



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**HOSPITAL GENERAL DEL ESTADO DE SONORA  
DR ERNESTO RAMOS BOURS**

**T E S I S**

**REOLOGÍA DEL NÚCLEO PULPOSO Y SU RELACIÓN CON LA PATOLOGÍA ÓSEA  
VERTEBRAL**

**PARA OBTENER LA ESPECIALIDAD DE ORTOPEDIA**

**PRESENTA:**

**Martín Rodrigo Silvas Vásquez**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. REGINALDO CADENA VEGA**

Hospital General del Estado de Sonora

**CODIRECTOR DE TESIS: DR. CS. MIGUEL VALDEZ COVARRUBIAS**

Departamento de Física; Universidad de Sonora

Hospital General del Estado de Sonora

**COMITÉ TUTOR: BIÓL. NOHELIA G. PACHECO HOYOS**

Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas; Universidad de Sonora

Hospital General del Estado de Sonora

**DR. FRANCISCO RODRÍGUEZ FÉLIX**

**ING. NORMA BUSTOS CERVANTES**

**Hermosillo Sonora; julio 2016**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

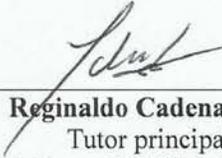
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



## FIRMAS DE AUTORIZACIÓN DEL CÓMITE DIRECTIVO DE TESIS

Los presentes han revisado el trabajo del médico residente de cuarto año Martín Rodrigo Silvas Vásquez y lo encuentran adecuado para continuar con su proceso de titulación para obtener su grado de médico especialista en ortopedia.



---

**Reginaldo Cadena Vega**  
Tutor principal  
Hospital General del Estado de Sonora

---

**Miguel Valdez Covarrubias**  
Departamento de Física  
Universidad de Sonora



---

**Nohelia G. Pacheco Hoyos**  
Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas, Universidad de Sonora  
Hospital General del Estado de Sonora

---

**Ausencio Rogelio Ortiz Acosta**  
Instituto de Psicoterapia, Investigación y Educación S. C.

---

**Francisco Rodríguez Félix**  
D.I.P.A.  
Universidad de Sonora

---

**Norma Bustos Cervantes**  
Laboratorio Anton-Paar



Gobierno del  
Estado de Sonora

Secretaría de  
Salud Pública

Hospital General del Estado  
"Dr. Ernesto Ramos Bours"  
División de Enseñanza e Investigación  
No. de Oficio: SSS/HGE/EM/660/16  
Hermosillo, Sonora a 28 de julio de 2016

2016: "Año del Diálogo y la Reconstrucción"

### OFICIO DE LIBERACIÓN DE TESIS

La división de enseñanza e Investigación del Hospital General del Estado de Sonora hace constar que realizó la revisión del trabajo de tesis del médico residente: *Silvas Vásquez Martín Rodrigo*; cuyo título es:

#### REOLOGÍA DEL NÚCLEO PULPOSO Y SU RELACIÓN CON LA PATOLOGÍA ÓSEA VERTEBRAL

Se considera que la tesis reúne los requisitos solicitados por la Universidad Nacional Autónoma de México y se acepta para ser presentada en el examen de grado.

**ATENTAMENTE  
SUFRAGIO EFECTIVO, NO REELECCIÓN.  
EL SUBJEFE DE LA DIVISIÓN DE ENSEÑANZA E  
INVESTIGACIÓN**

**DR. ELEAZAR VALLE ARMENTA**

C.p. Archivo  
NGPH



Hospital General  
del Estado  
Dr. Ernesto Ramos Bours

**Unidos logramos más**

Bldv. Luis Encinas Johnson S/N Colonia Centro  
Tels. (662) 2592501, 2592505  
Hermosillo, Sonora / [www.saludsonora.gob.mx](http://www.saludsonora.gob.mx)



## AGRADECIMIENTOS

Es un privilegio ser respaldado por la gran casa de estudios con prestigio y representación de América latina; desde la mirada del Águila, hasta la mirada del Cóndor, la UNAM.

A la Secretaria de Salud, que nos ha brindado la oportunidad de cursar la especialidad en un Hospital de muchas oportunidades de aprendizaje, y así mismo el apoyo económico con el que hemos vivido en este tiempo de estudio.

Tengo el honor de haber estado en el Hospital General del Estado de Sonora, lugar donde ha sido nuestra primera casa realmente, lugar donde se han compartido gran conocimiento, desde los maestros, pacientes y de todos los colaboradores que laboran. El paciente es el maestro más importante para el médico, en conjunto con nuestros maestros médicos de todos los días, todos ellos que nos facilitaron el conocimiento, que nos obligaron a estudiar, a debatir, a levantarnos temprano para asistir sin falta a clases y por la confianza que nos tuvieron para soltarnos la mano con el clavo y el martillo, pecaría sin los nombrara y faltara alguno; sin embargo mencionaré a uno que no es un maestro reconocido, tal vez ni el sepa que contribuye importantemente a nuestra formación, a Jesús Grijalva López, alias el Maromero.

Gracias a mi comité de tesis, al Dr. Reginaldo Cadena Vega por entusiasmarse en el proyecto y por su insomnio que me puso a estudiar; al Dr. Cs. Francisco Rodríguez Félix y a la ingeniera Norma Cervantes por brindar el conocimiento y conocimiento de Reología; al Dr. Miguel Valdez Covarrubias su orientación en el trabajo fue fundamental para alcanzar los objetivos; a Nohelia Pacheco por su constancia.

Gracias a mi familia, mamá, papá, hermana y mi novia Cecilia, por el apoyo brindado, por los tiempos buenos y malos, gracias.

## **DEDICATORIA**

“A mi querido viejo que se nos ha adelantado en el camino, por ser mi primer y más importante maestro, un beso hasta el cielo padre”.

Todo fluye si esperas el tiempo necesario, hasta las ideas.

# ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b>	11
<b>MARCO TEÓRICO</b>	
Reología y mecánica de fluido	13
Columna vertebral	15
Disco intervertebral	16
Antecedentes biomecánicos en disco intervertebral	18
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	21
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	23
<b>OBJETIVOS</b>	25
<b>HIPÓTESIS</b>	26
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	27
<b>RESULTADOS</b>	50
<b>DISCUSIÓN</b>	65
<b>CONCLUSIONES</b>	73
<b>RECOMBINACIONES</b>	75
<b>LITERATURA CITADA</b>	76

## RESUMEN

Se realizaron reometrías de cinco muestras de núcleo pulposo de columna lumbar de paciente de 21, 44, 60, 77 años, y un puerco joven de cuatro meses de edad a 36.5 °C; las muestras se conservaron a 0 °C para evitar la descomposición de las mismas pero también evitar la congelación con la cual hay cambios en la estructura de los geles. Las reometrías se realizaron en Reómetro Anton-Para 302 MCR en donde se corren pruebas para obtener de meseta lineal viscoelástica y la deformación angular para trabajar reometría en módulo viscoelástico complejo.

Las pruebas se realizaron por triplicado, obteniendo pruebas reproducibles, al final de haber realizado pruebas para módulo complejo ( $G^*$ ) se repiten reometría de amplitud viscoelástica con el objetivo de valorar y la muestra recupera sus propiedades viscoelásticas posterior al estrés. Se evalúan los módulos elásticos y viscoso, así como el esfuerzo de corte, dentro de los módulos se obtiene también los puntos fluencia (yield point) y punto de flujo (flow point), los cuales marcan la caída o fatiga de cada uno de los módulos; donde el módulo elástico se vuelve más suave y el módulo viscoso mas líquido. En el módulo de viscosidad compleja también se obtienen módulos pero estos son dependientes de deformación angular ( $\omega$ ) y no de la frecuencia.

La muestra que presenta mayor rigidez en las pruebas de amplitud es la de 77 años, mientras que en la prueba dependiente de frecuencia la de 44 años; el grado de deformación para la muestras se encuentra constante en el 1.5% para el módulo elástico y el viscoso entre 6 y 10%. El análisis de viscosidad simple representa a un fluido no-newtoniano del tipo pseudoplastico, mientras que en el módulo para viscosidad compleja se define que se comporta como un fluido tixotrópico; además la elasticidad es de comportamiento no lineal, por lo cual corresponde a característica de un sólido no-hookeano. En todo momento en todas las muestras el módulo elástico estuvo por encima del módulo viscoso, por lo cual el núcleo pulposo es un material viscoelástico sólido.

## ABSTRACT

Rheometry tests were performed out of five samples of nucleus pulposus in the lumbar spine. Samples were taken out of patients aged 21, 44, 60, 77, and a young pig aged 4 months at 36.5°C; They were kept at 0 ° C to keep them from decomposing, as well as to keep them from being frozen, which would lead to changes in the structure of the gels. Rheometry tests were performed using Anton-Para 302 MCR rheometer, which is used to run tests for linear viscoelastic plateau and angular deformation to work in complex viscoelastic modulus.

The tests were performed three times, obtaining reproducible tests. Having performed tests for complex modulus ( $G^*$ ), a rheometry test for viscoelastic amplitude was repeated in order to evaluate it and the sample recovered its viscoelastic properties after stress. Elastic modulus and viscous modulus were evaluated, as well as the shear stress. Within the modulus, the yield point and the flow point were also obtained. These indicate the fall or fatigue of each one of the module, where the elastic modulus becomes softer and the viscous modulus becomes more liquid. Other module are obtained in the complex viscosity modulus, but they depend on angular deformation ( $\omega$ ), not on the frequency.

The sample that presents greater rigidity in the amplitude tests is the one of the 77 year-old patient, while on the frequency dependent test, the one with the greatest rigidity is the sample of the 44 year-old patient; the degree of deformation for the samples is constant at 1.5% for the elastic modulus and from 6 to 10% for the viscous modulus. The simple viscosity analysis represents a non-newtonian fluid that belongs to the pseudoplastic type, while on the complex viscosity modulus it is defined that it behaves as a thixotropic fluid; aside from that, elasticity is of nonlinear behavior, which is a characteristic of a non-hookean solid. The elastic modulus was above the viscous modulus in all the samples at all times, which is why the nucleus pulposus is a solid viscoelastic material.

## INTRODUCCIÓN

Se realizaron pruebas reométricas de núcleo pulposo de muestras obtenidas de cuerpos sometidos a necropsia, en el periodo de febrero a Junio del 2016 y de una muestra obtenida de porcino de 4 meses. La muestra de cuerpos humanos se orden de acuerdo a edad, así mismo se almacenan en recipiente hermético para evitar la deshidratación de los mismos y a temperatura de 0° para evitar la congelación de la muestra y evitar así modificación de las propiedades viscoelásticas.

El objetivo es clasificar las propiedades viscoelásticas del mismo, sospechando que la composición del núcleo pulposo es un fluido No-Newtoniano, con características que permitan ser el responsable de las fracturas de los cuerpos vertebrales. Se presenta una nueva forma de realizar estudios biomecánicos en la ortopedia,

Se ha revisado la literatura, en donde se encuentran estudios reológicos con experimentos rudimentarios caseros, o dispositivos de generaciones antiguas o aquellos en donde no se arrojan datos tangibles sobre las características viscoelásticas. Es posible evaluar un material y clasificarlo como fluido viscoelástico simplemente al tacto y la vista, obteniendo así una variable cualitativa, sin llegar más allá.

Actualmente el desarrollo de simulaciones en software como Solidworks son herramientas indispensable para el desarrollo de innumerables trabajos más comúnmente en ingeniería, (ortopedia es el equivalente de la ingeniería en la medicina) otro ejemplo es el COMSOL Multiphysics, en este último es posible la simulación de tejido tumoral. En el disco intervertebral también se ha intentado la simulación, pero en dichos estudios se carece de datos para llegar a una simulación exitosa; el propósito de este trabajo es obtener esos datos del núcleo pulposo del disco intervertebral a través de reología con equipo de última generación, teniendo

comparación de los datos entre grupos de edad y analizar los cambios de propiedades viscoelásticas.

Los software de simulación han contribuido a evitar recaer en el ensayo y error, lo cual es un ahorro de tiempo y recursos económicos. Los datos arrojados en este trabajo servirán también para diseñar una prótesis de disco intervertebral lo más similar posible a características fisiológicas (las únicas prótesis exitosas hasta la fecha han sido las prótesis de cadera y rodilla).

En la literatura no existen estudios reales de reología del núcleo pulposo de modelo cadavérico, por lo que no se cuenta con las mediciones cuantitativas por grupo de edad de las características viscoelásticas. En el presente trabajo se medirán el módulo viscoso y elástico por grupo de edad, y se analizaron los cambios que presentan. Se definió si el disco intervertebral presenta características que lo involucren en la fractura de los cuerpos vertebrales; además se inicia con una nueva línea de investigación en el área de fluidos y reología, un nuevo camino de hacer pruebas biomecánicas.

## MARCO TEÓRICO

### Reología y mecánica de fluidos

Un Fluido es una sustancia que se deforma continuamente cuando se somete a un esfuerzo cortante, sin importar qué tan pequeño sea ese esfuerzo cortante [Streeter et al. 2000]. De acuerdo con el aspecto físico que tiene la naturaleza, la materia se puede clasificar en tres estados: sólido, líquido y gaseoso, de los cuales los dos últimos se conocen como fluidos. Los fluidos pueden cambiar continuamente las posiciones relativas de las moléculas, sin ofrecer gran resistencia al desplazamiento entre ellas. Compresibilidad es el comportamiento bajo la acción de esfuerzos de compresión (gases), característica que no comparten los líquidos [Ávila, 1989].

La reología (del griego *reos*, fluir y *logos*, estudio) es la ciencia del flujo y la deformación de la materia, describe la interrelación entre fuerzas, deformaciones y tiempo. La ciencia de la reología tiene apenas 80 años, fue fundada por Marcus Reiner y Eugen Bingham en los años veinte quienes tuvieron la necesidad común de describir las propiedades de flujo de fluidos [Rojas et al. 2012]. Su origen se relaciona con la observación del comportamiento "extraño" o anormal de muchos materiales y dificultades para responder a algunas preguntas muy "simples" conocidas. Por ejemplo:

La pintura es evidentemente un líquido, ya que se puede verter en una botella, pero ¿por qué permanecer en una pared vertical sin oscilar hacia abajo al igual que cualquier otro líquido?; Una solución coloidal es un líquido, pero ¿por qué la viscosidad de un líquido tal, a diferencia de otros líquidos, parece diferente cuando lo medimos en diferentes condiciones de flujo?; La arcilla parece bastante a un sólido, pero todo el mundo sabe que puede ser moldeado pero también toma la forma de un recipiente como cualquier líquido, si la arcilla es un sólido, ¿por qué se comporta como un líquido?; El hormigón se ve bastante sólido y rígido, pero cuando se

somete a una fuerza externa que cambia sus dimensiones (y forma) como un líquido; ¿cuáles son las razones de tal comportamiento? [Malkin, 1994].

Viscosidad se define como una medida de la resistencia a la deformación del fluido y es la proporción entre el esfuerzo cortante y la velocidad de corte; sus unidades son Newton-segundos por metro cuadrado ó Pascal-segundo. El esfuerzo Cortante es la fuerza necesaria para mover una superficie determinada de fluido y se denota con la letra  $\tau$ , también llamado tensión de cizalla [Mott et al. 2006].

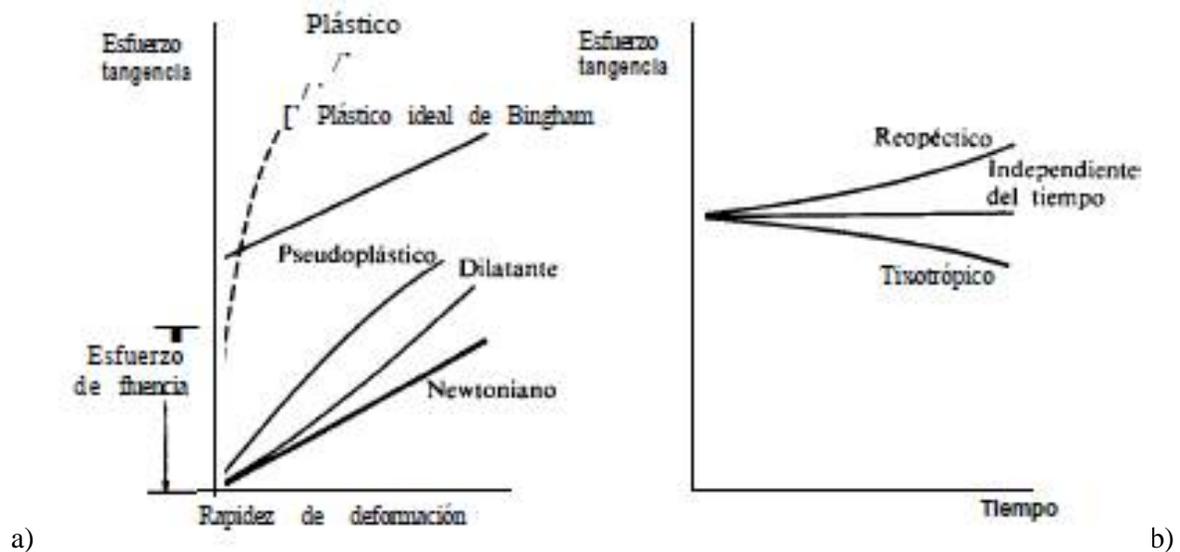
Velocidad de corte es la tasa de movimiento del fluido contenido entre dos superficies; dicho en otras palabras, es la tasa de desplazamiento a la cual una partícula del fluido se mueve con respecto a otra, dividido por la distancia entre ellas [López et al. 2011]. Elasticidad es la capacidad de un material para recuperar su tamaño y forma original al eliminar las cargas aplicadas [Nordin & Frankel, 2004]

El campo de la reología se extiende desde la mecánica de los fluidos Newtonianos por una parte, hasta la elasticidad de Hooke por otra [Rojas et al. 2012]. Todo fluye, si esperas el tiempo suficiente, incluso montañas [Schramm, 1994].

La viscoelasticidad es una combinación de las propiedades características de los líquidos viscosos y de los sólidos en estos últimos es la elasticidad; una definición general de los materiales viscoelásticos incluye dos componentes - potencial elástico e intensidad de las pérdidas disipativas [Malkin, 1994].

El término "tixotropía" es una combinación de las palabras griegas "Thixis" significa tocar, en el sentido de perturbar al poner en movimiento, y "trepein" significa girando, cambiando, transformando; "Tixotropía" podría ser traducido como "El cambio estructural o de transición debido a una carga mecánica (propiedad que algunos coloides sólidos temporalmente cambian a líquido posterior a una fuerza mecánica), este ciclo de descomposición y la regeneración es un

proceso completamente reversible (en la figura 1 se muestran los distintos tipos de gráficas, dependiendo del esfuerzo cortante sobre tiempo en la grafica de la derecha y de viscosidad sobre tiempo en la figura de la derecha). Comportamiento reopéctico significa un aumento en fuerza estructural cuando se realiza un proceso de alta cizalladura que es seguida por una descomposición más o menos rápida pero completa de la mayor resistencia estructural durante un período posterior de descanso [Mezger, 2014].



**Figura. 1.** Algunos tipos de comportamientos reológicos. Tomado de Daily y Donald, 1969)

### Columna vertebral

La columna vertebral es una columna segmentaria de huesos, los elementos que la componen están unidos entre sí por articulaciones intervertebrales que configura un soporte flexible, a la vez neuroprotector para el tronco y las extremidades. En el movimiento de la columna participan 97 diartrosis y un número mayor de anfiartrosis [Rothman, 2007].

El raquis móvil está constituido por una porción anterior o columna propiamente dicha, formada por los cuerpos vertebrales. Es un verdadero tallo de sostén que constituye la parte estática del raquis. La otra porción posterior comprende la masa apofisaria con sus palancas y los

puntos de apoyo articulares que permiten los movimientos de deslizamiento de los arcos posteriores [Gutiérrez, 2004].

### **Disco intervertebral**

Los discos absorben los choques y su forma variable explica las curvaturas secundarias de la columna vertebral; un anillo fibroso (parte externa), compuesto por láminas concéntricas de fibrocartílago y una masa gelatinosa central, el núcleo pulposos [Moore, 2002]. El papel funcional importante del disco es mecánico: permite movimientos entre el esqueleto axial y apendicular y la cabeza; que tiene capacidad para cargas aplicadas; y en cierta medida el disco protege las raíces de la médula espinal y de los nervios [Shapiro *et al.* 2013].

Los discos en sí son tejidos complejos que comprenden un anillo circunferencial exterior de fibrocartílago, el anillo fibroso encierra un núcleo central rica en proteoglicanos, el núcleo pulposos El núcleo se intercala en sentido caudal y cefálica por las placas terminales de cartílago de las vértebras contiguas [Shapiro *et al.* 2013]. Se encuentra aprisionado en su compartimiento, entre dos mesetas vertebrales, el núcleo pulposos tiene una forma parecida a una esfera, su comportamiento es parecido a una canica, este tipo de articulación denominada rótula permite 3 movimientos: inclinación, rotación y deslizamiento de cizallamiento [Kapandji y Torres, 1998].

