes con enfermedad renal crónica avanzada (*clearance* de creatinina menor de 30 mL/min/1,73 m²), enfermedades metabólicas óseas distintas de la osteoporosis, y aquellos con una expectativa de vida inferior a 6 meses.

En el análisis descriptivo se evaluaron los siguientes ítems: edad, sexo, comorbilidades (insuficiencia de órganos, demencia, etc.), tipo de fracturas, días de internación, antecedentes de osteoporosis y caídas. Se utilizó el índice de Charlson para clasificar cuantitativamente el número de comorbilidades, agrupándolas en categorías de 0 a 4 y se utilizó la variable dicotómica ≥ 3 o ≤ 3 para su procesamiento estadístico.

También se recabó información sobre el tratamiento con bifosfonatos (BF) antes y después de la fractura de cadera (FC) durante el primer año posterior al evento.¹⁶ El análisis estadístico en relación con el tratamiento con bifosfonatos luego de la fractura se llevó a cabo siguiendo el principio de intención de tratar. Este enfoque permite evaluar el efecto del tratamiento en un contexto clínico real, considerando a todos los pacientes asignados al grupo de bifosfonatos, independientemente de su adherencia o cumplimiento.

Las variables categóricas se expresaron como frecuencia absoluta y relativa, con sus intervalos de confianza. Las variables continuas se informaron como media y desvío estándar (DE) o mediana e intervalo intercuartílico 25-75 (RIC), según la distribución de los datos. Se calcularon la distribución de las variables continuas mediante métodos gráficos y test de Kolmogorov-Smirnov.



Para las comparaciones entre grupos se utilizaron pruebas t o Wilcoxon para las variables cuantitativas, y pruebas de chi-cuadrado o Fisher para las variables cualitativas. Se aplicó el método de Bonferroni para ajustar las comparaciones múltiples.

Las tasas de mortalidad se calcularon como el cociente entre el número de acontecimientos de interés (muertes) durante los períodos de tiempo establecidos y el número de pacientes con fractura de cadera en seguimiento en el estudio.

Se estimó el tiempo de supervivencia mediante el método de Kaplan-Meier. Para evaluar los factores predictores de los eventos de muerte se realizaron análisis univariable y multivariable utilizando el modelo de riesgos proporcionales de Cox. Las covariables incluidas en el modelo multivariable fueron aquellas consideradas clínicamente significativas o que mostraron una diferencia significativa en el análisis univariado (valor umbral $p < 0,01$), desestimando aquellas con frecuencia marginalmente baja. Se expresaron los HR de ambos análisis con su intervalo de confianza del 95% (IC 95%).

Resultados

Se incluyeron 965 pacientes ≥ 50 años internados por fractura de cadera. La media de edad al momento de la fractura fue 81,6 años; el 80,7% de la población fueron mujeres.

Se observa un mayor compromiso en los varones expresado por los días de internación y puntaje de Charlson. La población masculina presenta un menor diagnóstico registrado de osteoporosis y tratamiento previo y posterior de BF a la FC en comparación con las mujeres (Tabla 1).

En el estudio se observó que los pacientes con fracturas de cadera mostraron un porcentaje reducido de antecedentes de diagnóstico de osteoporosis, alcanzando solo el 41,2%. Asimismo, se identificó que el 25,5% de los pacientes presentaban antecedentes de tratamiento previo con bifosfonatos, más frecuente en mujeres, con una prevalencia del 30,5% (Tabla 1 y Tabla 2).

La mortalidad global al año fue de 14,9% y de 73,2% a los 10 años, siendo mayor en hombres (HR: 1,22; IC 95%: 1,01-1,48; $p=0,003$) comparados con las mujeres.

Tabla 1. Características de la población con fractura de cadera mayores de 50 años de acuerdo con el sexo

| Característica | Femenino n = 779 | Masculino n = 186 | p valor |
|--|---------------------|----------------------|---------|
| Edad ^a | 82 (78-86) | 82 (76-87) | 0,395 |
| Fractura medial ^b | 128 (16,8%) | 34 (19,1%) | 0,455 |
| Días de internación ^a | 5 (5-8) | 7 (6-10) | < 0,001 |
| Antecedente de osteoporosis ^b | 382 (49,6%) | 11 (6%) | < 0,001 |
| Antecedentes de tratamiento previo con bifosfonatos ^b | 232 (30,5%) | 8 (4,4%) | < 0,001 |
| Antecedente de caídas ^b | 196 (25,4%) | 34 (18,5%) | 0,05 |
| Puntaje Charlson ^a | 1 (0-2) | 2 (1-4) | < 0,001 |
| Tratamiento posfractura de cadera con bifosfonatos ^b | 340 (43,6%) | 37 (19,6%) | < 0,001 |

^a Mediana (primer cuartil, tercer cuartil), Wilcoxon; ^b n (%) - Chi cuadrado

Tabla 3. Mortalidad de la población con fractura de cadera mayor de 50 años por sexo

| | Sexo | | |
|---------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | Global | Mujeres | Hombres |
| 1 mes | 3,2 (1,2-5,2) | 2,8 (0,8-4,9) | 4,8 (0-10,3) |
| 1 año | 14,9 (10,9-18,9) | 12,3 (8,2-16,4) | 25,3 (14,1-36,5) |
| 5 años | 48,1 (42,3-53,9) | 45,9 (39,5-52,3) | 57,6 (44,5-70,7) |
| 10 años | 73,2 (68-78,4) | 71,5 (65,6-77,4) | 80,5 (69,9-91,1) |

* Proporción de la población con el evento muerte a cada tiempo especificado (% [IC 95]).