Durante el desarrollo, el núcleo cuenta con una gran proporción de células: después del nacimiento, el número de células se reduce; En el adulto, la densidad de las células es muy baja. La histología de las células de núcleo pulposos es único y complejo: células grandes en racimos y separadas por una matriz extracelular abundante. Las células exhibieron un sistema bien definida de Golgi, un extenso retículo endoplasmático, y un sistema vesicular complejo y lleno de estructuras moldeadas (proteoglicanos) [Gan *et al.* 2003]. Con respecto a la matriz extracelular, las células de núcleo pulposos secretan agregano, así como los colágenos I y II. La matriz también

contiene colágenos IX y XI, y el colágeno X también se ha informado de que se presente durante la degeneración. Debido a la presencia de agregados, el disco presenta una alta presión osmótica; Por otra parte, ya que no tiene suministro de sangre, la tensión de oxígeno dentro del disco es muy baja [Agrawal et al. 2007]

Los extremos caudales y cefálicos del disco están cubiertos por una capa de cartílago, la placa terminal. Esta fina capa de cartílago hialino es como máximo de espesor en el recién nacido y se adelgaza con la edad; En el adulto, la anchura real es de aproximadamente 0,5 a 1 mm. No sirve simplemente como una interfaz entre el núcleo pulposo suave y el hueso denso de las vértebras, pero como una barrera que previene la biomecánica del disco de aplicación de presión directamente al hueso; es la presencia de la capa de cartílago que proporciona el segmento de movimiento. Algunas autoridades creen que el cartílago también juega un papel en el mantenimiento de la viabilidad de las células del núcleo pulposo [Dahia et al. 2009].

Los canales vasculares penetran en el cartílago, pero en la madurez de los vasos se estrechan, constreñida, o incluso borrado. Es probable que este cambio afecta el suministro de nutrientes a tanto el cartílago y el disco (Moore, 2000). La región central de la placa terminal, donde hay una alta concentración de canales es libremente permeable a las moléculas pequeñas [Crock y Yoshizawa, 1976].

El disco intervertebral es el tejido blando entre los cuerpos vertebrales. Se compone de tres tejidos distintos: el núcleo pulposo, anillo fibroso y las placas terminales cartilaginosas. Cada uno de estos tejidos tiene una composición característica y la estructura que les proporcionan propiedades mecánicas especiales para llevar a cabo su función. Su interacción permite que el disco intervertebral para transmitir las cargas al tiempo que permite una flexibilidad limitada entre los cuerpos vertebrales. En un disco sano, el núcleo pulposo es un material similar a un gel altamente hidratado, que está rodeado por el anillo fibroso y las placas

terminales cartilaginosas. La función principal del núcleo pulposo es para soportar las cargas mecánicas a través de la presión hidráulica y osmótica [Shapiro et al. 2013]

Los proteoglicanos están presentes dentro de la matriz extracelular (ECM) del disco intervertebral y en la superficie de sus células. El disco posee muchas proteoglicanos de la matriz, con la mayoría también está presente en cartílago hialino. El mejor estudiado de estos son agregano y de VS (miembros de la familia hyalectan / lectican) y decorina, biglicano, fibromodulina, lumican, PRELP, y condroadherina (miembros de la familia pequeña rica en leucina repetición de proteína / SLRP). Más recientemente, el disco también se ha demostrado que contienen lubricin perlecan y, que se pensaba que ser característica de las membranas basales y la superficie del cartílago articular, respectivamente [Shapiro *et al.* 2013].

El núcleo pulposo gelatinoso es un suave, altamente tejido hidrófilo que ocupa la región central del disco. El disco contiene proteoglicanos (agregano predominantemente), colágenos fibrilares organizados al azar (Inoue, 1981), dispuestos radialmente fibras de elastina y agua (Yu et al., 2002). El núcleo pulposo tiene una mayor concentración de proteoglicanos y agua que otras regiones del disco, mientras que los más altos niveles de colágeno están en el anillo exterior y la concentración más baja en el núcleo (Mwale et al 2004;. Inkinen et al., 1998)

### **Antecedentes biomecánicos en disco intervertebral**

El disco intervertebral tiene una naturaleza poroviscoelástica, característica que contribuye a una pérdida de la estatura de un individuo, por la disminución de la longitud de la columna; debido a la compresión sostenida por diferentes causas (actividades de carga, exceso de peso, etc.) [Koeller et al 1984;. Leatt et al., 1986].

El núcleo del disco sano en gran medida es agua, y en consecuencia se somete a la presión hidrostática durante la carga de la columna; por esta razón tanto la monocapa (2D) y los sistemas de cultivo de hidrogel (3D) se han utilizado para someter a las células del núcleo

pulposo a la presión hidrostática o compresión; dichas células se consideran similares a los condrocitos, mientras que las células del anillo fibroso a los fibroblastos. Estudios del disco está limitado en modelos animales debido a las escasa existencia de muestra de humanos lo cual resulta deseable [Shapiro *et al.* 2013].

La respuesta de la célula del disco a la presión depende de la magnitud, frecuencia y duración de la carga; las condiciones de carga fisiológicas (<1 Mpa, <3 Hz de frecuencia y <24 horas) son anabólicas, mientras que régimen fuera de rango son catabólicos [Chen *et al.* 2004; Wenger *et al.* 2005; Sowa *et al.* 2011b; Wang *et al.* 2011]. La síntesis de proteoglicanos en el núcleo pulposo se suprime por la compresión y esfuerzos de vibración [Ishihara, 1992].

La disminución de la hidratación y aumento de la presión osmótica bajo estrés de tracción axial excesiva puede contribuir a la supresión de la síntesis de proteoglicano en el núcleo pulposo y anillo fibroso [Terahata *et al.* 1994]. La tasa de síntesis de proteoglicano en los condrocitos es influenciada por la hidratación del tejido y la presión osmótica [Bayliss *et al.* 1986; Bayliss *et al.* 1988].

Las primeras simulaciones de la columna vertebral se llevaron a cabo usando una deformación dependiente de materiales tangentes tipo Hooke y elementos de resorte no lineales para simular las fibras de colágeno [Shirazi-Adl, 1994, 2006; Shirazi-Adl *et al.* 1986 a, b]. Todavía no está claro, en qué medida los efectos intrínsecos viscoelásticas se derivan de los proteoglicanos, la red de colágeno sueltas (tipo II), o el colágeno estructural (tipo I) [Ehlers *et al.* 2008].

Hay pocos datos sistemáticos que muestran cómo toda propiedades del disco cambian con la edad; la fuerza de inclinación hacia adelante de las muestras de disco intervertebral, prueba fallo en la flexión y compresión combinadas [Adams *et al.* 1994]. Las propiedad reológica de disco intervertebral se ve afectada por los cambios estructurales de carga inducida y

la degeneración del disco, que incluyen el nivel de hidratación del disco y porosidad de la matriz intersticial; estudio en el cual se realiza compresión a los discos en maquina cacara, proporcionando resultados cualitativos relacionado a la hidratación de las piezas analizadas [Kuo & Jaw, 2010].

Con la edad el núcleo pierde su carácter de tipo gel, debido a la degradación, la deshidratación y encogimiento, esto provoca un aumento en la concentración de carga en el espacio anular, dando lugar a su degeneración [Bao et al. 1996]. Durante años, se ha hecho un gran esfuerzo para desarrollar una adecuados sustitutos de discos artificiales para reemplazar el disco degenerado [Bao et al. 1996, Traynelis, 2002; Fernstrom, 1966], sin embargo, las prótesis DIV en el mercado hasta la fecha se han reportado con frecuencia a someterse fracaso, debido al desgaste y degeneración de los materiales o falta de correspondencia entre propiedades mecánicas del dispositivo y el tejido natural [Shikinami et al. 2004].

La naturaleza multifásica del disco intervertebral (DIV) desempeña un papel clave en su comportamiento mecánico dependiente del tiempo y espacialmente heterogénea; a pesar de hidratación de los tejidos es ampliamente aceptado como un mecanismo que gobierna la mecánica de los tejidos blandos, su contribución a la DIV no se ha explorado completamente; las deformaciones de compresión son esencialmente independientes de tratamiento de pretensado [Hwang et al. 2011].

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Se sabe que el disco intervertebral cumple la función de absorción del impacto ejercido sobre la columna vertebral, así como mantener la movilidad y flexibilidad de la misma. Sin embargo, las fracturas de los cuerpos vertebrales presentan características sobre todo en las causadas por la carga axial, en donde se sospecha que el disco intervertebral sea el causante de la fractura y no el cuerpo vertebral vecino.

Para ser el disco intervertebral el causante de las fracturas de los cuerpos vertebrales, debe cumplir con ciertas características que lo hagan más fuerte o resistente que los cuerpos vertebrales. La porción del núcleo pulposo es de predominancia gelatinoso debe estudiarse desde el punto de vista de la mecánica de fluidos y reología, para resolver y comprender el comportamiento de ese tejido y su función.

Con base a los postulados anteriores se ha planteado la siguiente pregunta de investigación:

¿Es el núcleo pulposo del disco intervertebral un fluido No Newtoniano dilatante-reopético a temperatura corporal normal de 36.5 °C?



## **JUSTIFICACIÓN**

En los Estados Unidos de Norteamérica, cada año se presentan más de 150,000 casos de fracturas vertebrales; de estas, la mayoría son toracolumbares [Villarreal, 2010]. El 50 % de las fracturas vertebrales se asocian a actividades de la vida diaria que sobrecargan las vértebras por encima de su resistencia a la fractura y constituyen la complicación más frecuente de la osteoporosis [Díaz et al. 2007].

Al obtener mediciones cuantitativas se llegara a una clasificación reológica del fluido, con estos resultados reológicos se amplía el concepto y la función del disco intervertebral. Los resultados reológicos cuantitativos pueden servir para imitar el núcleo pulposo por medio de un material sintético que cumpla con características similares.

Incidencia anual de fracturas de columna se estima en 64 de cada 100.000 habitantes por año; lesiones medulares asociadas está en torno a 4 de cada 100.000 habitantes [Pérez et al. 2003]. La población afectada con mayor frecuencia es la de los varones de entre 15 y 25 años, y las causas más importantes son los accidentes de circulación (40-55%), las caídas desde altura (30-65%), los accidentes laborales (10-20%) y los traumatismos deportivos (6-13%) [Pérez et al. 2003]

No existen trabajos previos que proporcionen datos reológicos de los módulos elásticos y viscosos en modelos cadavéricos humanos. Las publicaciones sobre simulación de tejidos carecen los datos cuantitativos y ecuaciones que permitan hacer una simulación valida [Ehlers & Karajan, 2008]. Las simulaciones se usan principalmente en ingeniería con el fin de evitar las pruebas de ensayo y error, ya que estos los software especiales para dichas simulaciones son capaces de efectuar animaciones y predecir si un proyecto es mecánicamente viable; así pues es la medicina también se vienen utilizando, sin embargo para dar una mayor realidad sobre un tejido que se esté trabajando, debe tenerse las características de los materiales ya programados en el software, lo que abunda en los trabajos de simulación del disco intervertebral, son datos de los

materiales limitados al software, en donde también carecen de características para simular sustancias viscosas y más aún, los compuestos viscoelásticos.

Es posible la realización del proyecto, ya que se cuenta con el acceso a muestras de disco intervertebral en colaboración con el servicio de patología del Hospital General de Sonora. Hay colaboración y apoyo con el Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos (D.I.P.A), así también con el Departamento de en la Universidad de Sonora

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL:**

- Describir las propiedades reológicas del núcleo púlposo en las fracturas de columna

### **OBJETIVOS PARTICULARES:**

- Comparar el cambio de el módulo viscoso y elástico de NP por grupo de edad
- Comparación en la variación del Yield point y Flow Point por edad de espécimen
- Determinar si las muestras recuperan sus propiedades reológicas posterior a reometría de módulo complejo dependiente de frecuencia.
- Definir concepto reológico del núcleo pulposo.

## **HIPÓTESIS CIENTÍFICA**

El núcleo pulposo del disco intervertebral es un fluido No Newtoniano dilatante-reopéctico a temperatura corporal normal de 36.5 °C

## MATERIALES Y MÉTODO

### 2.1.1 Diseño del estudio

- Tipo de estudio: Experimental, biomecánico, descriptivo, explicativo
- Tipo de muestreo: No aleatorizado, No probabilístico. Se asignan cuatro pacientes y un puerco joven.
- Población: Muestras de disco intervertebral obtenidas de autopsias del servicio de patología del HGE del Estado de Sonora y un puerco joven obtenido en rastro local
- Periodo de estudio: marzo 2016 a junio del 2016.

**Cuadro 1. Diseño del estudio**

<b>Tipo de estudio</b>	<b>Descripción</b>
Experimental	Estudio donde el investigador manipula y controla el factor de estudio. Existe por lo general, un grupo de análisis control y uno o más grupos experimentales
Biomecánico	Tipo de estudio experimental donde los sujetos son pacientes ya sea vivos o modelos cadavéricos y se evalúa uno o más tratamientos para el control de un padecimiento
Analítico	Estudio donde se pueden establecer relaciones entre variables
<b>Especificaciones Generales</b>	
Método de observación	Transversal
Temporalidad	Prospectivo
Diseño de estudio	Asignación no probabilística, sin aleatorización de 5 grupo de muestras de diferente décadas de la vida
Tipo de análisis empleado	Mecánico
Alcance del estudio	Exploratorio, descriptivo y explicativo

## *2.1.2 Población*

Se realizó el protocolo en modelo cadavéricos en cooperación con el servicio de patología del Hospital General del Estado “Ernesto Ramos Bours”, obteniendo en las necropsias realizadas las muestras de los discos intervertebrales lumbares, además se incluye en el proyecto muestras de disco intervertebral lumbar de un puerco joven, obtenido en un rastro local.

### *2.1.3 Periodo de estudio*

- Periodo comprendido de marzo a junio del 20016

### *2.1.4 Tamaño de la muestra*

- Muestra de discos intervertebrales de columna lumbar de 1 puerco de 4 meses de edad.
- Muestra de disco intervertebral de columna lumbar de 4 pacientes de diferentes décadas de la vida obtenidos

## *2.2. Criterios de selección*

### *2.2.1 Criterios de inclusión*

- Pacientes con necropsia autorizada las primeras 24 hrs de la defunción
- Discos intervertebrales con unidad funcional sin alteraciones degenerativas
- Discos intervertebrales obtenidos en pieza completa

### *2.2.2 Criterios de exclusión*

- Pacientes con necropsia no autorizada las primeras 24 hrs de la defunción
- Discos intervertebrales biomecánicamente disfuncionales (Cubiertos por osteofitos, tomados por tumores o infección)

- Núcleo pulposo roto o destrozado en el momento de la extracción

#### *2.2.4 Criterios de eliminación*

- Destrucción de la muestra al momento de preparación del experimento
- Deshidratación del espécimen durante la prueba o durante el almacenamiento
- Muestra insuficiente para cubrir la geometría del reómetro

#### *2.3 Aspectos éticos de la investigación*

La investigación médica con cadáveres deberá ser conforme a normas establecidas en la legislación mexicana. En el presente proyecto se ha seguido la normatividad conforme a la fracción I del artículo 89 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos, y con fundamento en los artículos 1o.; 2o.; 3o., fracción XXVI; 4o.; 7o.; 13 "A", fracciones I, II y X; 14; 18; 23; 24, fracción I; 27, fracción III; 32; 33; 45; 47; 100; 313 a 350 y demás relativos de la Ley General de Salud.

El reglamento de la Ley General de Salud en materia de control sanitario de la disposición de órganos, tejidos y cadáveres de seres humanos presenta dos capítulos referentes a la disposición y la investigación con cadáveres. El capítulo IV aborda la disposición de órganos, tejidos y sus derivados; productos y cadáveres de seres humanos, incluyendo los embriones y fetos. Mientras que el capítulo V incluye la normatividad para el estudio e investigación relacionados con la disposición de órganos, tejidos y sus derivados, productos y cadáveres de seres humanos.

La investigación se ha planeado conforme a lo especificado en el capítulo IV artículos 59 y 62 y capítulo V artículos 79 y 88 de la Ley General de Salud. Las especificaciones legales para cada artículo se presentan a continuación:

## CAPÍTULO IV

### De la Disposición de Cadáveres

ARTÍCULO 59.- La disposición de cadáveres para efectos de investigación o docencia sólo podrá hacerse previa la certificación de la pérdida de la vida de acuerdo con lo prescrito en el artículo 317 de la Ley.

ARTÍCULO 62.- Para la realización de cualquier acto de disposición de cadáveres deberá contarse previamente con el certificado de defunción, que será expedido una vez comprobado el fallecimiento y determinadas sus causas por profesionales de la medicina o por personas autorizadas por la autoridad sanitaria competente.

## CAPÍTULO V

### De la Investigación y Docencia

ARTÍCULO 79.- Para la utilización de cadáveres o parte de ellos, de personas conocidas con fines de investigación o docencia, se requiere permiso del disponente originario otorgado ante la fe del notario público o en documento privado, expedido ante dos testigos idóneos.

ARTÍCULO 88.- Las instituciones educativas serán responsables del uso adecuado y ético de los cadáveres. Sólo se podrá entregar anualmente y como máximo, el número de cadáveres que expresamente les haya autorizado la Secretaría, y para el empleo de un número mayor, la institución respectiva deberá presentar solicitud en la que exprese los motivos que los justifiquen.

Además, la investigación cuenta con la aprobación del comité de bioética del Hospital General del Estado de Sonora y la División de Enseñanza e Investigación.

#### *2.3.1 Recursos empleados*

##### *Recursos humanos:*

- Médico residente del cuarto año de Traumatología y Ortopedia.

- Médicos especialistas de Traumatología y Ortopedia.
- Doctores en Ciencias del área de Físico-matemático y polímeros y alimentos de la Universidad de Sonora.
- Director médico de tesis.
- Director metodológico y estadístico de tesis
- Ingenieros especialistas en Reología
- Personal del departamento de patología del hospital sede.

*Recursos físicos:*

Para la realización del proyecto se requirió material quirúrgico, material y herramientas de papelería, material de limpieza y herramientas del área de Reología:

- Material quirúrgico, entre los que se encuentran batas, cubrebocas, guantes, lentes protectores, pijamas quirúrgicas, hojas de bisturí, vasos colectores de muestras, gasas.
- Estuche de disección.
- Reómetro MCR 302 con módulo de platos paralelos y cilindro concéntrico.
- Computadora con aplicación de reometría instalada.
- Refrigerador para el resguardo de muestras.

*Recursos financieros:*

Las muestras biológicas se obtuvieron de autopsias realizadas por el departamento de Patología en el Hospital General del Estado de Sonora, con apoyo de material quirúrgico consumible del mismo hospital (gorros, cubrebocas, gorros, batas, bisturí). Reómetro MCR 302 contando con módulo de platos paralelos y cilindro concéntrico proporcionado por el Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos (D.I.P.A.) en la Universidad de Sonora.

## 2.4 Definición de las variables según la metodología

### *Variables dependientes:*

- *Viscosidad dinámica:* la relación existente entre el esfuerzo cortante y el gradiente de velocidad ( $\mu$  ó  $\eta$ ).
- *Viscosidad compleja:* respuesta ante esfuerzos de corte oscilatorio ( $\eta^*$ )
- *Elasticidad:* Propiedad mecánica de ciertos materiales de sufrir deformaciones reversibles cuando se encuentran sujetos a la acción de fuerzas exteriores y de recuperar la forma original si estas fuerzas exteriores se eliminan.
- *Deformación de corte:* Rango de torsión en porcentaje donde se mantiene constante las propiedades de la muestra ( $\gamma$ ).
- *Geometría de platos paralelos:* Módulo del reómetro donde se coloca la muestra de prueba.
- *GAP:* Separación entre los platos.
- *Esfuerzo de corte:* el movimiento entre planos es siempre referido como "corte" o "cizalla", en inglés "shear stress" ( $\tau$ ).
- *Módulo de corte:* Es la relación entre el esfuerzo de corte y la deformación de corte, que se lleva a cabo en un rango de deformación elástico reversible, en inglés "Shear modulus" (G).
- *Temperatura:* Magnitud de calor medible.
- *Humedad:* Cantidad de agua o vapor de la misma en la muestra.

### *Variables independientes:*

- *Espécimen*: Muestra, modelo o ejemplar
- *Edad de los especímenes*: Tiempo de vida del espécimen al momento de tomada la muestra.

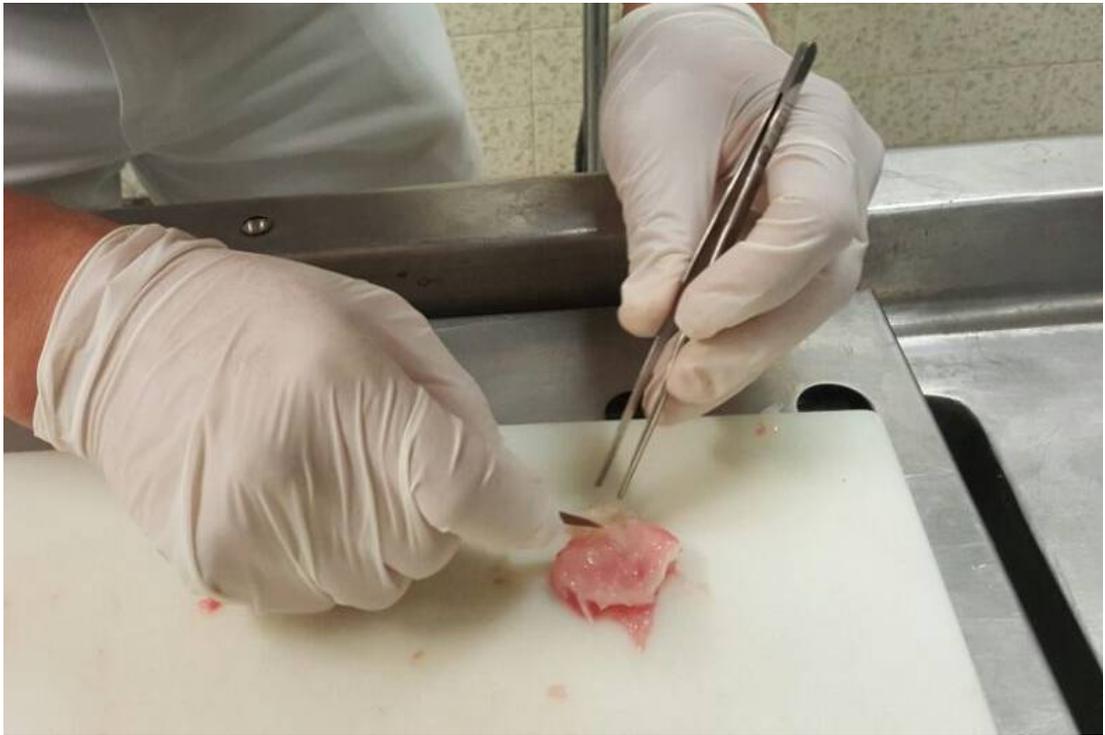
**Cuadro 2. Definición de variables**

<b>Variable</b>	<b>Tipo de variable</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Escala de medición</b>	<b>Indicador</b>
Espécimen	Independiente	Muestra, modelo o ejemplar	Cualitativa nominal	Especie
Edad de los especímenes	Independiente	Tiempo de vida del espécimen	Cuantitativa ordinal	Años, meses
Viscosidad dinámica	Dependiente	Relación existente entre el esfuerzo cortante y el gradiente de velocidad	Cuantitativa continua	Pa·s
Viscosidad compleja	Dependiente	Respuesta ante esfuerzos de corte oscilatorio	Cuantitativa continua	Pa·s
Elasticidad	Dependiente	Propiedad de los materiales de deformarse y recuperar su forma original	Cuantitativa continua	Pa
Deformación de corte	Dependiente	Rango de torsión en porcentaje donde se mantiene constante las propiedades de la muestra ( $\gamma$ )	Cuantitativa continua	%
Geometría de platos paralelos	Dependiente	Módulo del reómetro donde se coloca la muestra de prueba	Cualitativa nominal	Geometría modular disponible en Reómetro de acuerdo a característica y cantidad de muestra
GAP	Dependiente	Separación entre los platos	Cuantitativa continua	mm
Esfuerzo de corte	Dependiente	Movimiento entre planos es siempre referido como "corte" o "cizalla", en inglés "shear" ( $\tau$ )	Cuantitativa continua	Pa
Módulo de corte	Dependiente	Es la relación entre el esfuerzo de corte y la deformación de corte, que se lleva a cabo en un rango de deformación elástico reversible, en inglés "Shear modulus" (G)	Cuantitativa continua	Pa
Temperatura	Dependiente	Magnitud de calor medible	Cuantitativa continua	°C

Humedad	Dependiente	Cantidad de agua o vapor de la misma en la muestra	Cualitativa nominal	Inspección
---------	-------------	--	---------------------	------------

### *2.5 Descripción general del estudio*

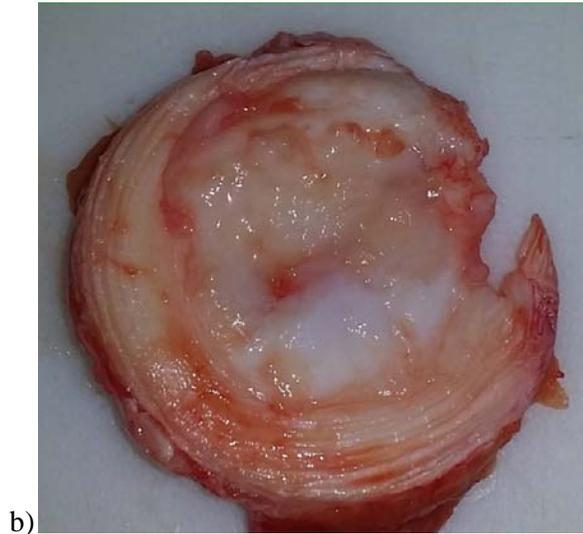
Se tomaron las muestras de disco intervertebral lumbar de las necropsias realizadas por el servicio de patología del Hospital General de Sonora, en colaboración con ese departamento, de manera que se cumpliesen los criterios de inclusión de las muestras, así mismo se agregó una muestra de un puerco joven obtenido de una carnicería local. La edad de los especímenes consta 291, 44, 60 y 77 años de edad, el puerco constaba de 4 meses de edad; el único espécimen hembra es la de 21 años; se incluye además dos muestras de líquido sinovial para reometrías preliminares, estas muestras fueron tomadas de la paciente de 21 años del paciente de 77 años.

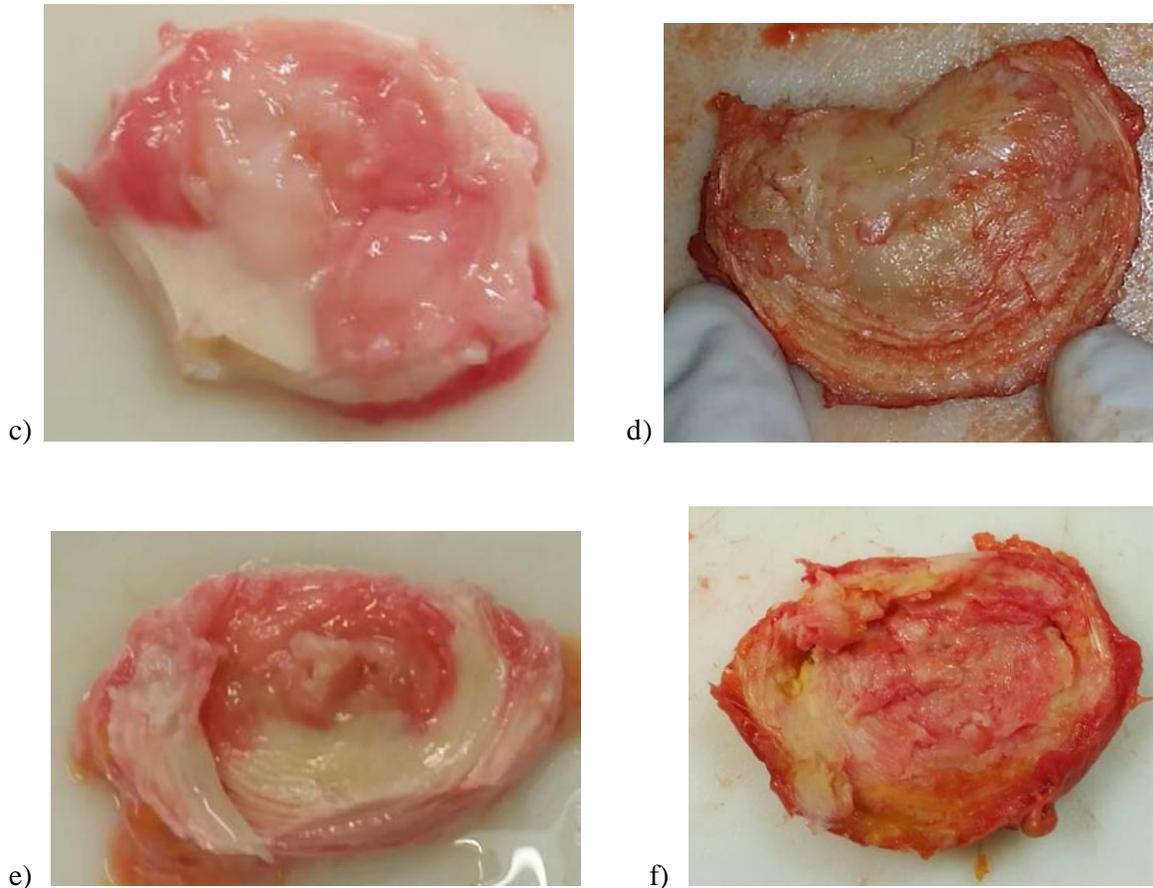


**Figura 2.** Extracción del núcleo pulposo del anillo fibroso, se realiza con herramienta de disección.

A los discos intervertebrales de les retiran el núcleo pulposo; las características de las muestras de núcleo pulposo del puerco joven es un gel suave, blando y pegajoso, lo mismo para la muestra de la paciente de 21 años, pero con un poco más consistente y mas pegajoso al tacto; las muestras de los pacientes de 44, 60 y 77 años presentan un cambio importante con relación a los dos primeros mencionados, la consistencia en estos núcleos es más uniforme, una gelatina más solida la cual ya no es pegajosa al tacto; en la figura 3 se muestra foto de cada una de las muestras. Las muestras más jóvenes figuran un líquido, mientras las muestras de los pacientes mayores asemejan más a un sólido.

Las muestras de líquido sinovial también presentan un cambio de sus características de acuerdo a edad, la muestra de paciente joven se encuentra consistente, viscoso, filante a la vista y al tacto; la muestra de paciente mayor también cuenta con dichas características, pero en menor medida (menos viscoso, consististe y menos filante), otra diferencia a la vista es que la muestra joven tiene un color amarillo paja, mientras que la muestra de adulto mayor se encuentra de color transparente.





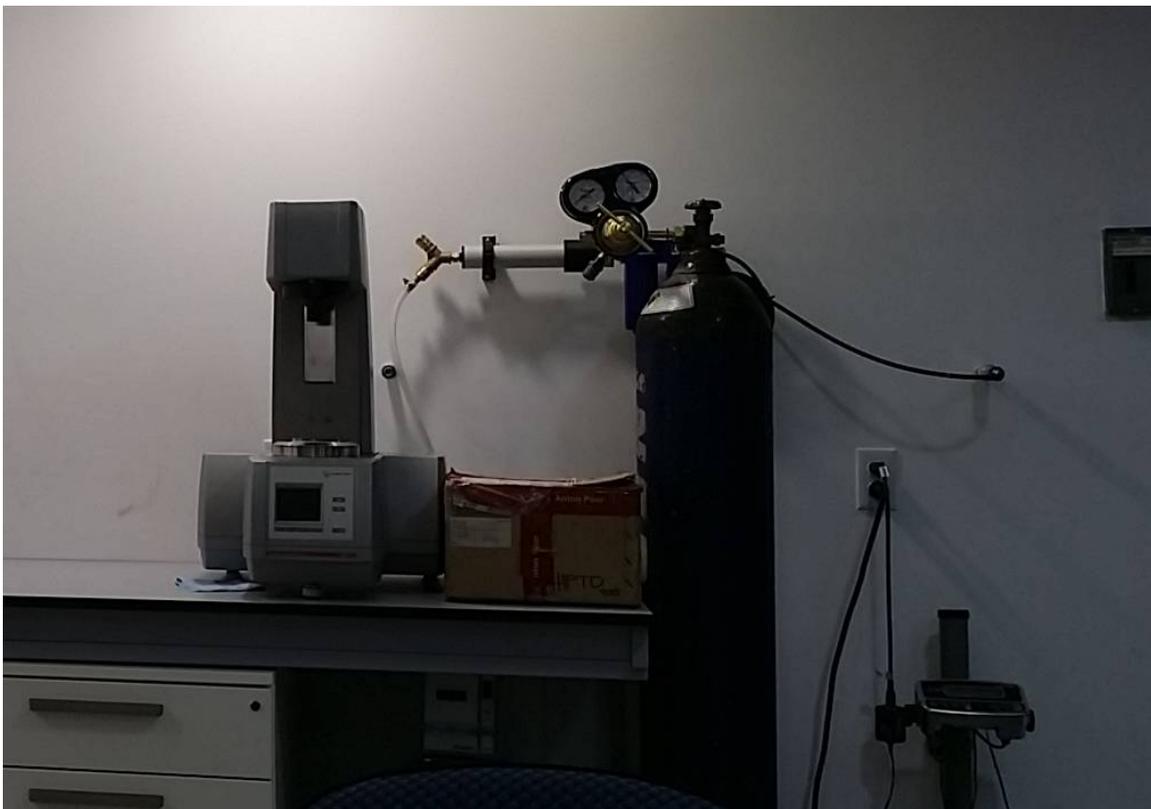
**Figura 3.** Fotografías en donde se muestra uno de los discos lumbares de cada espécimen. a) Especimen porcino, b) disco de paciente de 21 años, c) núcleo pulposo del disco que se muestra en b), d) muestra de paciente de 44 años, e) disco intervertebral de paciente con 60 años y f) disco de paciente con 77 años. Obsérvese la maduración de los discos en el curso del tiempo.

Las muestras fueron resguardadas en contenedor hermético con el fin de evitar la deshidratación del espécimen a una temperatura de 0°, con el fin de mantener el tejido en conservación sin r a la congelación, evitando así uno de los métodos para la formación de geles (Saéz et al. 2003).

Se realizan pruebas de ensayo con líquido sinovial de dos tipos de muestras diferentes, un de paciente de la tercera década de la vida y la otra de paciente de la séptima década de la vida, ambas obtenidas de las mismas necropsias. Se utilizó Reómetro Anton-Para MCR 302,

utilizando el módulo de platos paralelos; en la figura 4 se muestra fotografía de la instalación del reómetro con sus sistema de aire y sistema de control de temperatura.

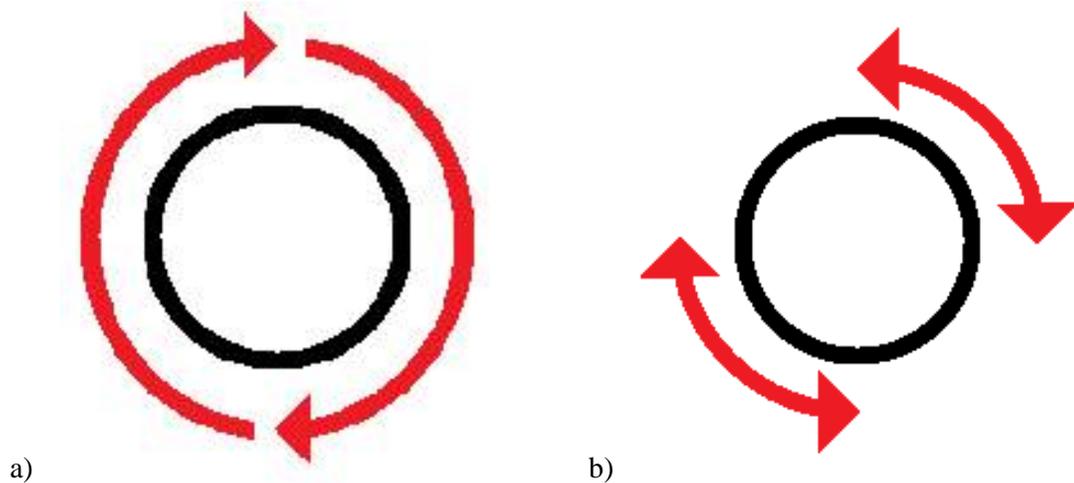
Se ajusta temperatura del reómetro a  $36.5^{\circ}$ , se coloca muestra del paciente más joven sobre la geometría inferior evitando burbujas, se ajusta GAP a 5 mm, de manera que la geometría quede completamente cubierta en ambos platos, corren pruebas por triplicado para viscosidad dinámica (Fig. muestra el sentido de la rotación de esta prueba) a frecuencia desde 5 Hz hasta 200 Hz. La prueba fue reproducible para la muestra de paciente más joven; los datos se capturan datos en Software Rheoplus versión académica.



**Figura 4.** Reómetro utilizado en las pruebas, conectado al sistema neumático para el funcionamiento del brazo robótico, bajo la mesa se encuentra el módulo para control de temperatura.

Mismo procedimiento se realizó para la muestra de líquido sinovial de paciente de la séptima década de la vida, sin embargo la prueba no fue reproducible para un GAP de 5 mm, se

probó disminuyendo el GAP a .25 mm, en donde se obtuvo prueba reproducible; en mismas condiciones de frecuencia y temperatura que en la prueba anteriormente mencionada. Se aclara que las pruebas para medir la viscosidad dinámica es destructiva para las moléculas de los compuestos evaluados, por lo cual es necesario el recambio de muestra en cada prueba, a diferencia de la reometría para viscosidad compleja, en donde se puede conservar la misma muestra para realizar varias pruebas con un periodo de reposo, en el cuál se evalúa la recuperación de las propiedades reológicas de la muestra.



**Figura 5.** a) Se muestra el sentido del cizallamiento en reometría de viscosidad dinámica, en b) se muestra el sentido del cizallamiento en reometría compleja.

A las muestras de líquido sinovial también se le realizó reometría para módulo complejo, la cual no resultó reproducible para este tipo de prueba. En la prueba de viscosidad compleja o del módulo complejo ( $G^*$ ), el reómetro realiza un movimiento oscilatorio similar el de una lavadora con aspas (en la figura 5 se muestra el sentido para la prueba de viscosidad dinámica y viscosidad compleja ), este movimiento oscilatorio se le debe establecer un ángulo de rotación o deformación de corte ( $\gamma$ ), que se realiza de inicio con una prueba para definir el límite de amplitud o meseta viscoelástica, donde se elige el ángulo de deformación para la realización de

las pruebas del material a estudiar; dicho ángulo se toma de la meseta viscoelástica donde involucre a ambos módulos (elástico y viscoso), y debe ser el mismo porcentaje de deformación para todas las muestras.

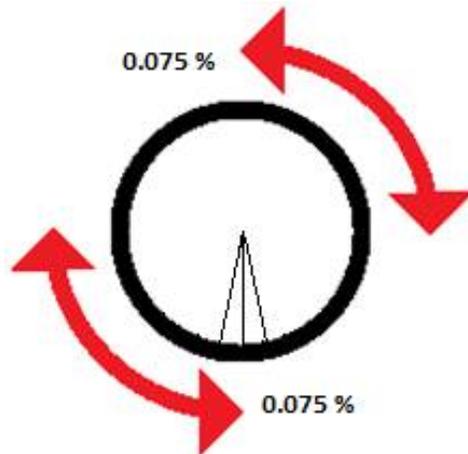
La reometría en módulo complejo no fue reproducible en el líquido sinovial, esto debido a que carece de características elásticas y de predominancia solo las viscosas. Los datos obtenidos de la reometría de líquido sinovial son capturados en Software RheoPlus versión académica.

Al terminar la exploración de reometrías preliminares, se inician reometría de los núcleos pulposos, iniciando con muestra del puerco joven, la cual se coloca sobre geometría de los platos paralelos, evitando las burbujas, previo a colocar la muestra se ajusta GAP a 1 mm así también la temperatura a 36.5 °C, la muestra bien distribuida en la geometría de los platos. De primera instancia se recurre a realizar prueba viscosidad dinámica, la cual resulta no reproducible, ya que la muestra es expulsada por la inercia del dispositivo; se intenta lo mismo en todas las muestras de disco de las diferentes edades, todas son expulsadas.