Tabla 4. Factores de riesgo de mortalidad según el modelo de riesgos proporcionales de Cox multivariable (HR, IC 95%)

| | Mortalidad |
|--|-------------------------------|
| Edad (por año) | 1,08 (1,07-1,09) ^a |
| Sexo masculino | 1,22 (1,01-1,48) ^b |
| Fractura medial | 1,46 (1,22-1,74) ^a |
| Índice de Charlson (por punto) | 1,14 (1,08-1,20) ^a |
| Demencia | 1,74 (1,46-2,07) ^a |
| Insuficiencia cardíaca | 1,68 (1,30-2,17) ^a |
| Prevención secundaria con bifosfonatos | 0,68 (0,58-0,80) ^a |

^a p < 0,0001; ^b p = 0,043.

Además, aumenta con la edad (HR: 1,08; IC 95%: 1,07-1,09; p<0,001), y con un mayor puntaje de Charlson (HR: 1,14; IC 95%: 1,08-1,20; p<0,001). La mediana de supervivencia global a 10 años fue de 5,61 años. (Tabla 3, Figuras 1 a 4).

La principal causa de muerte en los pacientes con fractura de cadera durante los 10 años de seguimiento fue la enfermedad infecciosa, seguida por la enfermedad cardiológica (Figura 5).

El análisis de Cox confirma que los factores de riesgo para mortalidad incluyen el aumento de la edad, el sexo masculino, la fractura medial,

el incremento del índice de Charlson, la demencia y la insuficiencia cardíaca congestiva. La prevención secundaria con BF se asocia en forma positiva con la sobrevida (HR 0,68; IC 95%: 0,58-0,80; p<0,001) (Tabla 4).

La población que sobrevivió a los 10 años después de la fractura de cadera era más joven en el momento de la fractura, tenía una menor proporción de fracturas mediales y menos días de internación durante el evento. Además presentaba una menor carga de comorbilidades y había recibido BF previamente y como prevención secundaria (Tabla 2).



Tabla 2. Características de la población mayor de 50 años con fractura de cadera a 10 años de seguimiento: sobreviviente comparada con no sobreviviente

| | Total n = 965 | Sobrevivientes a 10 años N = 222 | No sobrevivientes a 10 años n = 743 | p valor |
|--|------------------|----------------------------------|-------------------------------------|----------|
| Edad ^{a*} | 82,4 (77,8-86,6) | 77,9 (71,7-82,5) | 83,5 (79,8-87,4) | <0,0001 |
| Sexo masculino ^b | 186 (19,3%) | 39 (17,6%) | 147 (19,7%) | 0,264 |
| Fractura medial ^b | 162 (17,2%) | 1 (0,5%) | 161 (21,7%) | < 0,0001 |
| Días de internación por FC ^a | 6 (5-8) | 6 (5-7) | 7 (5-9) | 0,0023 |
| Antecedente de osteoporosis ^b | 393 (41,2%) | 96 (42,2%) | 297 (40,0%) | 0,384 |
| Antecedente de tratamiento con BF previa FC ^b | 240 (25,5%) | 68 (30,6%) | 172 (23,1%) | 0,024 |
| Antecedente de caídas ^b | 230 (24%) | 44 (4,6) | 186 (25,0) | 0,110 |
| Charlson puntaje ^a | 2,0 (1,0-3,0) | 1 (0-1) | 1 (1-2) | < 0,0001 |
| Tratamiento con BF después de FC | 377 (39,1%) | 112 (50,5%) | 265 (35,6%) | < 0,0001 |

BF: bifosfonatos; FC: fractura de cadera; ^a n(%) - Chi cuadrado; ^b mediana (primer cuartil, tercer cuartil), Wilcoxon.
 * Edad al momento de la fractura.

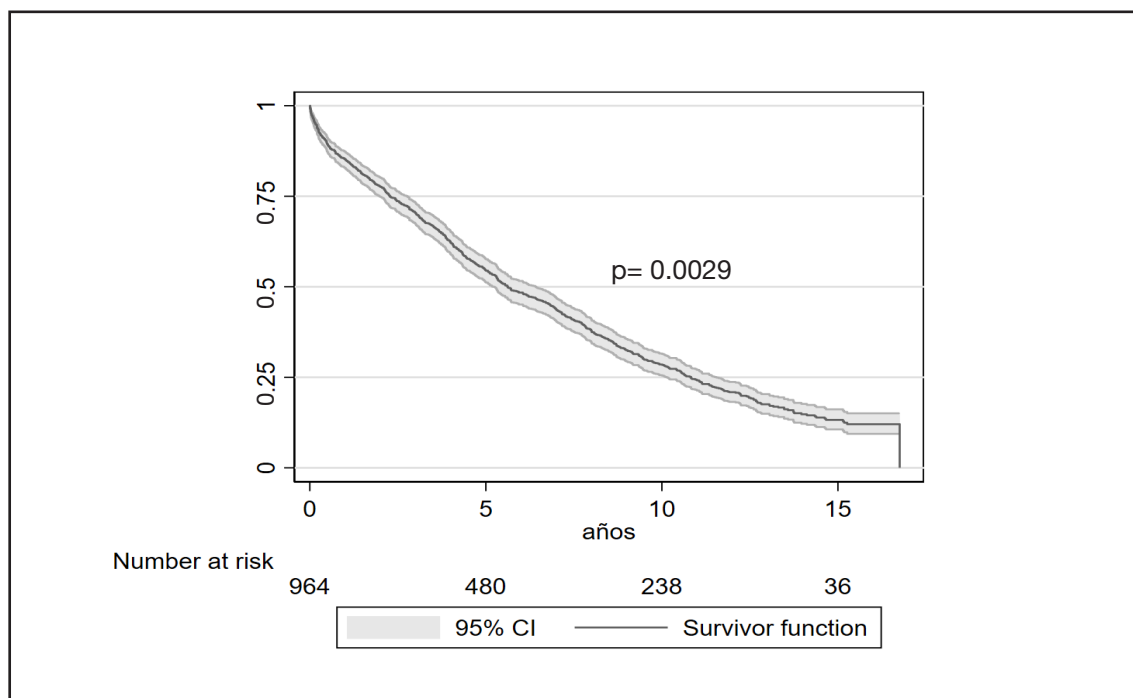


Figura 1. Mortalidad a 10 años de la población después de una fractura de cadera (evento muerte).