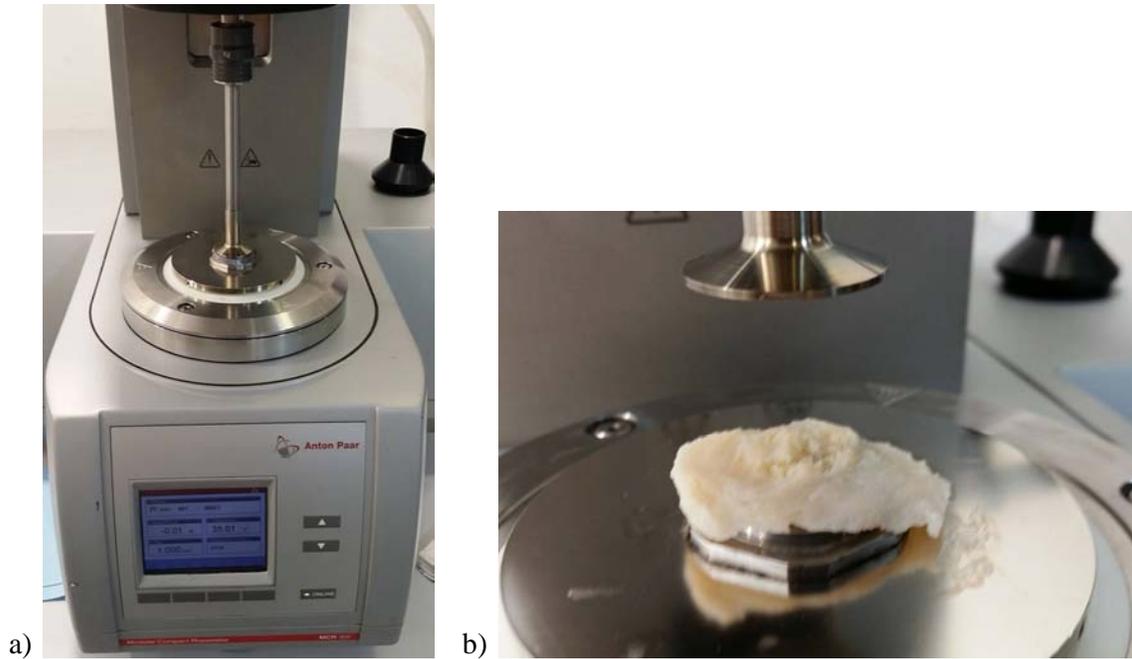
Por motivo anterior se descarta realizar reometría dinámica para los núcleos pulposos, se inicia con la muestra del puerco joven (continuando con muestra de 21 años, 44, 60 y finalmente con la de 77 años) para reometría en módulo complejo ( $G^*$ ), en donde para iniciar es necesario realizar una prueba preliminar para definir la deformación de corte ( $\gamma$ ) (Figura 6 ), la cual debe ser la misma para todas las pruebas definitivas para todas las muestras, esto con el fin de poder realizar pruebas de  $G^*$  dependiente de frecuencia. Se calibra GAP en el módulo de platos paralelos a 1 mm, previamente se corta una rebanada a 1 mm del núcleo pulposo para las muestras de 44, 60 y 77 años (las muestra de 21 años y del puerco son prácticamente un gel muy blando y manejable), sin embargo resulta una porción muy delgada ya que aparecen defectos estructurales de la muestra manteniendo espacios vacíos en la colocación sobre los platos paralelos y al acomodarlos sobre el GAP los discos son expulsados por la presión del dispositivo,

algunos son fragmentados, por lo cual se corta a 2 mm y toleran un GAP de 1.676 mm (las muestras de la paciente de 21 años y del puerco joven toleran muy bien un GAP de 1 mm).

En  $G^*$  se obtiene el esfuerzo de los módulos elástico y viscoso medido en pascales en conjunto con el resultado de viscosidad compleja (Figura 1b); primeramente se realiza la prueba de amplitud para definir el grado de deformación que se le darán a las muestras cuyo valor servirá para realizar posteriormente las reometrías dependiente del tiempo de manera de evitar la destrucción de la muestra. Se establece el valor asignado a  $\gamma = 0.075\%$ , el cual se toma dentro del rango de la meseta viscoelástica de cada una de las muestras, debiendo ser el mismo valor de dicha variable para todas las muestras (Fig. movimiento oscilatorio, izquierda a derecha).



**Figura 6.** Deformación de corte ( $\gamma$ ) obtenido de la prueba dependiente del grado de deformación sobre esfuerzo, para posteriormente realizar reometría en módulo complejo ( $G^*$ ) dependiente de frecuencia (La porción a cada lado del radio trazado en el círculo es solo esquemático, en realidad la porción es mucho más pequeña, equivalente a  $0.27^\circ$ , si se trazara el valor real en el dibujo quedarían dos líneas encimadas)



**Figura 7.** a) platos paralelos conteniendo muestra de puerco joven en el momento de calibración de temperatura, se aprecia la características de gel que se derrama; b) muestra de núcleo pulposo maduro también contenida entre los platos paralelos en el momento de aproximación del plato superior. Se aprecia la diferencia de consistencia de los núcleos.

El barrido de amplitud generalmente tiene por objeto describir el comportamiento de la deformación de las muestras en el intervalo de deformación no destructiva y en determinar el límite superior de este intervalo. También es interesante para caracterizar el comportamiento que se produce si se supera este límite superior con el aumento de la deformación, cuando la estructura interior se ablanda, comienza a fluir, o se rompe de una manera frágil; estas pruebas pueden llevarse a cabo en todos los materiales industriales [Mezger, 2014].

Posterior a realizar barrido de amplitud viscoelástica para cada muestra y establecer el parámetro de deformación, se continúa con las pruebas dependientes de frecuencia, con GAP para la muestra de 21 años y de puerco joven de 1 mm y para muestra de 44, 60 y 77 años GAP de 1.676 mm, temperatura de 36.5 °C, la frecuencia angular se establece en 6.28 – 62.8 ( $\omega = \text{rad/s}$ ), misma la cual es usada para todas las reometrías.

Las pruebas se realizan por triplicado, dando un periodo de descanso de 3 minutos entre cada prueba para cada muestra; un factor muy importante y difícil de controlar es la deshidratación de las muestras durante las pruebas ya que se trabaja a una temperatura cálida que se propicia la liberación de agua en forma de vapor (36.5 °C), las más afectadas fueron las muestras jóvenes (la de 21 años y la del puerco de 4 meses), logrando solo duplicado de la prueba, por lo que se opta por colocarse trampa de solventes (accesorio que mantiene humedad sobre el área de trabajo que se muestra en la figura 8), logrando de esta manera prueba por triplicado; la trampa de solventes es diseñada para trabajar a un GAP de 1 mm, no fue posible utilizarla para las muestras maduras (44, 60 y 77 años).

El barrido de frecuencia sirve para describir el comportamiento dependiente del tiempo de una muestra en el rango de deformación no destructiva; las frecuencias altas se utilizan para simular el movimiento rápido en escalas de tiempo cortas, mientras que las bajas frecuencias simulan cámara lenta a escalas de tiempo largas o en reposo (en figura 7, se observa el reómetro conteniendo una muestra entre la geometría de los platos paralelos en a) y en b) se encuentra la muestra liberada de la presión de los platos); en la práctica, barridos de frecuencia son métodos para recopilar información sobre el comportamiento y la estructura interna de polímero así como en la estabilidad a largo de las dispersiones probadas [Mezger, 2014].



**Figura 8.** Módulo de prueba del reómetro con platos paralelos al centro y trampa de solventes sobre estos, las perillas negras pertenece a esta trampa de solventes, en el cristal se puede observar el vapor en el espacio de trabajo.

Al iniciar pruebas con cada muestra se corre un barrido de amplitud, seguida de 3 minutos de descanso para iniciar pruebas por triplicado de módulo complejo dependiente de frecuencia también con 3 minutos de descanso entre cada repetición; al término del triplicado se dan nuevamente 3 minutos de descanso y se corre de nuevo un barrido de amplitud en todas las muestras, pero no a la muestra del puerco joven, ya que esta se encontraba considerablemente deshidratada para ese entonces. El objetivo de repetir un barrido de amplitud al final de reometría de frecuencia es valorar si las muestras recuperan propiedades reológicas posterior a ser sometidas al estrés.

## 2.7 Análisis de datos

Se obtuvieron los datos a través del software Rheoplus para el Reómetro Anton-Paar MCR 302, los cuales se pasaron a Excel para su resguardo, se pasan posteriormente a OringPro 8 para Windows, en donde se procesan datos y se realizan operaciones de cálculo lineal y logarítmico con manipulación de variables para ejecución de gráficas y análisis de las mismas.

Modelos matemáticos para conceptos y variables reológicas.

Esfuerzo de corte (Shear stress), se muestra esquema en figura 9:

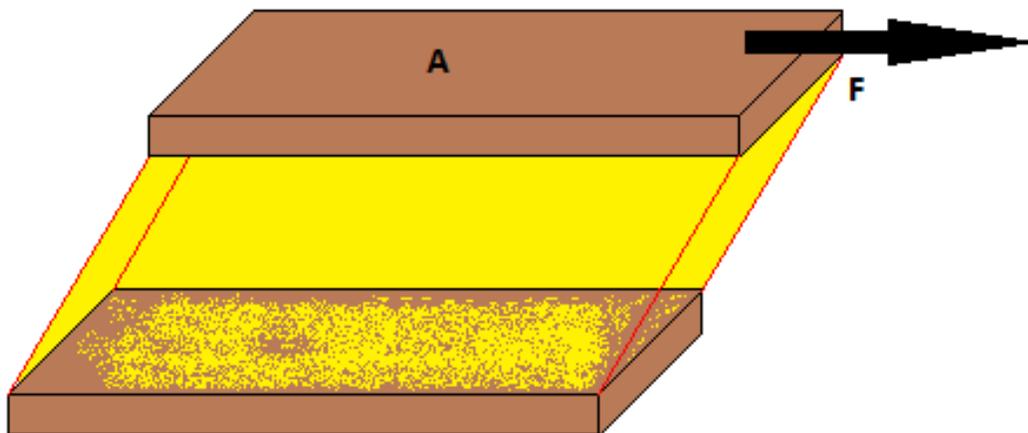
$$\tau = \frac{F}{A}$$

Donde:

$\tau$  = Es esfuerzo de cizalla N/m<sup>2</sup> = Pa (pascal)

F = Fuerza de corte (en Newton)

A = Zona de Cizalla



**Figura 9:** Modelo de dos placas utiliza tensión de cizallamiento utilizando parámetros de la fuerza de corte y el área de cizallamiento de la placa A súper móvil.

El esfuerzo de corte se calcula por el software: requiere el registro de la fuerza cortante del reómetro a través del par de torsión en cada punto de medición. El torque o la velocidad de rotación se determinan a través de la fuerza de resistencia del flujo de la muestra.

Velocidad de cizallamiento (Shear rate), se muestra en figura 10:

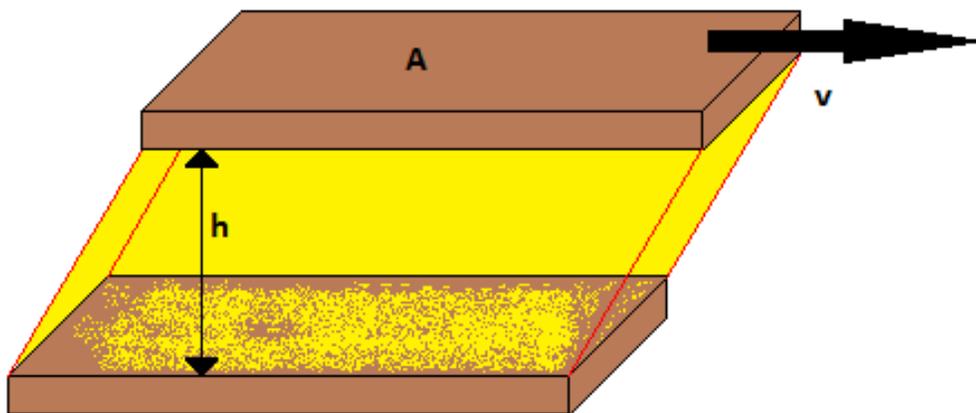
Donde:

$$\dot{\gamma} = \frac{v}{h}$$

$\dot{\gamma}$  = Velocidad de cizallamiento (1/s)

v = Velocidad (m/s)

h = GAP (Separación entre los platos paralelos)

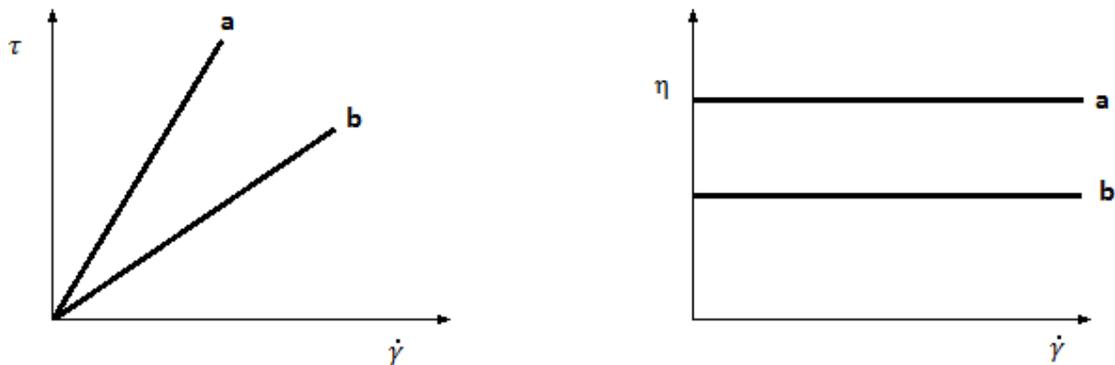


**Figura 10:** Modelo de dos placas utilizando para definir la velocidad de cizallamiento usando parámetros de velocidad (v) de la placa superior móvil y la distancia (h), entre las placas.

La velocidad de cizallamiento se calcula por el software. Se requiere que el reómetro grave la velocidad de la velocidad de rotación en cada punto de medición. La velocidad de rotación está presente o la fuerza de corte es un valor preestablecido, se determina la velocidad de flujo de la muestra; El tamaño de la abertura (GAP) de esfuerzo cortante también es conocido por el sistema de medición utilizado. Los siguientes términos a veces se utilizan como sinónimos de velocidad de cizallamiento: velocidad de deformación, gradiente de cizallamiento.

El comportamiento del fluido puede ser presentado en dos tipos de diagramas (figura 11):

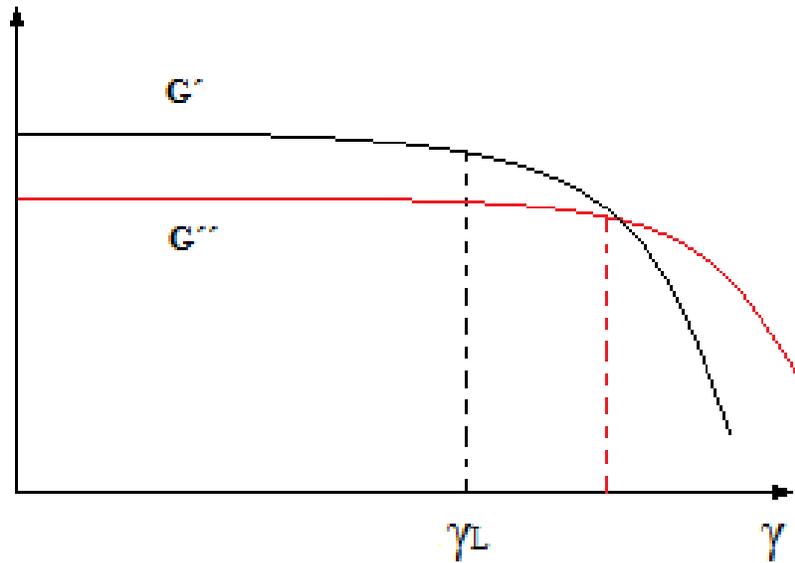
- Curva de flujo con esfuerzo cortante ( $\tau$ ) y Velocidad de cizallamiento ( $\dot{\gamma}$ ), por lo general el segundo se grafica en el eje de  $\chi$ .
- Las curvas de viscosidad es viscosidad ( $\eta$ ) sobre velocidad de cizallamiento ( $\dot{\gamma}$ ) (ó estrés de cizalla  $\tau$ ), usualmente el segundo se grafica en el eje de las  $\chi$  aplicando la ley de viscosidad, cada punto de medición se calcula como sigue:  $\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}}$



**Figura 11.** Curvas de flujo (izquierda) y curvas de viscosidad (derecha) es de dos fluidos viscosos idealmente. La viscosidad correspondiente permanece constante en todo el rango de velocidad de cizallamiento, características de los fluidos newtonianos (viscoso ideal es sinónimo).

La prueba de cizalladura oscilatoria para el módulo complejo de elasticidad  $G^* = \tau_A / \gamma_A$ , con esfuerzo de corte  $\tau_A$  (en Pa) y tensión de amplitud  $\gamma_A$  (en %).  $G^*$  describe el comportamiento viscoelástico de una muestra y se llama cizalla de módulo complejo. El módulo de ganancia  $G'$  ( $G$  prima, en Pa) representa la porción elástica del comportamiento viscoelástico, en donde casi se describe el comportamiento del estado sólido de la muestra. El módulo de pérdida  $G''$  ( $G$  biprima, en Pa) caracteriza la porción viscosa del comportamiento.

Los resultados del límite de la región lineal viscoelástica (LVE) se presenta como diagrama de deformación (ó esfuerzo de corte) en el eje de las  $\chi$  y los módulos  $G'$  y  $G''$  en el eje de  $y$ , ambos es escala logarítmica ó lineal (Figura 12). La región de LVE indica el rango en el que la prueba puede llevarse a cabo sin destruir la estructura de la muestra. El valor de la región LVE, también llamado límite de linealidad, se determina en un programa de software de análisis de datos. La linealidad se calcula en primer lugar en términos de la deformación  $\gamma_L$  en porcentaje (%). El operador puede seleccionar el rango de tolerancia de la desviación para  $G'$ , alrededor del valor de la meseta o dejarle el análisis al software; el valor de  $\gamma$  para realizar las pruebas es tomado del rango lineal con la condición que el valor sea el mismo para ambos módulos.

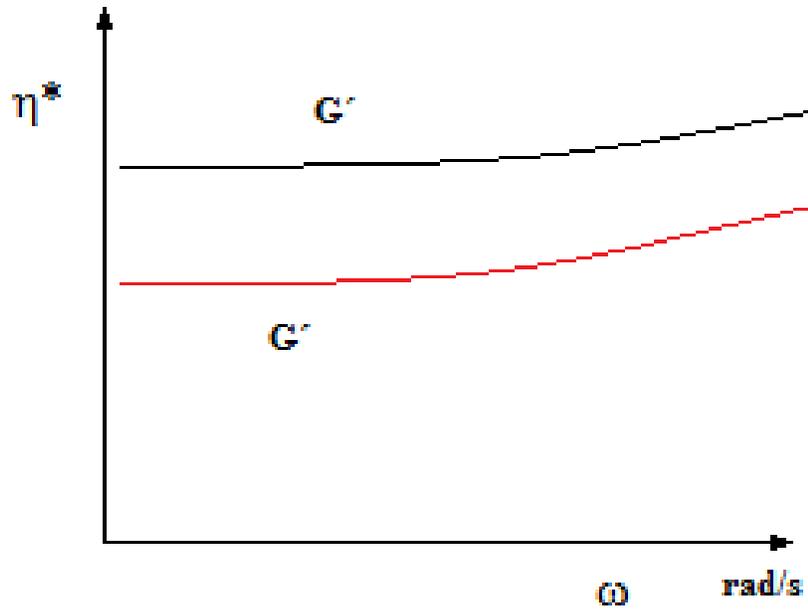


**Figura 12.** Se muestra rango de límite lineal viscoelástica dependiente de  $\gamma$  para módulo  $G'$  y  $G''$  marcando el límite con líneas punteadas. El valor de  $\gamma$  para realizar las pruebas es tomado del rango lineal con la condición que el valor sea el mismo para ambos módulos.

Al igual que en el barrido de amplitud, las frecuencias pueden ser expresadas en una de dos maneras: como frecuencia  $f$  en Hz (su desventaja es que no es una unidad SI) ó frecuencia angular  $\omega$  en rad/s. Es recomendable trabajar con frecuencias angulares porque hay unidades SI disponibles (figura 13). Para convertir entre frecuencias se tiene que cumplir la constante:

$$\omega \text{ (en rad/s)} = 2\pi \cdot f \text{ (en Hz)}$$

Los resultados de barridos de frecuencia por lo general se presentan en un diagrama con la frecuencia (angular) trazada en el eje X y módulo de almacenamiento  $G'$  y módulo de pérdida  $G''$  representa en el eje Y, con ambos ejes en una escala logarítmica ó lineal.



**Figura 13.** Esquema donde se grafica el módulo complejo dependiente de frecuencia.

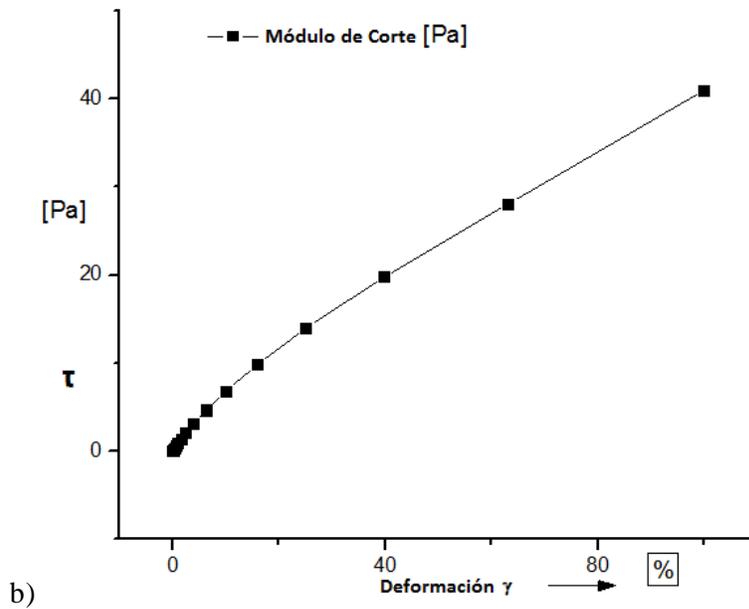
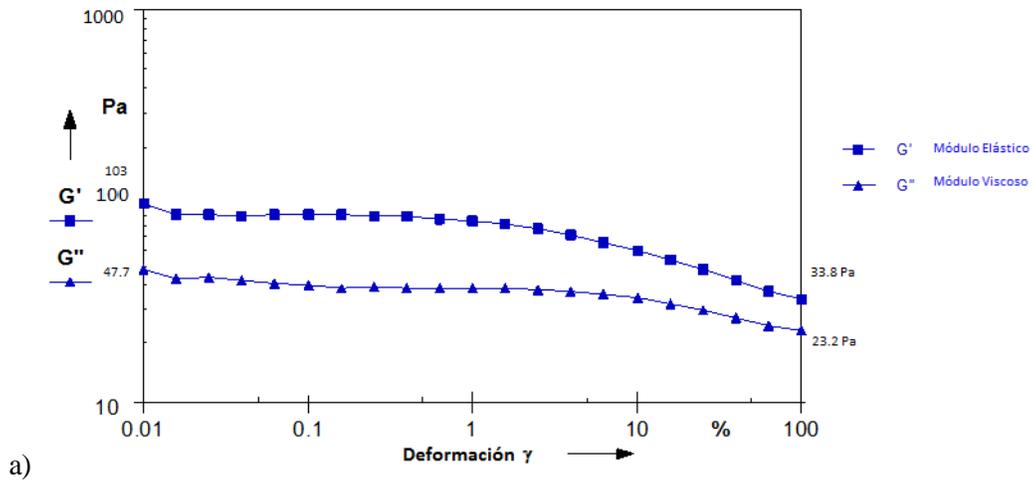
## RESULTADOS

### Análisis de barrido de amplitud:

La medición de los barridos de amplitud son captados por el software del reómetro, cuyos datos son procesados en OriginPro 8; son graficados los resultados del barrido de amplitud de cada muestra, previo al barrido dependiente de frecuencia y posterior a este nuevamente un barrido de amplitud; el periodo de descanso entre cada repetición de prueba consta de 3 minutos. El barrido de amplitud de la muestra porcina solo se logra hacer previo al barrido de frecuencia, ya que posterior a este, la muestra se encontraba deshidratada; la razón de repetir el barrido de amplitud posterior a los barridos de frecuencia, es valorar la recuperación de las propiedades reológicas de la muestra, además el punto de fluencia (yield-point) y el punto de flujo (flow-point).

El punto de fluencia (yield-point) es el valor del esfuerzo cortante más bajo por encima del cual un material se comporta como un fluido, y por debajo de la cual el material actuará como un material sólido a veces muy suave. El punto de flujo de varias muestras sólo se hace evidente cuando sus curvas de flujo y las curvas de viscosidad se representan juntos en el diagrama.

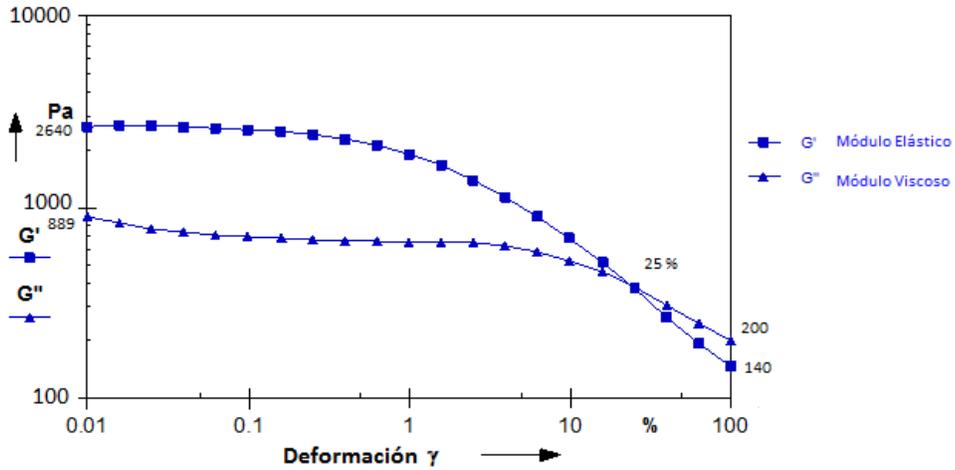
En la muestra del puerco joven (figura 14) con un módulo elástico  $G'$  (módulo de ganancia) a su inicio de la deformación cuenta con 103 Pa de esfuerzo cayendo hasta 33.8 Pa, punto de fluencia (yield-point) a 1.59% para éste módulo. El módulo viscoso  $G''$  (módulo de pérdida) a su inicio tiene un esfuerzo de 47.7 Pa que al llegar a deformación del 100% decaerá a 23.2 Pa, con punto de fluencia al 10%; en esta medición no contamos con punto de flujo (flow point), ya que las líneas de ambos módulos no se cruzan. El esfuerzo de corte representado en gráfica separada de los módulos  $G'$  y  $G''$  muestra una gráfica no lineal de esfuerzo de corte sobre porcentaje de deformación que va desde 0 - 41 Pa (Figura # ).



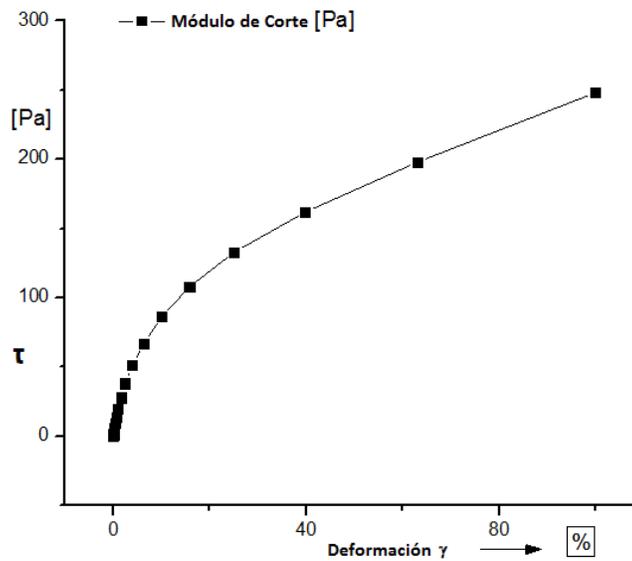
**Figura 14.** a) Grafica de barrido de amplitud del puerco joven donde se muestra  $G'$  y  $G''$ , en b) se encuentra graficado esfuerzo de corte sobre deformación ( $\eta = \tau / \gamma$ ).

El barrido de amplitud inicial para muestra de 21 años (figura 15) al inicio de la deformación tiene un esfuerzo de 2640 Pa en módulo  $G'$  desendiendo a 140 Pa a la deformación del 100%; mientras tanto en el módulo  $G''$  inicia con 889 Pa y al llegar al 100% de deformación desiendo a 200 Pa; el módulo  $G'$  tiene punto de fluencia (yield point) en el 1.58% de deformación y el módulo  $G''$  6.31%, el punto de flujo (flow point) se presenta en el 25% (donde hay el cruce de  $G'$  y  $G''$ ); el esfuerzo de corte inicia 0.278 Pa y asciende a 248 Pa. En el barrido de amplitud

posterior al barrido de frecuencia (figura 16) cuenta con 1,920 Pa a inicio del módulo  $G'$  y 185 Pa a termino; para el módulo  $G''$  inicia a 524 Pa y termina con 203 Pa; punto de fluencia para  $G'$  se encuentra en el 1% y en  $G''$  en el 10%; el punto de flujo (flow point) tiene cruce en el 40%; el esfuerzo de corte inicia en .199 Pa y asciende a 275 Pa.

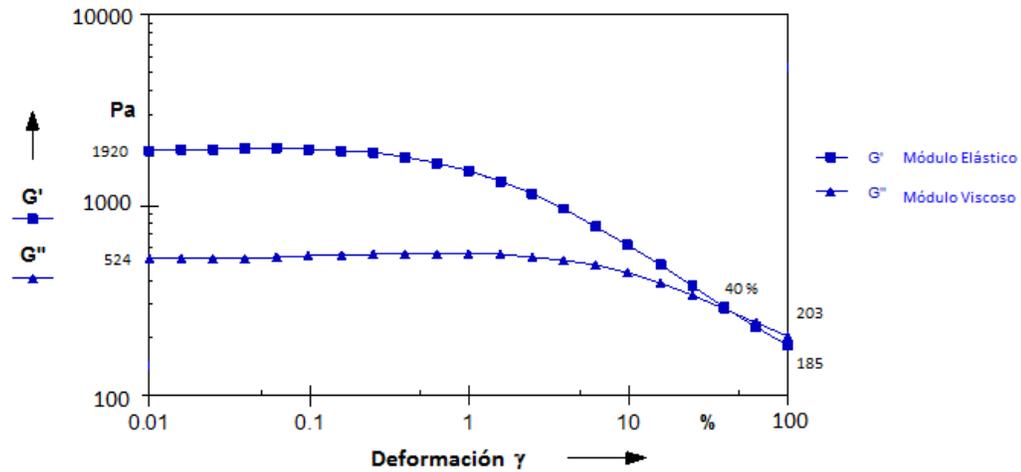


a)

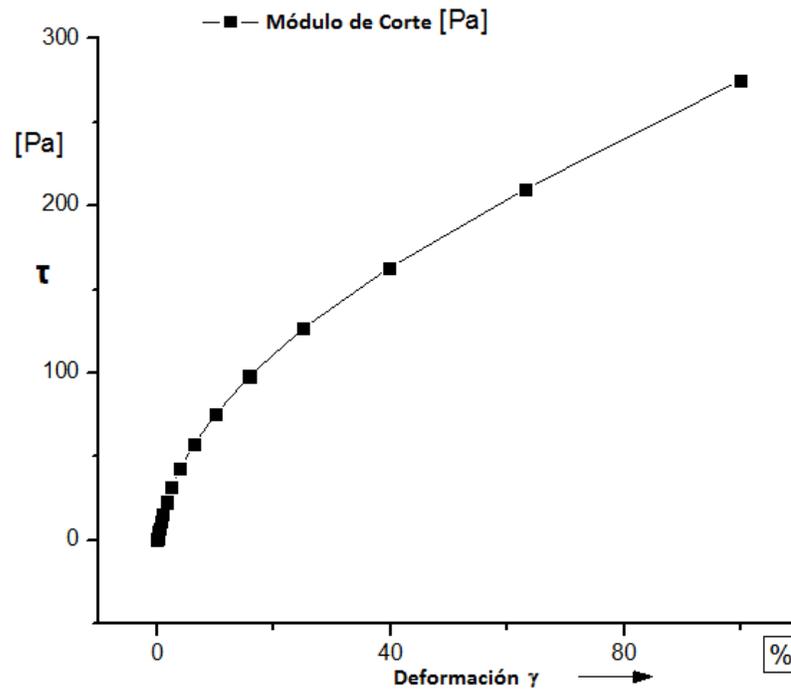


b)

**Figura 15.** Barrido de amplitud para muestra de 21 años, previo a barrido de frecuencia, en a) se muestran módulo  $G'$  y  $G''$ , en b)  $\eta = \tau / \dot{\gamma}$



a)

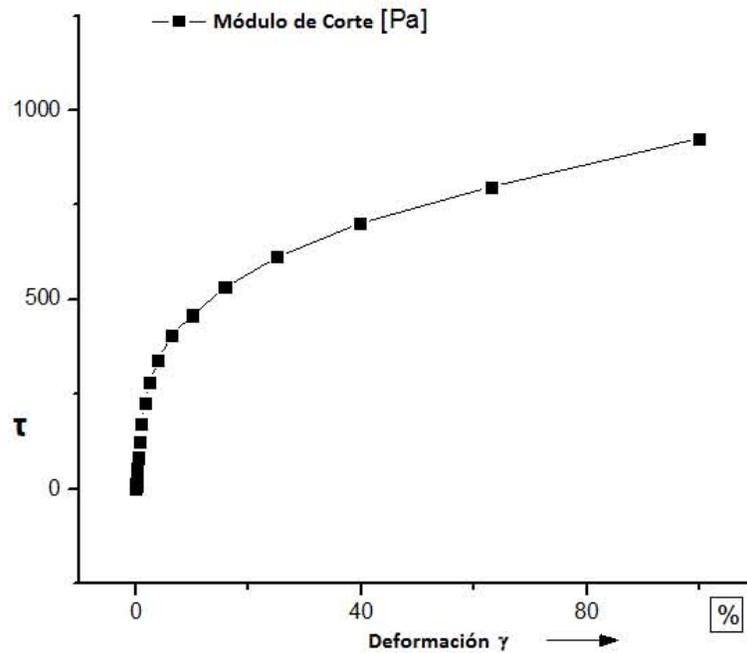
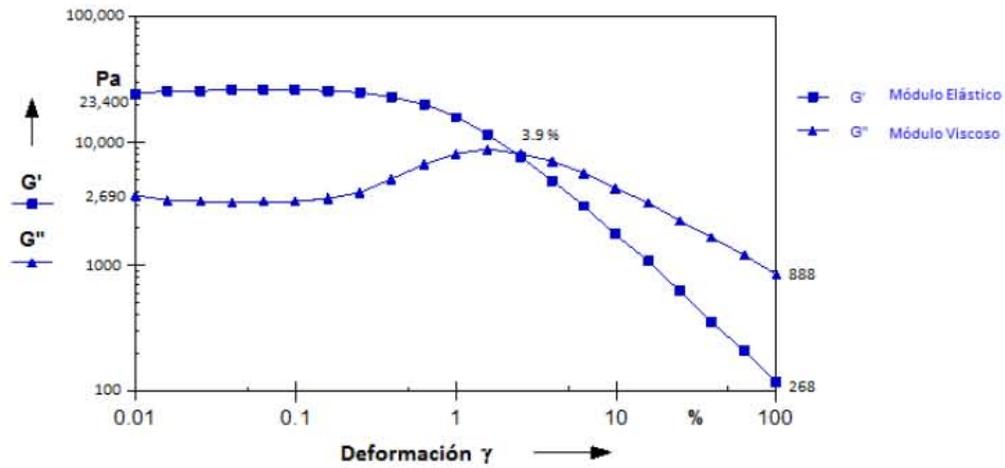


b)

**Figura 16.** Barrido de amplitud para muestra de 21 años, posterior a barrido de frecuencia, en a) se muestran módulo  $G'$  y  $G''$ , en b)  $\eta = \tau / \dot{\gamma}$

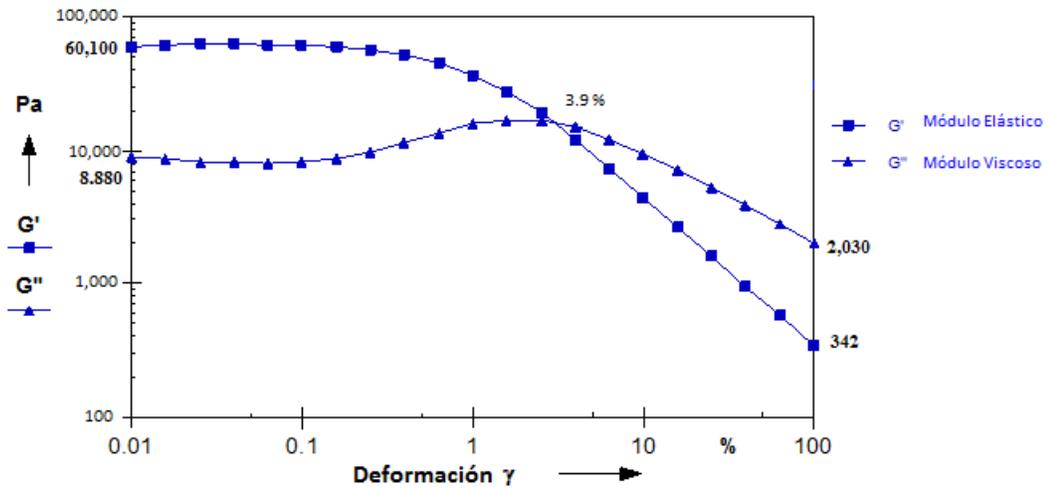
Los resultados del barrido de amplitud previo al barrido de frecuencia para la muestra de 44 años (figura 17) a inicios del módulo  $G'$  con 23,400 Pa y con 268 Pa al llegar al 100% de deformación; 2,690 Pa al iniciar módulo  $G''$ , 888 Pa al llegar al 100% de deformación; el punto

de fluencia para  $G'$  se encuentra en el 1%, mientras que para  $G''$  en el 6.3%; el punto de flujo (flow point) se presenta en el 3.9% (Figura #); el esfuerzo de corte inicia en 2.35 Pa hasta 927 Pa de patron no lineal.

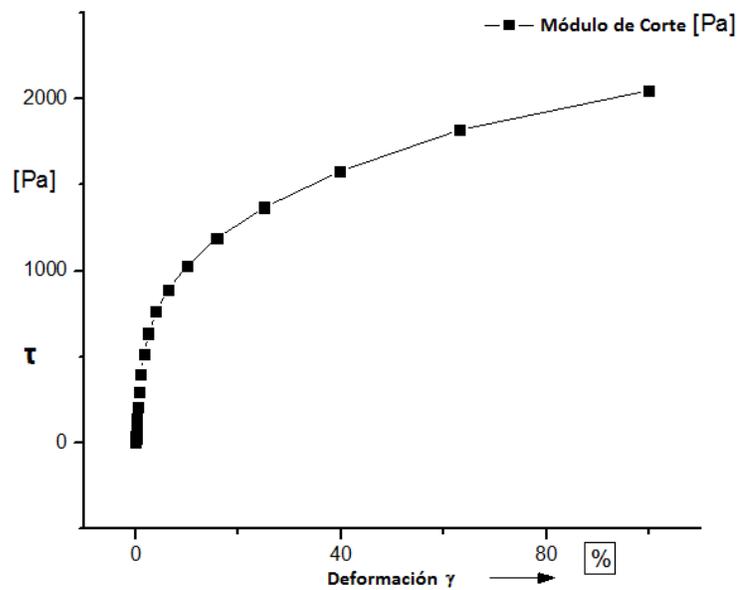


**Figura 17.** Barrido de amplitud para muestra de 44 años, previo a barrido de frecuencia, en a) se muestran módulo  $G'$  y  $G''$ , en b)  $\eta = \tau / \dot{\gamma}$

Barrido de amplitud para la muestra de 44 años posterior al barrido de frecuencia (figura 18) resulta con 60,100 Pa a inicios de  $G'$  y 342 Pa a 100% de deformación; en  $G''$  a inicios de la deformación con 8,880 Pa y 2,030 Pa a 100% de deformación; el esfuerzo de corte inicia de 6.08 Pa hasta 2050 Pa; el punto de fluencia (yield point) para  $G'$  se encuentra en el 1%, para  $G''$  en el 6.3%; el punto de flujo (flow point) en 3.9%.



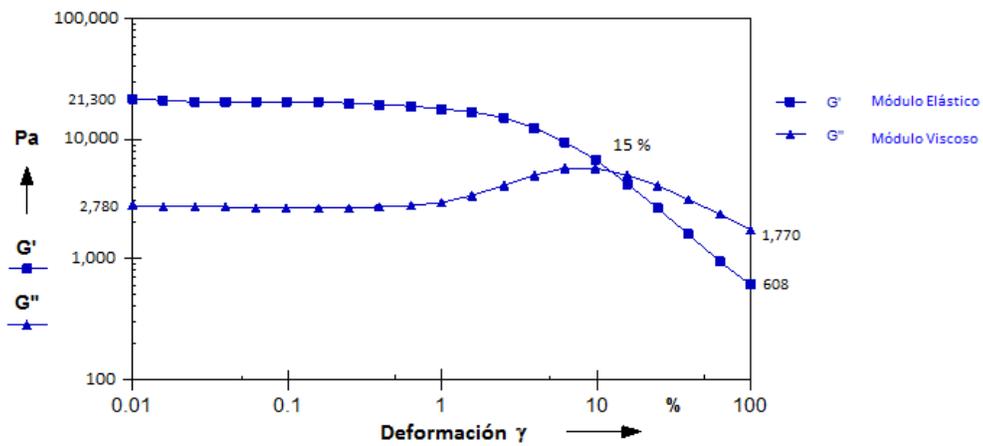
a)



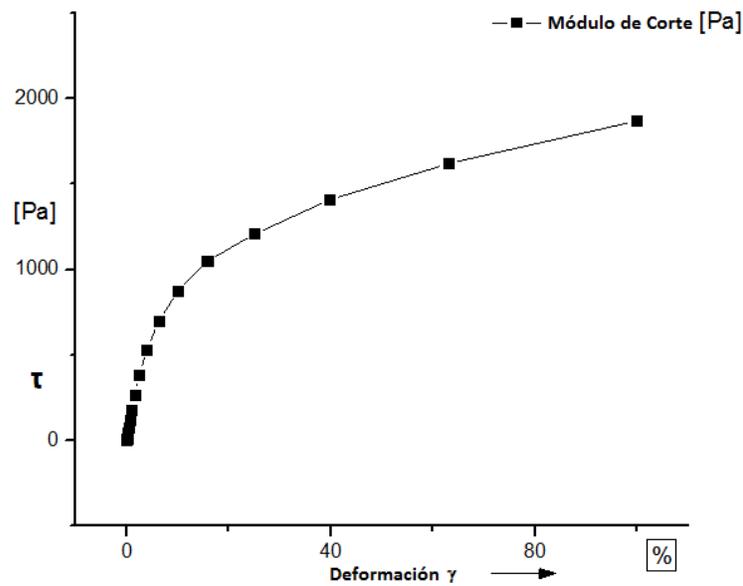
b)

**Figura 18.** Barrido de amplitud para muestra de 44 años, posterior al barrido de frecuencia, en a) se muestran módulo  $G'$  y  $G''$ , en b)  $\eta = \tau / \dot{\gamma}$

En la prueba de amplitud de la muestra de 60 años de edad previo al barrido de frecuencia (figura 19) al inicio de la deformación de  $G'$  marca 21,300 Pa al llegar al 100% descendiende a 608 Pa; para  $G''$  2,780 Pa a inicios de la deformación y 1,770 Pa termino de la deformación; punto de flujo (flow point) se encuentra en el 15%; el punto de fluencia (yield point) de  $G'$  en el 1.58% mientras que para  $G''$  25.1%; el esfuerzo de corte va desde 2.14 – 1870 Pa en patrón no lineal (Figura #).