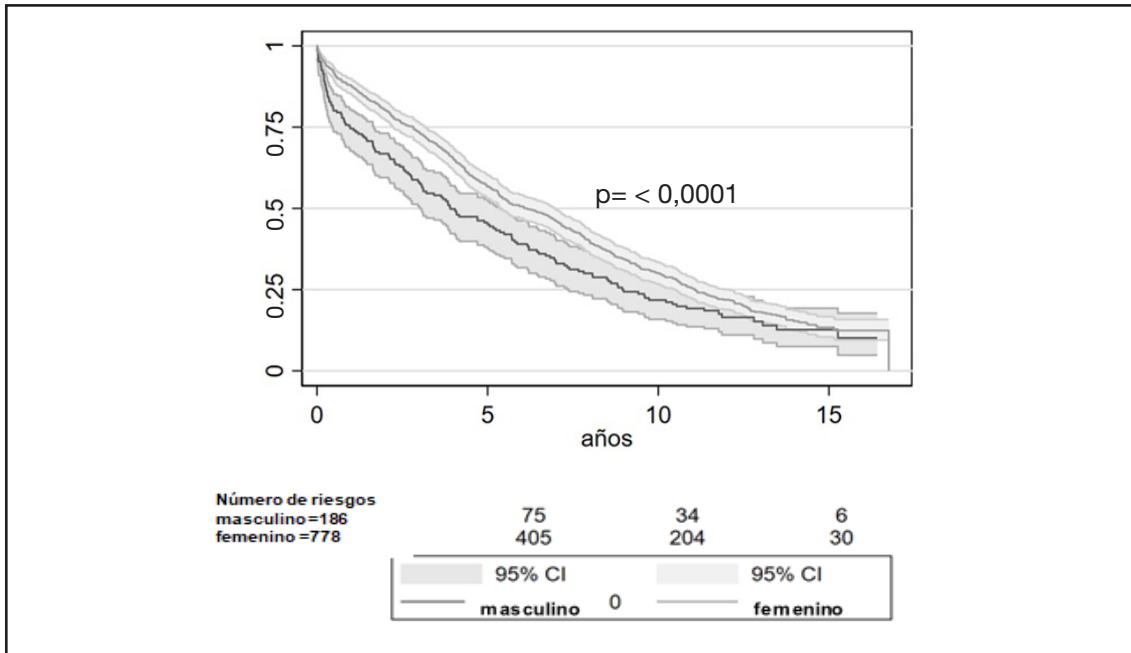


Figura 2. Mortalidad a 10 años de la población después de una fractura de cadera según sexo.

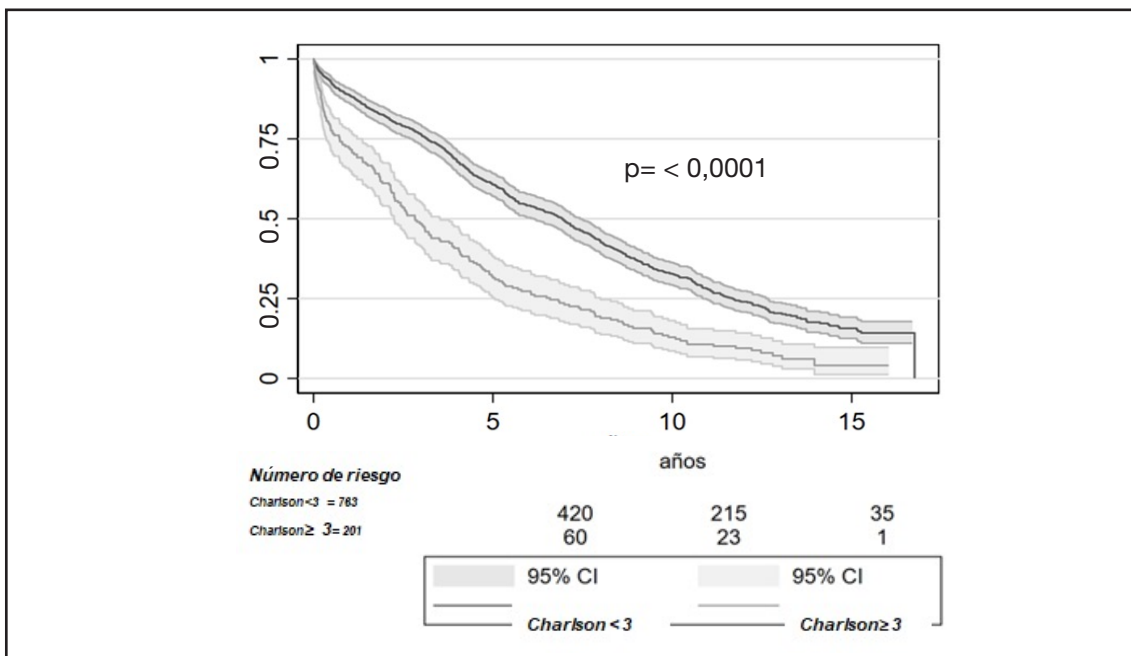


Figura 3. Mortalidad a 10 años de la población después de una fractura de cadera según grado de comorbilidad expresado por el índice de Charlson.

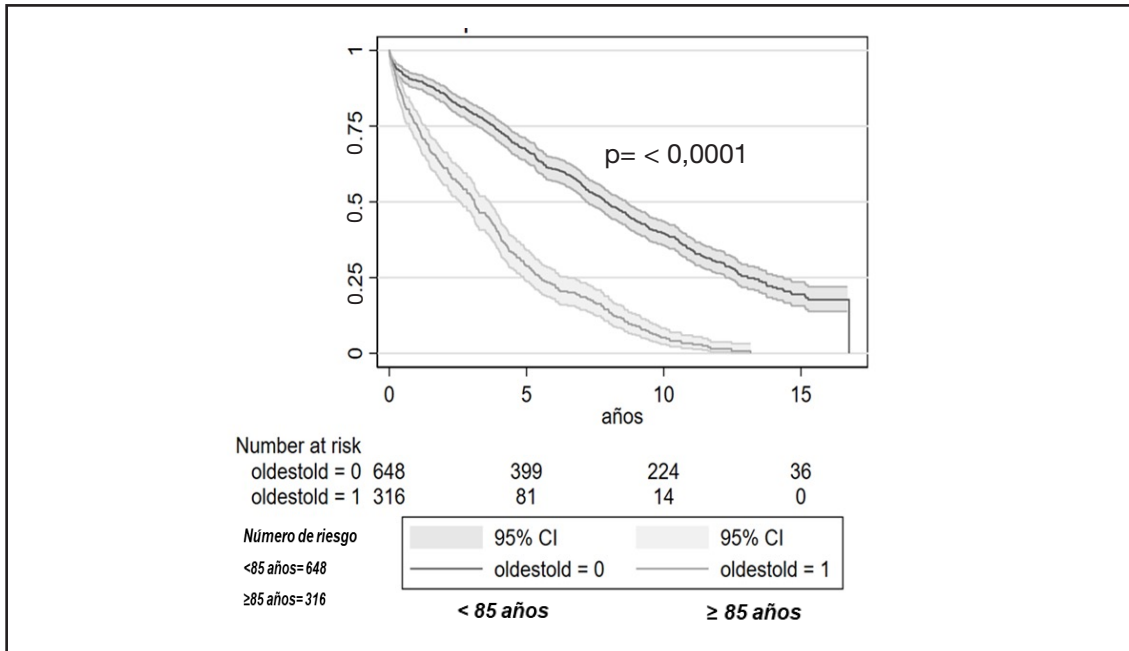


Figura 4. Mortalidad a 10 años de la población después de una fractura de cadera según edad (≥ 85 años o < 85 años).

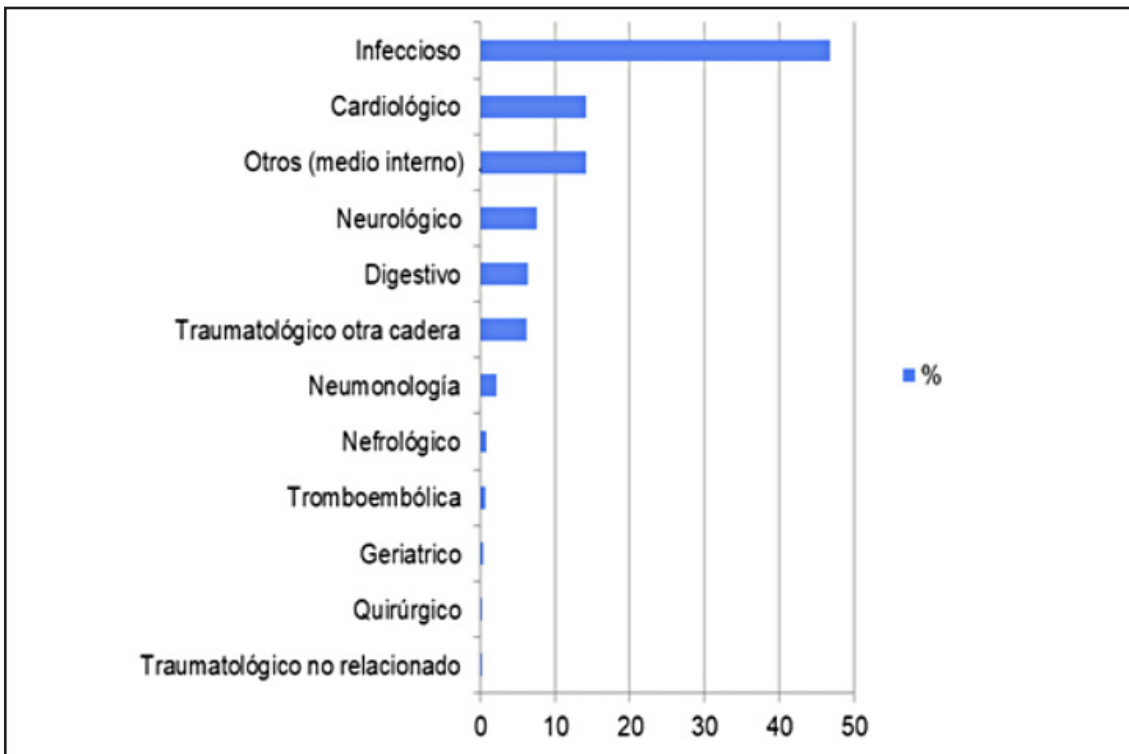


Figura 5. Causas de muertes en una población mayor de 50 años con fracturas de cadera seguidas durante 10 años.

Discusión

Las fracturas de cadera relacionadas con la osteoporosis representan un desafío para la Salud Pública. Este evento traumático no solo se asocia con un aumento en la morbilidad y el deterioro funcional, sino también incrementa la tasa de mortalidad en la población de adultos mayores.