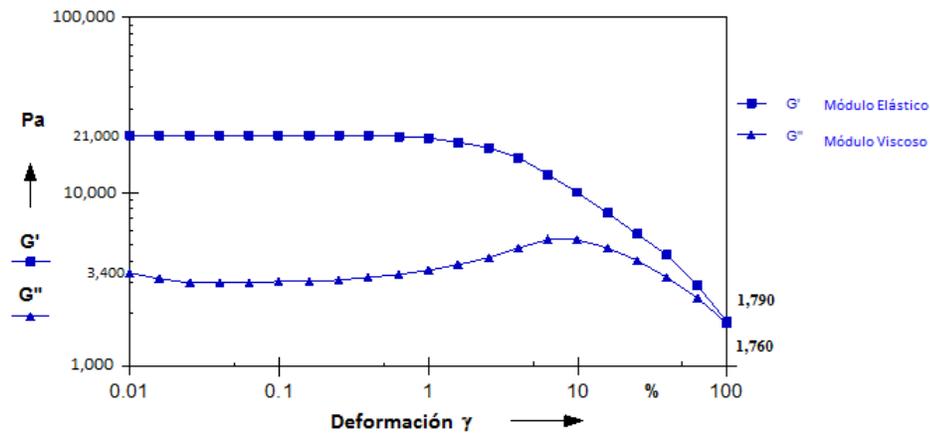
a)



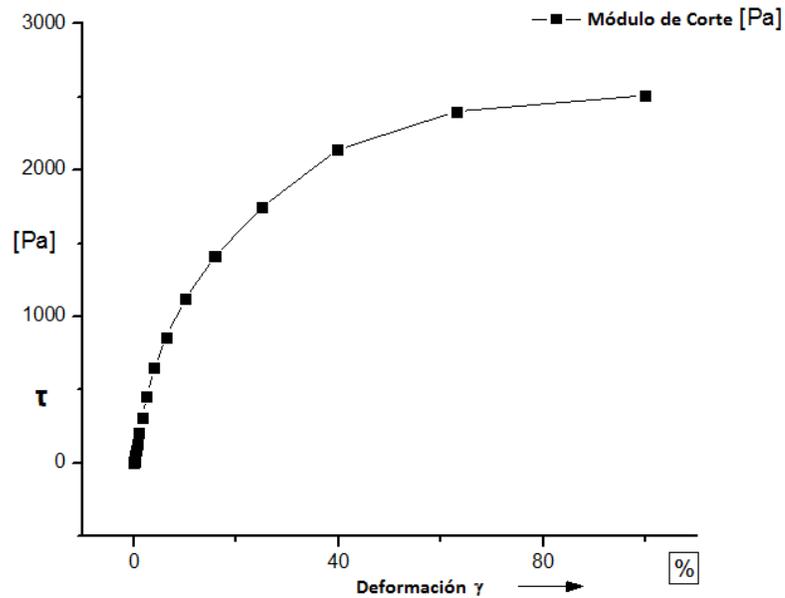
b)

**Figura 19.** Barrido de amplitud para muestra de 60 años, previo a barrido de frecuencia, en a) se muestran módulo  $G'$  y  $G''$ , en b)  $\eta = \tau / \dot{\gamma}$

En el barrido de amplitud posterior al barrido de frecuencia (figura 20) para la muestra de 60 años, iniciando la deformación el módulo  $G'$  muestra 21,000 Pa, terminando con 1,790 a 100% de deformación; para el módulo  $G''$  inicia con 3,400 Pa terminando 1,760 Pa a 100% de deformación. El punto de fluencia para  $G'$  se encuentra a 2.51 %, para  $G''$  15.8%; el punto de flujo no se alcanza a efectuar, tienen mínima diferencia entre los módulos y no alcanzan a cruzarse;



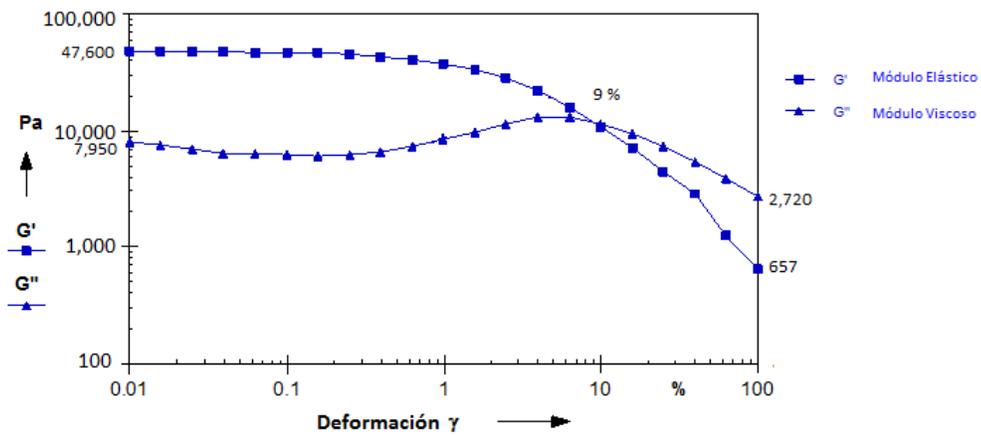
a)



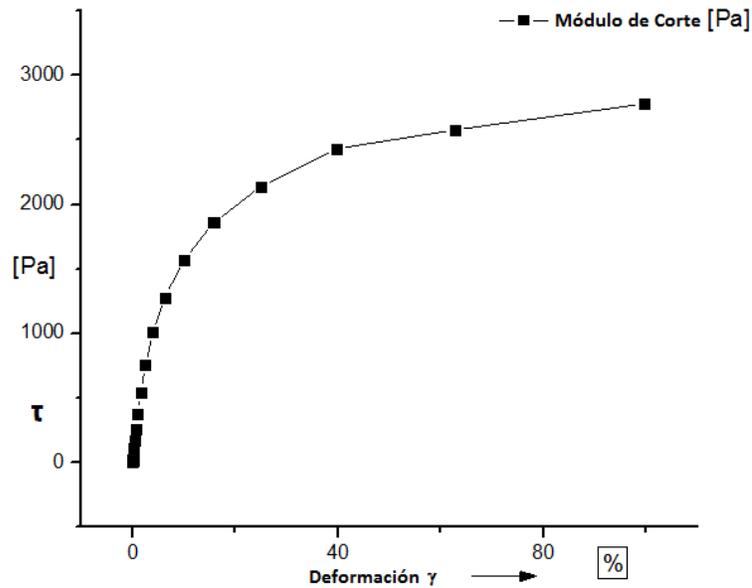
b)

**Figura 20.** Barrido de amplitud para muestra de 60 años, posterior a barrido de frecuencia, en a) se muestran módulo  $G'$  y  $G''$ , en b)  $\eta = \tau / \dot{\gamma}$

En reometría de de amplitud para muestra de 77 años previo a barrido de frecuencia (figura 21) muestra 47,600 Pa a inicios de la deformación en  $G'$  y 657 Pa 100% de deformación, 7,950 Pa al iniciar deformación en módulo  $G''$  y 2,720 Pa a 100% de deformación. Punto de fluencia (yield point) para  $G'$  se encuentra a 1.58% en para  $G''$  del 10%, el punto de flujo (flow point) a deformación del 9%; el esfuerzo de corte tiene el rango de 4.29 – 2780 Pa.



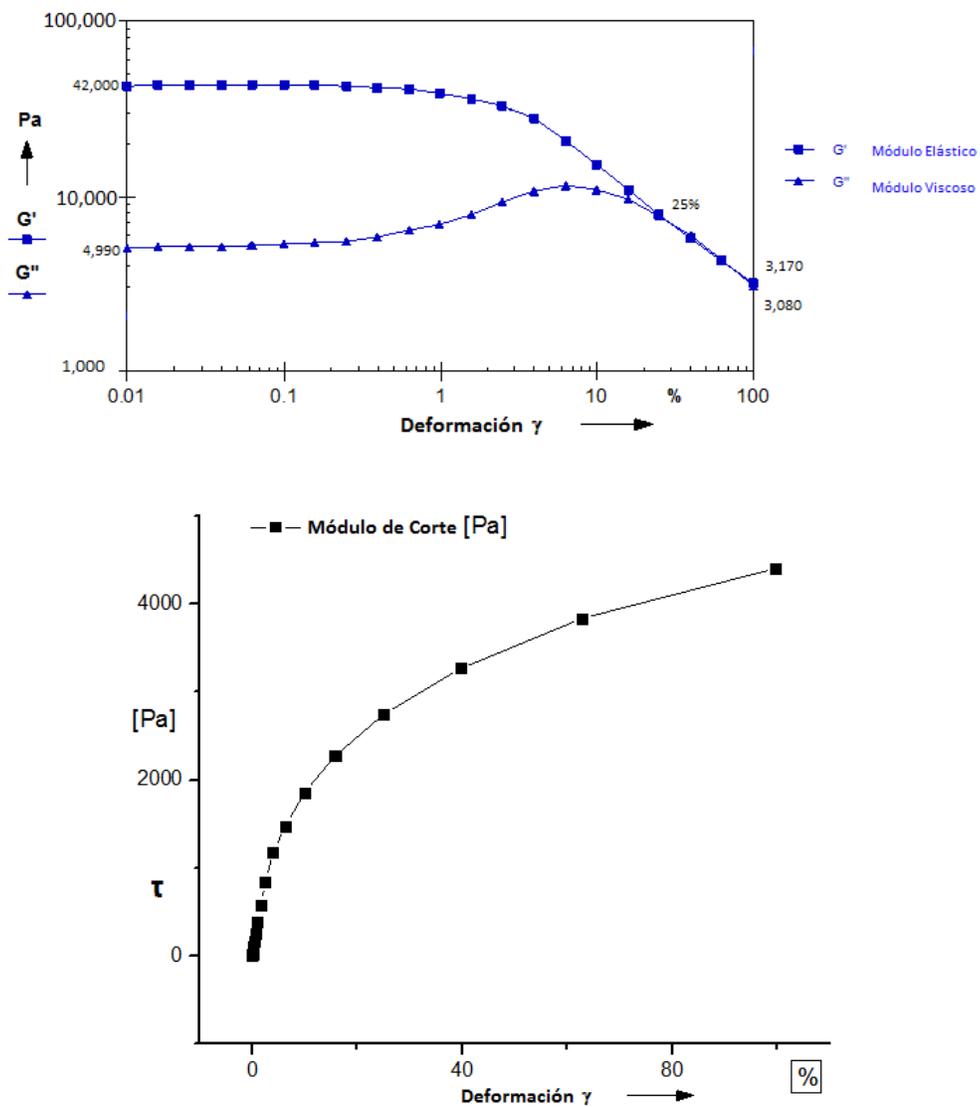
a)



b)

**Figura 21.** Barrido de amplitud para muestra de 77 años, previo a barrido de frecuencia, en a) se muestran módulo  $G'$  y  $G''$ , en b)  $\eta = \tau / \dot{\gamma}$

El barrido de amplitud para la muestra de 77 años posterior a reometría dependiente de frecuencia (figura 22), el módulo  $G'$  al iniciar deformación marca 42,000 Pa, al llegar a 100% de deformación presenta 3,080 Pa; en módulo  $G''$  al iniciar deformación tiene como resultado 4,990 Pa, y termina en 3,170 Pa al llegar al 100% de deformación. Tiene un punto de fluencia (yield point) para  $G'$  en 6.29% y para  $G''$  se encuentra en 10%; el punto de flujo (flow point) lo encontramos a 25% de deformación; el esfuerzo de corte se encuentra en el rango de 4.23 – 4410 Pa.

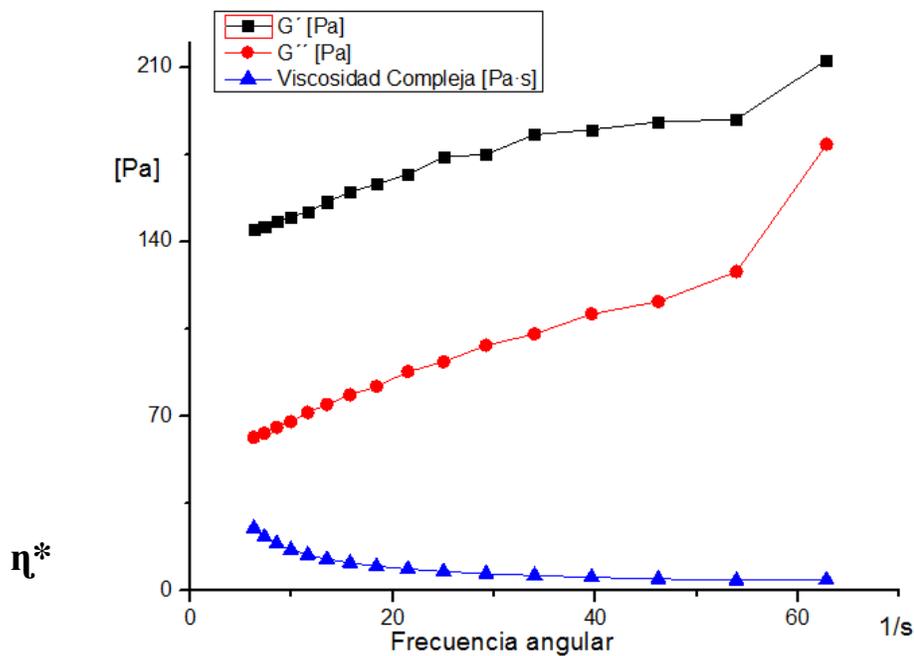


**Figura 22** Barrido de amplitud para muestra de 77 años, posterior a barrido de frecuencia, en a) se muestran módulo  $G'$  y  $G''$ , en b)  $\eta = \tau / \dot{\gamma}$

### Análisis de barrido dependiente de frecuencia o módulo complejo.

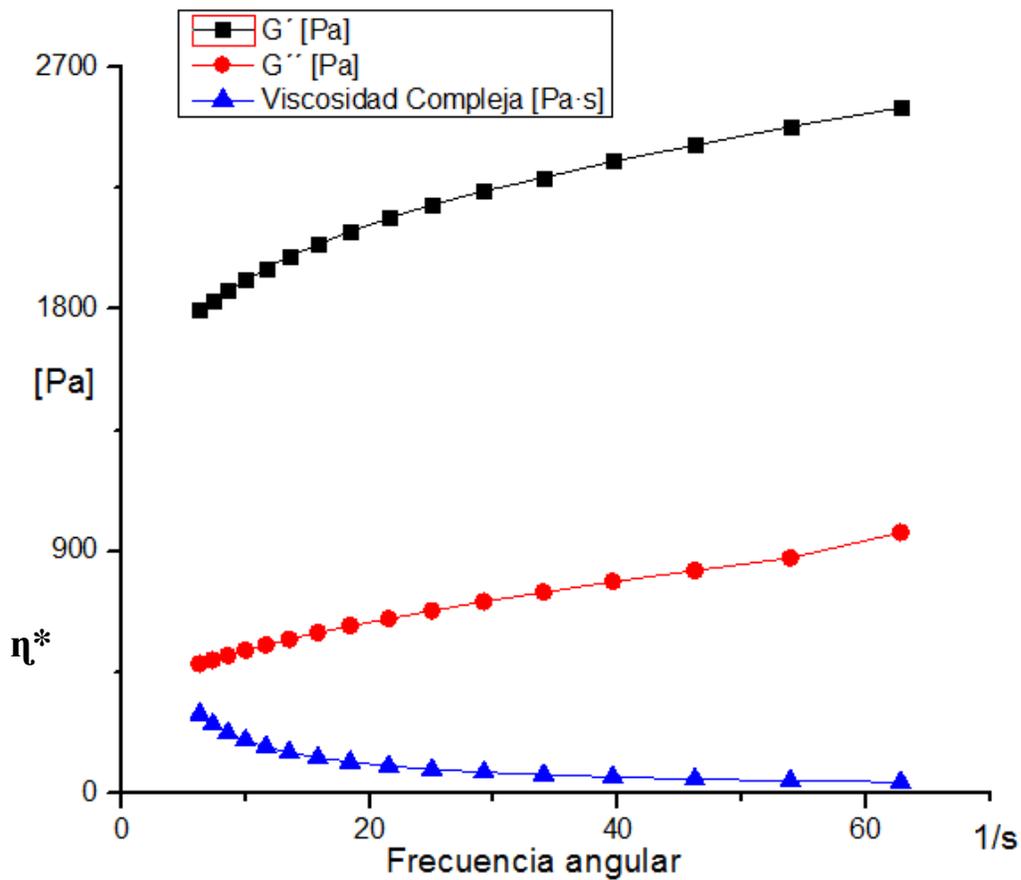
Se realiza barrido dependiente de frecuencia para cada una de las muestras, hechas estas por triplicado y posteriormente se saca la media de cada uno de los puntos de mediciones que arroja el software del reómetro usando OriginPro 8; posteriormente se realizan gráficas módulo  $G'$  y  $G''$ , así mismo acompañado de la gráfica de viscosidad compleja en una escala lineal de ambas.

El barrido dependiente de frecuencia ó de módulo complejo ( $G^* = \frac{\tau_A}{\gamma_A}$ ) para la muestra del puerco joven (figura 23) para el módulo  $G'$  va desde 145 Pa para una frecuencia angular ( $\omega$ ) de 6.28 rads/s para ascender hasta 213 Pa a 62.8 rads/s; en el módulo  $G''$  el resultado sobre una frecuencia angular de 6.28 rads/s es 61.5 Pa, en 62.8 rads/s = 179 Pa. El rango de viscosidad compleja ( $\eta^*$ ) va desde 25.1 Pa·s a 6.28 rads/s hasta 4.44 Pa·s para 62.8 rads/s; estos resultados se muestran en figura #.



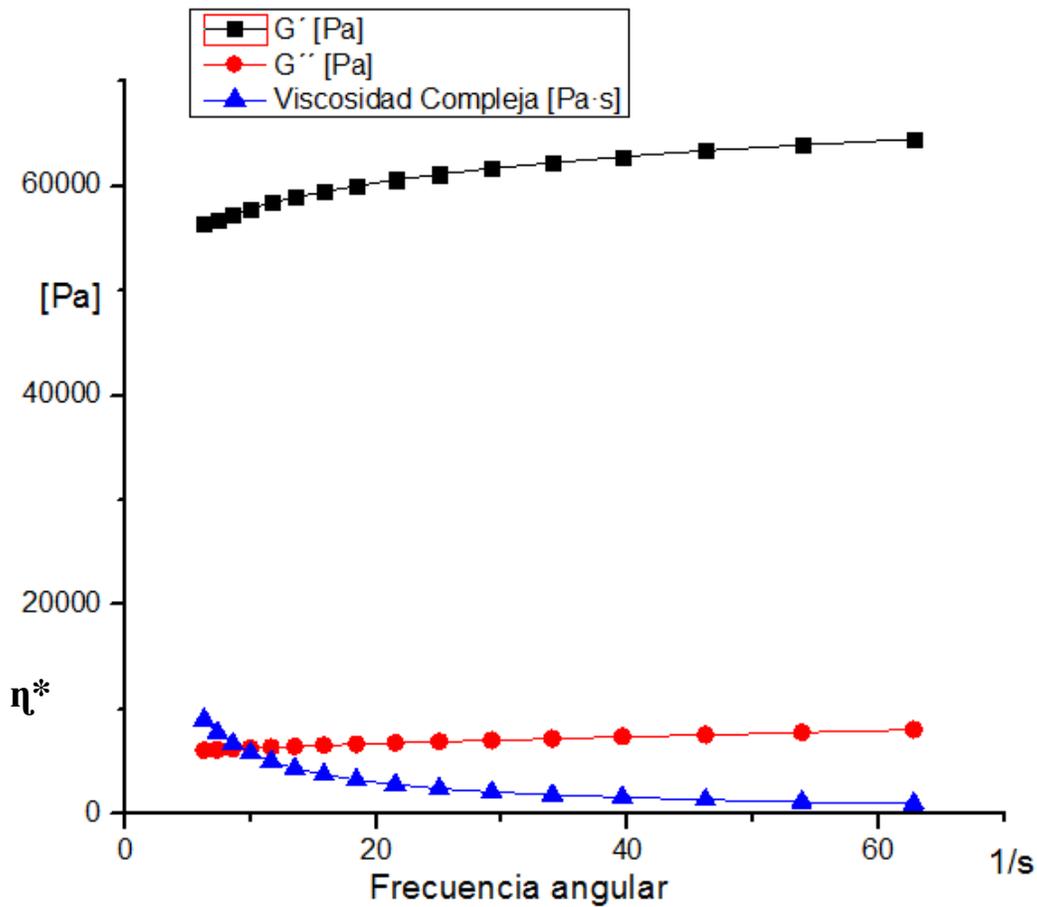
**Figura 23.** Módulo complejo ( $G^* = \frac{\tau_A}{\gamma_A}$ ) para muestra de puerco joven en escala lineal. El módulo de  $G'$  es mayor que  $G''$  ambos en ascenso, mientras que la viscosidad compleja se encuentra en descenso al aumentar  $\omega$  (frecuencia angular).