Varios estudios han demostrado que la mortalidad después de una fractura de cadera es elevada, con tasas que oscilan entre el 20,7 y el 31,2% al año, alcanzando cifras del 50 al 78% a los cinco años y del 62,9 al 79,8% a los diez años en distintas poblaciones. Este exceso de mortalidad persiste durante años, lo que refleja la gravedad de las fracturas en este grupo poblacional.¹⁰⁻¹⁴

A pesar de la elevada incidencia y consecuencias de estas fracturas, los estudios longitudinales sobre la mortalidad en la Argentina son limitados. En nuestra investigación se ha seguido a una cohorte durante diez años después de la ocurrencia de una fractura de cadera en un sistema de salud cerrado y homogéneo, en estudios de diagnóstico, tratamiento y clase social. Este estudio reveló una mediana de supervivencia en la población general de 5,61 años, con una notable discrepancia entre sexos: 3,8 años para los hombres y 5,9 años para las mujeres. Estos resultados son consistentes con hallazgos de trabajos previos en el área, como el estudio realizado por Cipitria, que también obtuvo resultados similares.¹²

En nuestra investigación, la mayoría de los participantes eran mujeres. El promedio de edad fue de 82,4 años. El tipo de fractura de cadera predominante fue lateral, y la estancia hospitalaria fue menor de 7 días. Menos del 50% de los pacientes tenía un diagnóstico previo de osteoporosis. Además, observamos que la población masculina presentaba más comorbilidades antes de la fractura de cadera y requirió una hospitalización más prolongada. Estas observaciones coinciden con los trabajos de Beratarrechea y Abrahamsen.^{3,10}

El diagnóstico previo de osteoporosis en nuestra investigación resultó ser significativamente bajo. Este hallazgo coincide con otros estudios que evidencian un subdiagnóstico generalizado de esta enfermedad. Vestergaard y cols. (2005) reportaron una subestimación considerable en la población danesa al analizar casos de fractura y grupos de riesgo. Asimismo, varias investigaciones recientes indican que solo el 21,6% de los pacientes con fracturas vertebrales y de cadera tiene diagnóstico previo de osteoporosis. Resulta preocupante la baja prevalencia del tratamiento preventivo en pacientes diagnosticados. En nuestro estudio, menos del 30% de estos pacientes recibía un tratamiento adecuado, un dato que concuerda con los hallazgos de Siris y cols. (28%) y Lorentzon y cols. (21,8%). Esta deficiencia en el diagnóstico y tratamiento representa un importante desafío para la Salud Pública, ya que limita la prevención de complicaciones graves asociadas a la osteoporosis.¹⁷⁻²¹

En esta investigación, la mortalidad fue de 3,2% al mes. Este bajo índice se explica por el tratamiento quirúrgico temprano; el promedio de la internación en toda la población fue de seis días. Según las observaciones de Pincus y Beaupre, la condición socioeconómica influye en el acceso al seguimiento y al tratamiento quirúrgico, lo que disminuye la tasa de mortalidad temprana. La población estudiada pertenecía a la clase media y tenía acceso a un sistema cerrado de salud con una rápida respuesta a la provisión de materiales quirúrgicos.^{22,23}

La tasa de mortalidad anual de 14,9% observada es congruente con otros estudios (Beratarrechea, Mattisson, Vosoughi y Li), aunque se reportaron cifras más bajas en investigaciones como la de Claus-Herberg y cols. (9,3%), que pueden deberse a las características poblacionales analizadas, estudio solamente realizado en mujeres.^{3,24-27}



A 5 años, la mortalidad se incrementa a un 48,1%. Esta cifra coincide con las tasas reportadas en estudios de Tiihonen y von Friesendorff y cols., quienes documentaron tasas de mortalidad de 50,4% y 52%, respectivamente. La población estudiada por Kristensen ofrece una perspectiva diferente; en ella se destaca que, en la población con buena movilidad, las tasas de mortalidad son similares, pero se observa un incremento significativo en aquellos con movilidad comprometida, que alcanza hasta el 78%. Esta diferencia subraya la relación crítica entre la funcionalidad física y la supervivencia, lo que sugiere que las intervenciones dirigidas a mejorar la movilidad podrían ser cruciales para reducir la mortalidad a largo plazo.^{13,14, 28}

La mortalidad a los 10 años se eleva a 73,2%. Este hallazgo se alinea con cifras reportadas por Tiihonen y cols. (79,8%) y el estudio sueco de von Friesendorff y cols., que muestra que el riesgo de mortalidad permanece elevado durante dos décadas después de la fractura. En el presente estudio, la población era muy añosa (edad promedio 82 años, mayor que la expectativa de vida en la Argentina que es de 76 años según el censo del año 2020). Es lógico observar que, 10 años después del evento de fractura, que implica un impacto en la salud, la mayoría de los pacientes hubieran fallecido.^{13,14}

En este estudio, la mortalidad observada según el sexo mostró que, tanto al mes como al año, había un mayor porcentaje de muertes en varones. Sin embargo, a partir de los 5 y 10 años, la brecha se reducía. Estos hallazgos coinciden con la investigación de Cipitria y cols., quienes observaron una sobrevida a 10 años de 20% en varones y 40% en mujeres. En este estudio observamos que la tasa de mortalidad a los 10 años fue del 80% en varones y del 71% en mujeres. En nuestra población, la sobrevida de mujeres a 10 años es inferior al trabajo realizado en la población de San Nicolás, Pcia. de Buenos Aires; a pesar de que es un trabajo de similares características,

retrospectivo y realizado en un solo centro médico, no encontramos causa que diferencie ambos trabajos. El trabajo previo de Beratarrechea y cols. mostró que los varones presentaban un mayor índice de la escala de Charlson, lo que justifica estas tasas más altas de mortalidad. En nuestra población, los varones también eran más frágiles y tenían un menor reconocimiento de la osteoporosis, como plantean estos autores.^{3,12}