Los resultados del módulo complejo ( $G^* = \frac{\tau_A}{\gamma_A}$ ) para la muestra de 21 años (figura 24), en donde  $G'$  inicia en 1,800 Pa a  $\omega$  de 6.28 rads/s, en línea ascendente no lineal hasta 2,550 Pa con  $\omega$  de 62.8 rads/s; para módulo  $G''$  a  $\omega$  de 6.28 rads/s presenta 483 Pa en línea ascendente no lineal hasta 971 a  $\omega$  de 62.8 rads/s. La viscosidad compleja ( $\eta^*$ ) con  $\omega$  6.28 rads/s = 296 Pa·s decaendo hasta 43.4 Pa·s en línea descendente no lineal.



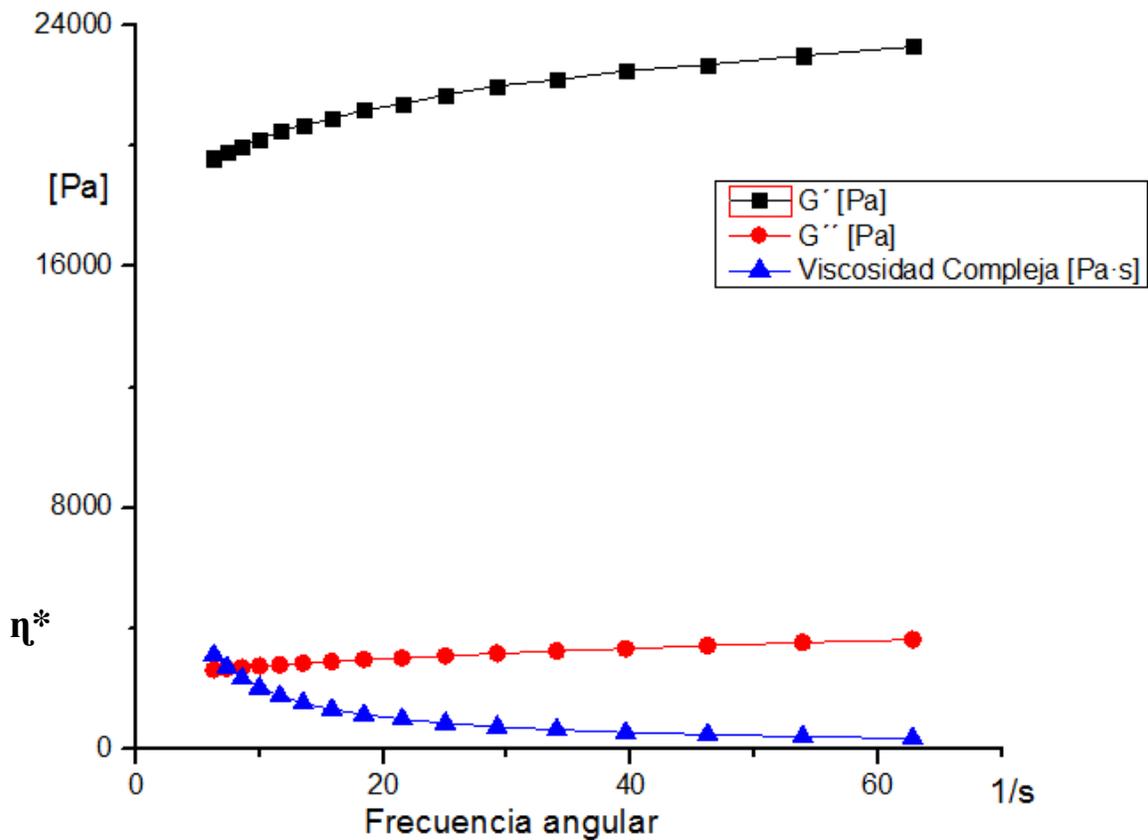
**Figura 24.** Módulo complejo ( $G^* = \frac{\tau_A}{\gamma_A}$ ) para muestra de 21 años en escala lineal. El módulo de  $G'$  es mayor que  $G''$  ambos en ascenso, la viscosidad compleja se encuentra en descenso al aumentar  $\omega$ , mismo comportamiento no lineal que el puerco joven.

Para la muestra de 44 años ( $G^* = \frac{\tau_A}{\gamma_A}$ ),  $G'$  presenta 56,400 Pa para  $\omega$  de 6.28 rads/s con ascenso no lineal hasta 64,500 Pa para  $\omega$  de 62.8 rads/s; en el módulo  $G''$  a 6.28 rads/s presenta 6,100 Pa y al igual que el módulo  $G'$  un ascenso no lineal hasta 8,060 Pa; La viscosidad completa ( $\eta^*$ ), con  $\omega$  6.28 rads/s da a 9,020 Pa·s con descenso no lineal conforme aumenta la frecuencia angular, midiendo a  $\omega$  62.8 rads/s 1,030 Pa·s (figura 25).



**Figura 25.** Módulo complejo ( $G^* = \frac{\tau_A}{\gamma_A}$ ) para muestra de 44 años en escala lineal. El módulo de  $G'$  es mayor que  $G''$  ambos en ascenso no lineal, la viscosidad compleja va en descenso conforme aumenta la frecuencia angular ( $\omega$ ).

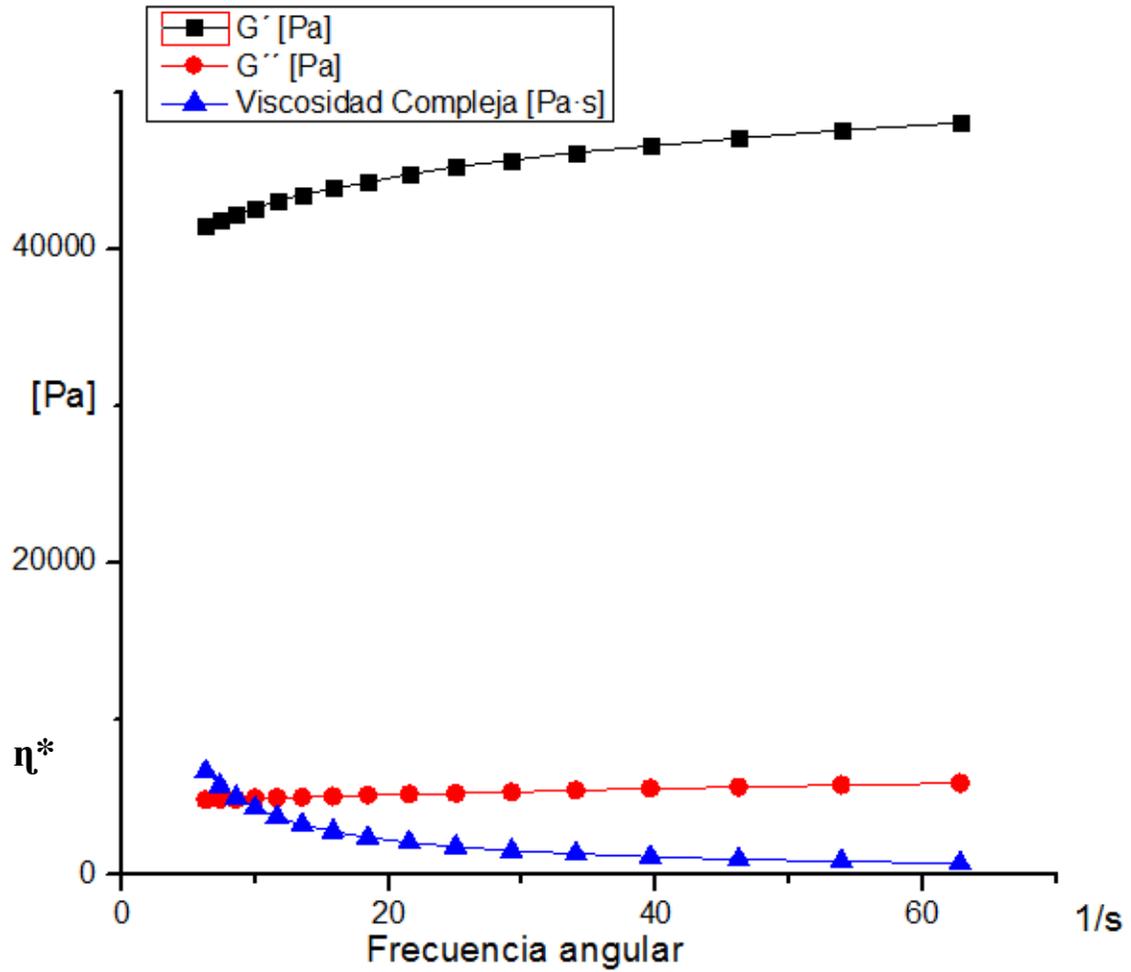
El barrido dependiente de frecuencia ( $G^*$ ) para la muestra de 60 años en el módulo  $G'$  inicia en 19,600 Pa en  $\omega$  de 6.28 rads/s, en  $\omega$  de 62.8 rads/s = 23,300 Pa; en el módulo  $G''$  son 2,650 Pa para  $\omega$  de 6.28 rads/s y 3,640 Pa en  $\omega$  de 62.8 rad/s. La viscosidad compleja ( $\eta^*$ ) a 6.28 rad/s presenta 3,140 Pa·s y 374 Pa·s para  $\omega$  de 62.8 rads/s (figura 26).



**Figura 26.** Módulo complejo ( $G^* = \frac{\tau_A}{\gamma_A}$ ) para muestra de puerco joven en escala lineal. El módulo de  $G'$  es mayor que  $G''$  ambos en ascenso, mientras que la viscosidad compleja se encuentra en descenso al aumentar  $\omega$  (frecuencia angular).

El módulo complejo ( $G^*$ ) de la muestra de 77 años, presenta 41,500 Pa para  $\omega$  de 6.28 rads/s en  $G'$  teniendo un ascenso no lineal hasta 48,100 Pa a 62.8 rad/s ( $\omega$ ); para módulo  $G''$  presenta 4,810 Pa con  $\omega=6.28$  rads/s con ascenso no lineal a 5,880 Pa para  $\omega = 62.8$  rad/s. En

viscosidad compleja en  $\omega = 6.28 \text{ rad/s}$  tiene  $6,640 \text{ Pa}\cdot\text{s}$  en descenso no lineal hasta  $770 \text{ Pa}\cdot\text{s}$  (figura 27).



**Figura 27.** Módulo complejo ( $G^* = \frac{\tau_A}{\gamma_A}$ ) para muestra de 44 años en escala lineal. El módulo de  $G'$  es mayor que  $G''$  ambos en ascenso no lineal, la viscosidad compleja va en descenso conforme aumenta la frecuencia angular ( $\omega$ ).

## DISCUSIÓN

El núcleo pulposo es una porción del disco intervertebral que juega un papel importante sobre la regulación de las cargas en la columna vertebral y en conjunto con anillo fibroso presentan propiedades de dar movilidad a la misma; este tejido cuenta con propiedades viscoelásticas descritas pero poco o nulamente estudiadas desde el punto de vista reológico, cuya importancia radica sobre comprender la función del disco intervertebral, más allá de la lógica de ser un colchón entre los cuerpos vertebrales [Moore, 2002, Shapiro *et al.* 2013].

Se analizaron los resultados de las mediciones en el módulo dependiente de deformación y dependiente de frecuencia sobre la muestra. Al observar el trazo de las graficas de las en los dos módulos de todas las muestras, se puede apreciar la similitud de los trazos o el dibujo. Sin embargo, los valores de cada uno es diferente en comparación de las otras muestras; la muestra que tiene menos similitud entre ellas es la muestra del puerco joven.

En reometría de barrido de amplitud se observa que conforme se evalúan las muestras, los valores de los módulos  $G'$  y  $G''$  aumentan, es necesaria una fuerza mayor para lograr vencer la elasticidad y la viscosidad de la muestra. La muestra que presentó los límites menores fue la muestra del puerco, siguiendo la muestra de 21 años, y en orden ascendente el de 60 años, 44 años y finalmente el de 77 años. Así mismo, la influencia del esfuerzo de corte en la muestra del puerco joven es muy pequeña, mucho menor a la muestra de 21 años, siendo poca el esfuerzo en comparación a las muestras maduras, siguiendo a esta de menor a mayor la muestra de 44 años, 60 años y la que marco un patrón de mayor esfuerzo de corte la muestra de 77 años; el esfuerzo graficado ( $\eta = \tau / \dot{\gamma}$ ) en las pruebas de amplitud es de un patrón de no lineal, con disminución de la viscosidad al aumentar la deformación angular.

Al terminar las pruebas para módulo complejo, a las muestras se le realizó de nuevo un barrido de amplitud para evaluar su comportamiento posterior a dichas pruebas y marcar diferencias entre las pruebas de amplitud previa al módulo complejo y posterior. La única

muestra a la que no pudo aplicársele barrido de amplitud posterior al módulo complejo fue la muestra del puerco joven; ya que terminó considerablemente deshidratada la muestra, muy pegada a los platos paralelos. Comenzando por evaluar los cambios del esfuerzo de corte entre cada muestra del antes y después de correr pruebas de módulo complejo, se aprecia un aumento del esfuerzo de corte para todas las muestras;

En la muestra de 21 años, el inicio de la deformación angular (0.00999%) en la prueba inicial hay un esfuerzo de corte de 0.278 Pa, en la prueba de repetición de 0.199 Pa un aumento del 39.69 %, en el último punto de medición (100%) en la prueba preliminar marca 248 Pa mientras que en la prueba posterior 275 Pa, teniendo un aumento del 10.88%. Entonces en el primer punto de medición no hay cambios del primer punto de medición entre la prueba inicial y la de repetición, mientras que en el último punto de medición hay un aumento del esfuerzo de corte en la prueba de repetición.

El esfuerzo de corte para la muestra de 44 años, presenta aumento evidente a inicio de la deformación angular (0.00999%), marcando 2.35 Pa en la prueba inicial para aumentar a 6.08 Pa en la segunda prueba, teniendo un aumento del 158.7%; comparando el punto final de medición de la prueba (99.7%), en el barrido inicial presenta 927 Pa y en el segundo barrido 2050 Pa, teniendo un aumento del 121.1%. En el primer punto de medición y en el último hay un aumento marcado del esfuerzo de corte.

Para la muestra de 60 años, analizando el primer punto de medición (0.00999%) en el primer barrido de amplitud se obtiene 2.14 Pa, en la repetición del barrido posterior a módulo G\* se tiene 2.13%, por lo tanto hay un descenso del 0.46% del esfuerzo de corte; ahora analizando el punto final de medición (99.9%) en la prueba inicial se obtiene 1,870 Pa, en la prueba posterior al módulo G\* 2,510 Pa, esto es un aumento del 34.22% del esfuerzo de corte. Hay un descenso en el esfuerzo de corte en el primer punto de medición en la primera prueba y al

segundo; en el último punto de medición hay un aumento del esfuerzo, no tan evidente como en la muestra anterior.

Para la muestra de 77 años, en la prueba inicial a en el primer punto de medición (0.999%) presenta 4.79 Pa y en la segunda prueba 4.23 Pa teniendo un descenso de 0.88%; ahora revisando el punto final de medición (99.7%) en la prueba inicial marca 2,780 Pa y en la prueba final de 4410 Pa, teniendo entonces un ascenso de 58.6%. Así también los módulos  $G'$  y  $G''$  hay cambios del módulo de amplitud previo al módulo  $G^*$  en comparación al realizado posterior a este. La gráfica del esfuerzo de corte va en ascenso de forma no línea, en el punto inicial aparenta que es menor al repetir la prueba, sin embargo durante el curso va aumentando en comparación a la primera prueba, por lo tanto el esfuerzo de corte aumenta al repetir la prueba posterior a realizar reometría en módulo complejo.

La pérdida de agua afecta indudablemente a las muestras y la más afectada es la muestra del puerco joven ya que no permitió una repetición de la prueba posterior a realizar las del módulo  $G^*$ ; los el aumento del esfuerzo de corte se traduce en el esfuerzo que debe realizar el dispositivo para movilizar la muestra y poder medir los módulos  $G'$  y  $G''$ , entonces entre más pérdida de agua mayor esfuerzo de corte; la muestra que sigue a la del puerco por afección de deshidratación es la de 44 años, continuando con la de 77 años, luego la de 60 años y la que menos se afecta por la deshidratación es la de 21 años [Koeller et al 1984; Leatt et al., 1986, Shapiro *et al.* 2013].

Analizando ahora los cambios en el módulo de ganancia y de pérdida, en la muestra de 21 años en el módulo  $G'$  en el primer punto de medición (0.00999%) de la deformación angular en la prueba inicial del módulo  $G^*$  marca 2,640 Pa y en la prueba posterior a  $G^*$  1,920, esto es un descenso del 27.27%, ahora tomando el último punto de medición (100%) en la prueba inicial se tiene 146 Pa y en la final 185 Pa esto es un aumento del 26.7%. Retomando los cambios del módulo  $G''$  en deformación de (0.00999%) en la prueba inicial se obtienen 889 Pa, mientras que

la prueba posterior a marca 524 Pa esto es un descenso del 41.05% en el módulo  $G''$ ; tomando el punto de mayor deformación (100%) en la prueba previa al módulo complejo marca 200 Pa, y en la prueba de repetición 203 Pa, esto es un aumento del 1.5%. En ambos módulos hay descenso en la prueba de repetición.

En lo que respecta a la muestra de 44 años de edad, en el módulo  $G'$  tomando el primer punto de medición (0.00999%) en el primer intento de prueba de amplitud se obtiene 23,400 Pa, en la prueba posterior al módulo complejo ( $G^*$ ) se obtiene 60,100 Pa, por lo que presenta un aumento del 156.83%; evaluando el punto de mayor deformación (99.9%), en la prueba preliminar se obtiene 268 Pa y en la posterior al módulo complejo 342 Pa, esto es un aumento del 27.61%. Continuando con  $G''$  en el primer punto de medición (0.00999%) durante la prueba de inicio marca 2,690 Pa y en la prueba de repetición 8,880 Pa, esto es un aumento del 230.11%; ahora tomando el mayor punto de deformación (99.9%), en la prueba inicial se obtienen 888 Pa y en la prueba de repetición 2,030 Pa, esto un aumento del 128.60%. Hay un aumento de ambos módulos ( $G'$  y  $G''$ ) en la prueba de repetición sobre la prueba preliminar, esto puede ser consecuencia de la deshidratación de la muestra, pero también de la capacidad de recuperar sus propiedades viscoelásticas posterior a aplicar estrés.

La muestra de 60 años el módulo  $G'$  en su primer punto de medición (0.00999%) se obtienen 21,300 en la prueba inicial, en la prueba de repetición 21,000 Pa, esto marca un descenso del 1.4%; en el último punto de medición (99.9%) durante la prueba inicial de amplitud se obtienen 608 Pa, en la prueba de repetición 1,790 Pa, entonces presenta un aumento de 194.4%. En el primer punto de medición del módulo  $G''$  (0.00999%) la prueba preliminar marca 2,780 Pa y en la prueba de repetición 3,400 Pa esto es un aumento del 22.30%; la medición del último punto de medición (99.9%) para la prueba preliminar es 1,770 Pa, mientras que para la prueba posterior 1,760 Pa, esto es un descenso del 0.56%. En el módulo elástico ( $G'$ ) hay un descenso discreto del módulo para la prueba posterior al módulo complejo en relación a la

prueba preliminar, sin embargo en el último punto de deformación hay un aumento considerable; en el módulo viscoso ( $G''$ ) en el primer punto de medición hay un aumento discreto y en el último punto de medición hay un discreto descenso; ambos relación de la prueba de repetición sobre la prueba preliminar.

Para la muestra de 77 años en el módulo  $G'$  a una deformación de 0.00999% se obtienen 47,600 Pa en la prueba inicial y 42,000 Pa en la prueba de repetición, esto es un descenso del 11.76%; en el último punto de medición (99.7%) se obtienen 657 Pa en la prueba preliminar, en la prueba de repetición 3,170 Pa, esto es un aumento del 382.49%. Ahora para el módulo  $G''$  a una deformación de 0.00999% en la prueba preliminar presenta 7,950 Pa y en la prueba posterior 4,990 Pa, esto es un descenso del 37.23%; para una deformación del 99.7% en la prueba preliminar marca 2,720 Pa y en la prueba de repetición 3,080 Pa esto es un aumento del 13.23%. A inicio de la deformación en las pruebas de repetición tanto del módulo  $G'$  como del  $G''$  hay un descenso, el cual se recupera y en el último punto de medición hay aumento más marcado de la elasticidad con respecto a la prueba preliminar.

Un factor sin duda del aumento de los módulos elástico y viscoso es la deshidratación de las muestras, así también de la capacidad de adaptación de la muestra al estrés y la capacidad de recuperar sus propiedades viscoelásticas posterior al aplicársele estrés en este caso la prueba es dependiente de frecuencia angular [Terahata et al.1994]. Sin embargo si los módulos son muy altos, llega el momento en que la elasticidad (propiedad de los sólidos) es mucho más parecido a un sólido ideal, lo mismo pasa con la viscosidad (propiedad de los líquidos), la concentración de una solución puede estar tan saturada que aparenta mas a un sólido, entonces, al llegar al límite de esos módulos lejos de presentar una deformación la muestra para amortiguar un impacto, puede sufrir una fractura de la constitución o forma del tejido, sufriendo desgarros deformación plástica etc.

Las muestras que presentan una disminución de ambos módulos posterior al estrés son buenos amortiguadores, ya que sacrifican consistencia elástica y viscosa para frenar los impactos, convirtiendo esa energía cinética en energía térmica, deformación elástica. Estas muestras que presentan disminución de sus módulos son 21 años que esto sucede en el módulo elástico en el primer punto de deformación y un leve aumento en el último punto de deformación; en su módulo  $G''$  hay un aumento en el primer punto de deformación y un leve descenso en el último punto de deformación. Las muestras de 60 y 77 años tienen aumento en su elasticidad posterior al estrés, la de 60 años tiene un leve aumento en su viscosidad en el primer punto de medición y un leve descenso en su último punto; mientras que la de 77 años en el primer punto hay un descenso importante y un aumento discreto en el último punto.

La muestra de 44 años presenta siempre aumento de los módulos elásticos y viscoso posterior al estrés en el primer y último punto de medición; por lo tanto es el tejido menos ideal para una amortiguación; otra característica del tejido es su conservación de las propiedades viscoelásticas posterior al estrés, el tiempo de descanso entre cada arranque de prueba es de 3 minutos, probablemente si dejamos más tiempo de reposo podría recuperar más sus propiedades, sin embargo la limitante para eso es la temperatura que produce deshidratación de la muestra, es como una carrera contra el tiempo y otra, que el tejido ya no tiene celularidad activa que se encarga de recuperar ó sanar el tejido dañado.

Adentrando al punto de fluencia (yield point), el resultado de este en la prueba previa a las pruebas del módulo complejo:

- Módulo  $G'$ : Puerco joven 1.59%, muestra de 21 años 1.58%, 44 años 1%, 60 años 1.58%, 77 años 1.58%
- Módulo  $G''$ : puerco joven 10%, 21 años 6.31%, 44 años 6.3%, 60 años 25%, 77 años 10%

Punto de fluencia (yield point) en prueba posterior a G\*:

- Módulo G': 21 años 1%, 44 años 1%, 60 años 1.58%, 77 años 6.29%
- Módulo G'': 21 años 10%, 44 años 6.3%, 60 años 15.8%, 77 años 10%

El punto de flujo (flow point) marcado también por edad

- Puerco joven: No marca punto de flujo (flow point) ya que no se cruzan los módulos, solo es posible realizar prueba previa al módulo G\*.
- 21 años: 25% en prueba previa al módulo G\* y 40% posterior al módulo G\*
- 44 años 3.9% en ambas pruebas
- 60 años: 15% en prueba previa al módulo G\* y en la prueba posterior al módulo G\* no alcanzan a cruzar aunque quedan a 30 Pa de distancia para hacerlo.
- 77 años: 9% en prueba previa al módulo G\* y 10% posterior a G\*

El punto de fluencia (yield point), marca el final de la meseta viscoelástica, entonces comparando los cambios primeramente del módulo G' entre la prueba preliminar y la posterior a G\*, se mantienen uniformes en la muestra de 21, 44 y 60 años hay una prolongación en la meseta en la meseta de 77 años (la muestra de 21 años no se puede comparar porque no se realizó medición posterior a G\*); en el módulo G'' los cambios en el punto de fluencia (yield point) se mantiene igual en la muestra de 44 y 77 años, hay un acortamiento en la meseta para la muestra de 21 y 60 años.

El punto de flujo (flow point) se mantiene igual en la muestra de 44 años y constante en la de 77 años; en la muestra del puerco no existe cruce de los módulos, en la de 21 años se alarga considerablemente pero en la de 60 años la diferencia en la prolongación en la prueba de repetición es muy considerable.

El punto de fluencia (yield point) marca el descenso de los módulos, por ejemplo un módulo elástico con una alta cantidad alta de Pascales del punto de fluencia para adelante la sustancia se comporta como un fluido o un material elástico más suave ó en el caso del módulo viscoso seria un material menos viscoso y más líquido. Ahora en el módulo viscoso, en el momento del cruce de los módulos, el esfuerzo para el módulo elástico es menor que para el viscoso, por lo tanto el elástico es más blando o suave que el módulo viscoso.

En reometría para el módulo complejo ( $G^* = \tau_A/\gamma_A$ ) el valor de los módulos  $G'$  y  $G''$  van aumentando en su fuerza en pascales, siendo la muestra de 44 años la que presenta los módulos más altos; en orden descendente la de 77 años, 60 años, 21 años y finalmente la del puerco joven; así también la viscosidad compleja se encuentra con el módulo más alto en la muestra de 44 años, continuando en orden descendente la de 77 años, 60 años, 21 años y finalmente la del puerco joven; la viscosidad compleja tiene una grafica no lineal descendente. En el módulo viscoso la meseta se encuentra en alrededor del 10% de deformación angular, en la muestra de 60 años se desfasa hasta el 25% [Kuo & Jaw, 2010].

## CONCLUSIONES

El núcleo pulposo es un tejido o material viscoelástico de características sólidas, ya que el módulo elástico, características de los sólidos ( $G'$ ) siempre en todas las mediciones permanece por encima del módulo viscoso (característica de los líquidos).

La viscosidad graficada en razón de corte sobre deformación tiene características no lineales, lo que lo caracteriza como un fluido no-newtoniano pseudoplástico (adelgazante), mientras que en la gráfica de viscosidad sobre frecuencia angular nos da gráfica de disminución de la viscosidad al aumento de la frecuencia, condición que al permanecer un periodo en reposo recupera su viscosidad, por lo tanto es un fluido tixotrópico. El módulo elástico se comporta de forma no lineal, por lo tanto comparte las propiedades de un sólido no-hookeano.

El aumento del límite en los módulos elástico y viscoso puede llegar a un punto en que se asemeje a un material sólido por su rigidez, que puede ser interpretado como sinónimo de envejecimiento o madurez del núcleo pulposo, condiciones esperaríamos en la muestra de mayor edad, sin embargo esta característica se encuentra en la muestra de 44 años (la muestra de en medio), por lo tanto edad o el tiempo no es la única condición que envejece al núcleo pulposo.

La hipótesis de investigación se rechaza, el núcleo pulposo no se comporta como un fluido no-newtoniano dilatante reopéctico, sino que su módulo viscoso es un no-newtoniano adelgazante tixotrópico. Dichas características permiten que la energía cinética generada por los impactos sean absorbidos por la característica viscosa del núcleo, disminuyendo esta en el punto de mayor carga, dependiente también de frecuencia y deformación angular para distribuirse en el resto del núcleo donde no es tanto el estímulo en forma de onda de choque, convirtiendo además la energía cinética en energía térmica la cual se equilibra con el resto de los tejidos en contacto; la característica tixotrópica hace que la viscosidad se recupere a forma original, aunque en el

experimento no recupera a su condición original estrictamente, in vivo existen las condiciones adecuadas para mantener la homeostasis de humedad y de regeneración celular.

Al descartar la hipótesis, entonces se concluye que las características reológicas del núcleo pulposo no son responsables de las fracturas de los cuerpos vertebrales durante un evento de trauma, el núcleo cumple la función meramente de disipación de las fuerzas, con el descenso de la viscosidad en el área de compresión, la propiedad elástica cumple la función de recuperar a la forma original; cuando se superan los límites, por ejemplo el elástico este puede llegar a comportarse como un fluido más suave que la propiedad viscosa; el descenso del módulo elástico en todas las muestras apenas supera el 1.5% de la deformación angular en algunas muestras, la muestra de 77 años el descenso de la meseta elástica llega al 6% de deformación angular, eso no quiere decir que posea las condiciones más apropiadas.

La muestra del puerco joven y la de 21 años son las que presentan características de un gel muy fluido; son estas las que presentan los módulos de valores más bajos; en la propiedades viscosas al tener un descenso se llega a un punto en donde el descenso es casi imperceptible, teniendo aparente el trazo de los fluidos lineales o newtonianos (fluidos ideales), es en ese punto en donde el núcleo se convierte en una cizalla y puede herniar el anillo fibroso o escapar a través del cuerpo vertebral (nódulo de Schmorl). El valor más alto que se obtiene es de 64,500 Pa = 6.45 N/cm<sup>2</sup> y corresponde al módulo elástico de la muestra de 44 años, es un resultado muy bajo para fracturar una estructura ósea, ya que para que eso suceda es necesario cientos de newton (Fierro, 2015).

La pérdida de las propiedades reológicas del núcleo pulposo van también acompañadas por cambios degenerativos en el anillo fibroso ya sea mecánico, metabólico, idiopático o inmunológico, da pauta a innumerable cambios en los cuerpos vertebrales contiguos al disco intervertebral.

## **RECOMENDACIONES**

Sería apropiado realizar un estudio también marcando las muestras por grupo de edad, pero con más número de muestras por grupo de edad, controlar la humedad en el momento del experimento ya sea con una trampa de solventes que adapte adecuadamente al reómetro ó tener un sistema de rehidratación de la muestras.

Estudios reológicos de este tipo pueden utilizarse para nuevos proyectos biomecánicos; por ahora se realizó para el estudio del núcleo pulposo, el siguiente paso puede ser utilizarlo para estudiar el anillo fibroso. Se considera el estudio de estos por separado, ya que son tejidos diferentes de características diferentes. Ahora el reto es realizar un material de este tipo para sustituir un disco intervertebral de las características estudiadas en el proyecto y conservar en la columna sus propiedades mecánicas dentro de su tratamiento ortopédico; reconsiderar los sistemas de fijación y un rediseño en su mecanismo de acción.

## LITERATURA CITADA

1. @*Fracture and Dislocation Compendium*. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven, 1996.
2. Adams, Michael A., Timothy P. Green, and Patricia Dolan. "The Strength in Anterior Bending of Lumbar Intervertebral Discs." *Spine* 19.19 (1994): 2197-203.
3. Agrawal, A., A. Guttapalli, S. Narayan, T. J. Albert, I. M. Shapiro, and M. V. Risbud. "Normoxic Stabilization of HIF-1 Drives Glycolytic Metabolism and Regulates Aggrecan Gene Expression in Nucleus Pulposus Cells of the Rat Intervertebral Disk." *AJP: Cell Physiology* 293.2 (2007): n. pag.
4. Bao, Qi-Bin, Geoffrey M. McCullen, Paul A. Higham, John H. Dumbleton, and Hansen A. Yuan. "The Artificial Disc: Theory, Design and Materials." *Biomaterials* 17.12 (1996): 1157-167. Web.
5. Bayliss, Michael T., Brian Johnstone, and John P. O'Brien. "1988 Volvo Award in Basic Science: Proteoglycan Synthesis in the Human Intervertebral Disc." *Spine* 13.9 (1988): 972-81.
6. Bayliss, M. T., J. P. G. Urban, B. Johnstone, and S. Holm. "In Vitro Method for Measuring Synthesis Rates in the Intervertebral Disc." *Journal of Orthopaedic Research J. Orthop. Res.* 4.1 (1986): 10-17.
7. Chen J, Yan W et al (2004) Static compression induces zonal-specific changes in gene expression for extracellular matrix and cytoskeletal proteins in intervertebral disc cells in vitro. *Matrix Biol* 22(7): 573–583
8. Crock, Henry V., and Hidezo Yoshizawa. "The Blood Supply of the Lumbar Vertebral Column." *Clinical Orthopaedics and Related Research* &NA; 115 (1976): n. pag.

9. Dahia, Chitra Lekha, Eric J. Mahoney, Atiq A. Durrani, and Christopher Wylie. "Intercellular Signaling Pathways Active During Intervertebral Disc Growth, Differentiation, and Aging." *Spine* 34.5 (2009): 456-62.
10. Daily, James W., and Donald R. F. Harleman. *Dinámica De Los Fluidos: Con Aplicaciones En La Ingeniería*. Mexico: Centro Regional De Ayuda Tecnica, Agencia Para El Desarrollo Internacional, 1969.
11. Díaz-Blázquez, P., and A. Fuster-Puigdomenech. "Fracturas De Columna Vertebral Estables. Variaciones Epidemiológicas Y Clínicas Entre Los Años 1993 Y 2003." *Rehabilitación* 41.2 (2007): 61-66.
12. Ehlers, W., N. Karajan, and B. Markert. "An Extended Biphasic Model for Charged Hydrated Tissues with Application to the Intervertebral Disc." *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology Biomech Model Mechanobiol* 8.3 (2008): 233-51.
13. Fernstrom, U. "Book Review: Lumbar Discography." *Acta Radiologica* 4.4 (1966): 478.
14. Fierro, Abelardo Abelardo. "Valoración de las sollicitaciones en flexión en tibia con diferente configuración de fijador externo tipo Charley-Müller: Estudio biomecánico". UNAM, Hospital General del Estado de Sonora. 2015.
15. Gan, Jean C., Paul Ducheyne, Edward J. Vresilovic, William Swaim, and Irving M. Shapiro. "Intervertebral Disc Tissue Engineering I: Characterization of the Nucleus Pulposus." *Clinical Orthopaedics and Related Research* 411 (2003): 305-14.
16. Hwang, David, Adam S. Gabai, Miao Yu, Alvin G. Yew, and Adam H. Hsieh. "Role of Load History in Intervertebral Disc Mechanics and Intradiscal Pressure Generation." *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology Biomech Model Mechanobiol* 11.1-2 (2011): 95-106.

17. Inkinen RI, Lammi MJ, Lehmonen S, Puustjarvi K, Kaapa E, Tammi MI Relative increase of biglycan and decorin and altered chondroitin sulfate epitopes in the degenerating human intervertebral disc. *J Rheumatol* (1998) 25:506–514
18. Inoue, Hajime. "Three-Dimensional Architecture of Lumbar Intervertebral Discs." *Spine* 6.2 (1981): 139-46.
19. Ishihara, Hirokazu, Haruo Tsuji, Norikazu Hirano, Hiroshi Ohshima, and Nobuo Terahata. "Effects of Continuous Quantitative Vibration on Rheologic and Biological Behaviors of the Intervertebral Disc." *Spine* 17 (1992): 7-12.
20. Kapandji, I.A, and María Torres Lacomba. *Cuadernos De Fisiología Articular. III, Tronco Y Raquis*. Madrid: Panamericana, 1998.
21. Koeller W, Funke F et al (1984) Biomechanical behavior of human intervertebral discs subjected to long lasting axial loading. *Biorheology* 21(5):675–686
22. Kuo, Ya-Wen, and Jaw-Lin Wang. "Rheology of Intervertebral Disc." *Spine* 35.16 (2010): n. pag.
23. Leatt P, Reilly T et al (1986) Spinal loading during circuit weight-training and running. *Br J Sports Med* 20(3):119–124
24. López H., Oscar Javier, and Karem Tatiana Pinto Rambaúth. "Estudio Reológico de los Fluidos Viscoelásticos Surfactantes Utilizados en Operaciones de Fracturamiento Hidráulico". Universidad Industrial de Santander, Facultad de Ciencias Fisicoquímicas, Escuela de Ingeniería de Petróleos Bucaramanga. 2011.
25. Malkin, Aleksandr IĀkovlevich. *Rheology Fundamentals*. Toronto: ChemTec Pub., 1994.
26. Mezger, Thomas G. *Applied Rheology: With Joe Flow on Rheology Road*. Anton-Paar, 2014.

27. Mezger, Thomas G. *The Rheology Handbook*. Hannover: Vincentz Network, 2014.
28. Moore, R. J. "The Vertebral End-plate: What Do We Know?" *European Spine Journal* 9.2 (2000): 92-96.
29. Mott, Robert L., Javier Enríquez Brito, and Javier León Cárdenas. *Mecánica De Fluidos*. México: Prentice-Hall, 2006.
30. Mwale F, Roughley P, Antoniou J Distinction between the extracellular matrix of the nucleus pulposus and hyaline cartilage: a requisite for tissue engineering of intervertebral disc. *Eur Cell Mater* (2004) 8:58–63, discussion 63–54.
31. Neira, Jorge., Carlos Distéfano. “*Pautas para la evaluación de las lesiones de Columna Vertebral en Pacientes Traumatizados*”. *Revista Argentina de Medicina y Cirugía del Trauma*.
32. Nordin, Margareta, and Victor H. Frankel. *Biomecánica Básica Del Sistema Musculoesquelético*. Madrid (España): McGraw-Hill, 2004.
33. Rojas, Orlando., Mabel Briceño y Jorge Avendaño. “*Fundamentos de Reología*”. Mérica, Venezuela: Universidad de los Andes. 2012
34. Saéz, Virginia, Estabaliz Hernáez y Lucio Sanz Angulo. *Liberación controlada de fármacos. Hidrogeles*. Facultad de Ciencias, campus Lejona, Universidad del País Vasco, Vizcaya, España *Revista Iberoamericana de Polímeros*. Volumen 4(1), Enero 2003.
35. Schramm, Gebhard. *A Practical Approach to Rheology and Rheometry*. Federal Republic of Germany: Haake, 1994. Print.
36. Shapiro, Irving M., and Makarand V. Risbud. "Introduction to the Structure, Function, and Comparative Anatomy of the Vertebrae and the Intervertebral Disc." *The Intervertebral Disc* (2013): 3-15.

37. Shikinami, Y., Y. Kotani, B. W. Cunningham, K. Abumi, and K. Kaneda. "A Biomimetic Artificial Disc with Improved Mechanical Properties Compared to Biological Intervertebral Discs." *Adv. Funct. Mater. Advanced Functional Materials* 14.11 (2004): 1039-046.
38. Shirazi-Adl A (1994) Nonlinear stress analysis of the whole lumbar spine in torsion-mechanics of facet articulation. *J Biomech* 27: 289–299
39. Shirazi-Adl A (2006) Analysis of large compression loads on lumbar spine in flexion and torsion using a novel wrapping element. *J Biomech* 39:267–275
40. Shirazi-Adl A, Ahmed AM, Shrivastava SC (1986a) A finite element study of a lumbar motion segment subjected to pure sagittal plane moments. *J Biomech* 19:331–350
41. Shirazi-Adl A, Ahmed AM, Shrivastava SC (1986) Mechanical response of a lumbar motion segment in axial torque alone and combined with compression. *Spine* 11:914–927
42. Sowa GA, Coelho JP et al (2011b) Alterations in gene expression in response to compression of nucleus pulposus cells. *Spine J* 11(1):36–43.
43. Streeter, Victor Lyle, E. Benjamin. Wylie, and Keith W. Bedford. *Mecánica De Fluidos*. Santafé De Bogotá: McGraw Hill, 2000.
44. Terahata, N., H. Ishihara, H. Ohshima, N. Hirano, and H. Tsuji. "Effects of Axial Traction Stress on Solute Transport and Proteoglycan Synthesis in the Porcine Intervertebral Disc in Vitro." *European Spine Journal Eur Spine J* 3.6 (1994): 325-30.
45. Traynelis, Vincent C. "Spinal Arthroplasty." *Neurosurgical FOCUS* 13.2 (2002): 1-7.
46. Villarreal, Arroyo Manuel. "Fracturas toracolumbares postraumáticas (epidemiología e historia)". [www.medigraphic.org.mx](http://www.medigraphic.org.mx). Volumen 6, Número 2. (2010)

47. Wang P, Yang L et al (2011) Nucleus pulposus cell response to confined and unconfined compression implicates mechano regulation by fluid shear stress. *Ann Biomed Eng* 39(3):1101–1111
48. Wenger KH, Woods JA et al (2005) Matrix remodeling expression in annulus cells subjected to increased compressive load. *Spine (Phila Pa 1976)* 30(10):1122–1126
49. Yu, Jing, C. Peter, Sally Roberts, and Jill P. G. Urban. "Elastic Fibre Organization in the Intervertebral Discs of the Bovine Tail." *J Anatomy Journal of Anatomy* 201.6 (2002): 465-75.