El análisis del impacto de las comorbilidades en la tasa de mortalidad en el contexto de las fracturas de cadera revela hallazgos significativos con respecto a la supervivencia de la población afectada. Liow, en su seguimiento a nueve años, puso de manifiesto que las comorbilidades preexistentes y las que se desarrollan posteriormente a la fractura son determinantes cruciales de la sobrevida. Este enfoque es particularmente relevante dado que un índice elevado de Charlson se identifica como un factor de riesgo independiente de mortalidad, evidenciando la importancia de una evaluación exhaustiva de las condiciones de salud previas al evento traumático. En nuestra población se evidencia que aquellos pacientes que sobrevivieron a los diez años después de la fractura presentaban un perfil de menor comorbilidad, mayor juventud y habían recibido tratamiento con bifosfonatos tanto antes como después de la fractura.²⁹

Es de interés el impacto en los pacientes mayores de 85 años, quienes muestran una resistencia biológica reducida a las fracturas de cadera, lo que se traduce en tasas de mortalidad significativamente más altas. Von Friesendorff, al estudiar a mujeres mayores de 80 años, demostró que la mortalidad en los primeros cinco años después de la fractura era notablemente elevada en comparación con sus contrapartes más jóvenes, mientras que los hombres no presentaron diferencias significativas en la mortalidad según la edad. Sin embargo, en los varones no hubo diferencia en la tasa de mortalidad. En nuestro trabajo se evidencia una disminución

de la sobrevivida posterior a la fractura en la población más anciana a lo largo de todo el período de tiempo.¹⁴

Las causas más comunes de muerte durante los 10 años de seguimiento fueron las infecciosas y las cardiológicas; este dato coincide con publicaciones previas. Según la literatura, los factores que influyeron en las causas infecciosas fueron la mala higiene, la falta de vacunación (influenza, COVID-19 y neumococo), un mal manejo de tejidos blandos, una mala técnica de asepsia durante el procedimiento quirúrgico y el tiempo prolongado de hospitalización. En cuanto a las causas de riesgos cardiovasculares que se vincularon, se incluyen la historia de cardiopatía previa, la anemia, el sedentarismo y la ausencia de trombofilaxis.³⁰⁻³⁵

El estudio proporcional y multivariable de Cox ha revelado importantes factores predictores independientes de la mortalidad, tales como la edad, el número de comorbilidades, la presencia de demencia o insuficiencia cardíaca, el sexo masculino y la fractura medial. Estos hallazgos son coherentes con los datos previamente consignados por Beratarrechea y Cipitria en nuestro contexto local, así como con investigaciones internacionales que han explorado el mismo fenómeno. La edad se rige como un factor crítico, dado que el riesgo de mortalidad tiende a incrementarse con el avance de esta. Asimismo, el número de comorbilidades se asocia directamente con el deterioro de la salud general del paciente, lo que a su vez puede influir en la supervivencia. Ciertas condiciones como la demencia o la insuficiencia cardíaca agravan el panorama; ambas patologías están ligadas a un mayor riesgo de complicaciones y mortalidad. Además, el sexo masculino ha sido consistentemente identificado como un predictor de mortalidad. Estos factores de riesgo implican la necesidad de considerar variaciones de sexo y estado biológico y social para desarrollar estrategias de intervención.^{3,12, 36-42}

El tratamiento con bifosfonatos posterior a la fractura ha demostrado ser un factor positivo en la supervivencia de nuestros pacientes seguida durante 10 años, como indica el análisis de Cox (HR = 0,68). Por otra parte, se advierte que el grupo que presentó mayor sobrevivida había recibido tratamiento con BF. Este hallazgo se alinea con las observaciones iniciales de Lyles y cols., quienes documentaron que la infusión anual de ácido zoledrónico administrada dentro de los 90 días posteriores a una fractura de cadera se asociaba con una mayor supervivencia. Este dato es significativo, ya que sugiere que el uso de BF, además de su conocido efecto en la salud ósea, puede tener implicaciones más amplias en la longevidad y en la mejora del estado de salud general de los individuos. A su vez, las investigaciones clínicas lideradas por Lyles, Bolland, Center, Belanova y Diehl también respaldan la noción de que el tratamiento con BF otorga beneficios más allá de la salud ósea, sugiriendo la existencia de un efecto extraesquelético que podría estar vinculado a mecanismos que promueven la salud en otros sistemas del organismo, contribuyendo así a la prolongación de la vida.^{15,43-46}

Las limitaciones de nuestro estudio son, en principio, la pérdida de un 8,5% de pacientes que se dieron de baja del Plan de Salud, por lo cual no pudimos recabar datos de la evolución. Además, por ser un estudio retrospectivo fue difícil registrar y computarizar, en forma sistémica, muchos datos y las características de la población. Otro límite fue la falta de un grupo control que no sufrió el evento.

Entre sus fortalezas se destaca el gran número de pacientes fracturados de cadera, pertenecientes a un sistema cerrado de salud, que fueron evaluados durante 10 años, en una población estable homogénea, del mismo perfil socioeconómico y seguida con tratamientos similares según el protocolo de la institución. Estos resultados, que fueron



obtenidos en condiciones de la vida real, permiten extrapolar conclusiones para diseñar protocolos útiles en la práctica clínica de este centro de salud y además sirve como base para futuras investigaciones.

Conclusiones

En nuestro estudio a 10 años sobrevivió el 26,8% de la población, femenina en mayor proporción, más sana, con menor edad en el momento de la fractura. Los bifosfonatos favorecieron una mejor sobrevida.

La población con fractura de cadera por

fragilidad debe ser evaluada y supervisada especialmente en varones, en pacientes con demencia, insuficiencia cardíaca y muchas comorbilidades. El tratamiento durante el primer año posfractura de cadera con fármacos osteoactivos mejora la expectativa de vida.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener conflictos de interés.

Recibido: agosto 2024
Aceptado: noviembre 2024

Referencias

1. Fernández-García M, Martínez J, Olmos JM, González-Macías J, Hernández JL. Review of the incidence of hip fracture in Spain. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2015;7: 115-20. doi:10.4321/S1889-836X2015000400007.
2. Bagur A, Mautalen C, Rubin Z. Epidemiology of hip fractures in an urban population of central Argentina. *Osteoporosis Int* 1994;4: 332-5. doi:10.1007/BF01622193.
3. Beratarrechea A, Diehl M, Saimovici J, Pace N, Trossero A, Plantalech L. Mortalidad a largo plazo y factores predictores en pacientes con fractura de cadera. *Actual Osteol* 2011;7: 9-18.
4. Ercolano M, Drnovsek M, Gauna A. Fractura de cadera en los hospitales públicos de la Argentina. *RAEM* 2012;49: 3-11.
5. Bartosch P, Malmgren L, Kristensson J, McGuigan FE, Akesson KE. In community-dwelling women frailty is associated with imminent risk of osteoporotic fractures. *Osteoporos Int* 2021;32: 1735-44. doi:10.1007/s00198-021-05886-7.
6. Gallardo P, Clavel O. Fractura de cadera y geriatría, una unión necesaria. *Revista Médica Clínica Las Condes* 2020;31: 42-9. doi:10.1016/j.rmclc.2019.09.004.
7. Pérez Caballero FL, Mora Monago F, Tena Guerrero JM, Buitrago F. Hip fractures and use of psychotropic drugs in an urban health centre. *Aten Primaria* 2016;48: 559-60. doi:10.1016/j.aprim.2016.01.010.
8. Eisman JA, Bogoch ER, Dell R, Harrington JT, McKinney RE Jr, McLellan A, et al. Making the first fracture the last fracture: ASBMR task force report on secondary fracture prevention. *J Bone Miner Res* 2012;27: 2039-46. doi:10.1002/jbmr.1698.
9. Brown JP, Adachi JD, Schemitsch E, Tarride J-E, Brown V, Bell A, et al. Mortality in older adults following a fragility fracture: real-world retrospective matched-cohort study in Ontario. *BMC Musculoskelet Disord* 2021;22: 105. doi:10.1186/s12891-021-03960-z.
10. Abrahamsen B, van Staa T, Ariely R, Olson M, Cooper C. Excess mortality following hip fracture: a systematic epidemiological review. *Osteoporos Int* 2009;20: 1633-50. doi:10.1007/s00198-009-0920-3.
11. Wang AQ-L, Ng BH-P, Cheung LP-C, Chin RP-H. Factors Affecting Mortality and Hospital Admissions after Hip Surgery among Elderly Patients with Hip Fracture in Hong Kong - Review of a Three-Year Follow-Up. *Hong Kong J Occup Ther* 2017;30: 6-13. doi:10.1016/j.hkjot.2017.10.004.

12. Cipitria JA, Sosa MM, Pezzotto SM, Puche RC, Bocanera R. Outcome of hip fractures among elderly subjects. *Medicina* 1997;57: 530-4.
13. Tiihonen R, Alaranta R, Helkamaa T, Nurmi-Lüthje I, Kaukonen J-P, Lüthje P. A 10-Year Retrospective Study of 490 Hip Fracture Patients: Reoperations, Direct Medical Costs, and Survival. *Scand J Surg* 2019;108: 178-84. doi:10.1177/1457496918798197.
14. von Friesendorff M, McGuigan FE, Wizert A, Rogmark C, Holmberg AH, Woolf AD, et al. Hip fracture, mortality risk, and cause of death over two decades. *Osteoporos Int* 2016;27: 2945-53. doi:10.1007/s00198-016-3616-5.
15. Diehl M, Beratarrechea A, Pace N, Saimovici J, Trossero A, Plantalech L. Disminución del riesgo de mortalidad en pacientes tratados con bifosfonatos luego de una fractura de cadera por osteoporosis. *Actual Osteol* 2013;9(2): 154-64.
16. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, McKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chron Dis* 1987;40(5): 373-83.
17. Vestergaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Osteoporosis is markedly underdiagnosed: a nationwide study from Denmark. *Osteoporosis Int* 2005;16:134-41. doi: 10.1007/s00198-004-1680-8.
18. DeClercq M, Eberhardt L, Zakko P, Keeley J, Audet M, Park D. Equivalence in osteoporosis workup and management after femoral neck fracture fixation and vertebral compression fracture cement augmentation: A single-center retrospective study highlighting persistent underdiagnosis and undertreatment. *J Orthop* 2024;56:133-40. doi: 10.1016/j.jor.2024.05.002.
19. Siris E, Yu J, Bognar K, et al. Undertreatment of osteoporosis and the role of gastrointestinal events among elderly osteoporotic women with Medicare Part D drug coverage. *Clin Interv Aging* 2015;10: 1813-24.
20. Lorentzon M, Nilsson AG, Johansson H, Kanis JA, Mellström D, Sundh D. Extensive undertreatment of osteoporosis in older Swedish women, 2019. *Osteoporosis Int* 2019; 30:1297-305 <https://doi.org/10.1007/s00198-019-04872-4>.
21. World Health Organization. (2019). Osteoporosis Fact sheet. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/fragility-fractures>.
22. Pincus D, Ravi B, Wasserstein D, et al. Association Between Wait Time and 30-Day Mortality in Adults Undergoing Hip Fracture Surgery. *JAMA* 2017;318: 1994-2003. doi:10.1001/jama.2017.17606.
23. Beaupre LA, Khong H, Smith C, Kang S, Evens L, Jaiswal PK, et al. The impact of time to surgery after hip fracture on mortality at 30- and 90-days: Does a single benchmark apply to all? *Injury* 2019;50: 950-5. doi:10.1016/j.injury.2019.03.031.
24. Mattisson L, Bojan A, Enocson A. Epidemiology, treatment and mortality of trochanteric and subtrochanteric hip fractures: data from the Swedish fracture register. *BMC Musculoskelet Disord* 2018;19: 369. doi:10.1186/s12891-018-2276-3.
25. Vosoughi AR, Emami MJ, Pourabbas B, Mahdaviazad H. Factors increasing mortality of the elderly following hip fracture surgery: role of body mass index, age, and smoking. *Musculoskelet Surg* 2017;101: 25-9. doi:10.1007/s12306-016-0432-1.
26. Li S, Sun T, Liu Z. Excess mortality of 1 year in elderly hip fracture patients compared with the general population in Beijing, China. *Arch Osteoporos* 2016;11: 35. doi:10.1007/s11657-016-0289-9.
27. Claus-Hermberg H, Bullrich MPL, Ilera V, Malter Terrada J, Pozzo MJ. Hip fracture incidence in women members of a closed health system. *Bone* 2007;3: S9. doi: 10.1016/j.bone.2006.12.027.
28. Kristensen MT, Kehlet H. The basic mobility status upon acute hospital discharge is an independent risk factor for mortality up to 5



- years after hip fracture surgery. *Acta Orthop* 2018;89: 47-52. doi:10.1080/17453674.2017.1382038.
29. Liow MHL, Ganesan G, Chen JDY, et al. Excess mortality after hip fracture: fracture or pre-fall comorbidity? *Osteoporos Int* 2021;32: 2485-92. doi:10.1007/s00198-021-06023-0.
30. Katsanos S, Sioutis S, Reppas L, et al. What do hip fracture patients die from? *Eur J Orthop Surg Traumatol* 2023. doi:10.1007/s00590-022-03250-x.
31. Barceló M, Torres OH, Mascaró J, Casademont J. Hip fracture and mortality: study of specific causes of death and risk factors. *Arch Osteoporos* 2021;16: 15. doi:10.1007/s11657-020-00873-7.
32. Torres-Campos A, Floria-Arnal LJ, Muniesa-Herrero MP, Ranera-García M, Osa-Guadalajara M, Castro-Sauras A. Initial hemoglobin value as a predictor of allogeneic blood transfusion in hip fracture. *Acta Ortop Mex* 2018;32: 347-53.
33. Huddleston JM, Gullerud RE, Smither F, et al. Myocardial infarction after hip fracture repair: a population-based study. *J Am Geriatr Soc* 2012;60: 2020-6. doi:10.1111/j.1532-5415.2012.04205.x.
34. de Luise C, Brimacombe M, Pedersen L, Sørensen HT. Comorbidity and mortality following hip fracture: a population-based cohort study. *Aging Clin Exp Res* 2008;20: 412-8. doi:10.1007/BF03325146.
35. Negrete-Corona J, Alvarado-Soriano JC, Reyes-Santiago LA. Hip fracture as risk factor for mortality in patients over 65 years of age. Case-control study. *Acta Ortop Mex* 2014;28: 352-62.
36. Meessen JMTA, Pisani S, Gambino ML, et al. Assessment of mortality risk in elderly patients after proximal femoral fracture. *Orthopedics* 2014;37: e194-200. doi:10.3928/01477447-20140124-25.
37. Riska BS, Forsén L, Omsland TK, Søgaard AJ, Meyer HE, Holvik K. Does the Association of Comorbidity with 1-Year Mortality After Hip Fracture Differ According to Gender? The Norwegian Epidemiologic Osteoporosis Studies (NOREPOS). *J Am Geriatr Soc* 2018;66: 553-8. doi:10.1111/jgs.15207.
38. Pareja Sierra T, Bartolomé Martín I, Rodríguez Solís J, et al. Predictive factors of hospital stay, mortality and functional recovery after surgery for hip fracture in elderly patients. *Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología (English Edition)*. 2017;61: 427-35. doi: 10.1016/j.recote.2017.10.007.
39. Laffita Zamora J, González Pedroso CD, García García E, Pérez Casanova M, Brown Pérez A, Portilla Puente R. Variables perioperatorias que influyen en la morbimortalidad de pacientes operados de fractura de cadera. *Rev Cuba Med Mil* 2017;46: 313-26.
40. Hu F, Jiang C, Shen J, Tang P, Wang Y. Preoperative predictors for mortality following hip fracture surgery: a systematic review and meta-analysis. *Injury* 2012;43: 676-85. doi: 10.1016/j.injury.2011.05.017.
41. Chiu H-C, Chen C-M, Su T-Y, et al. Dementia predicted one-year mortality for patients with first hip fracture: a population-based study. *Bone Joint J* 2018;100-B: 1220-6. doi: 10.1302/0301-620X.100B9.BJJ-2017-1342.R1.
42. Duaso E, Gamboa-Arango A, Formiga F, et al. Prognostic factors of mortality one year after a hip fragility fracture. Anoa hip study. *Rev Esp Geriatr Gerontol* 2021;56: 18-23. doi: 10.1016/j.regg.2020.09.002.
43. Lyles KW, Colón-Emeric CS, Magaziner JS, et al. Zoledronic acid and clinical fractures and mortality after hip fracture. *N Engl J Med* 2007;357: 1799-809. doi:10.1056/NEJMoa074941.
44. Center JR, Lyles KW, Bliuc D. Bisphosphonates and lifespan. *Bone* 2020;141: 115566. doi: 10.1016/j.bone.2020.115566.
45. Bolland MJ, Grey AB, Gamble GD, Reid IR. Effect of osteoporosis treatment on mortality: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol*

Metab 2010;95: 1174-81. doi:10.1210/jc.2009-0852.

46. Behanova M, Reichardt B, Stamm TA, Zwerina J, Klaushofer K, Kocijan R. Treatment Effects of Bisphosphonates and Denosumab

on Survival and Refracture from Real-World Data of Hip-Fractured Patients. *Calcif Tissue Int* 2019;105: 630-41. doi:10.1007/s00223-019-00611-3.



A.A.O.M.M.

(Asociación Argentina de Osteología
y Metabolismo Mineral)