



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE INGENIERÍA

MÉTODOS PARA EL ANÁLISIS DE
LA MICROESTRUCTURA Y
PROPIEDADES MECÁNICAS DEL
HUESO ESPONJOSO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERO MECÁNICO

P R E S E N T A:

MÓNICA YADIRA NARVÁEZ
CLEMENTE

DIRECTOR DE TESIS

M. en I. SARA MERCEDES CERRUD SÁNCHEZ



CD. UNIVERSITARIA

2004



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Mónica Yadira
Narváez Clemente

FECHA: 6 - octubre - 2004

FIRMA: 

Dedicado a:

mi familia, especialmente a

mis padres, Hugo y Rebeca, por quererme tanto;

hermanos, Hugo y Rebeca, por estar siempre conmigo;

*a mis tías Reyna y Efigenia por lo mucho que me
han apoyado toda mi vida*

*y a todos aquellos que aunque no mencione sus nombres
saben que son una parte importante en mi vida.*

AGRADECIMIENTOS

A mi directora de tesis la M. en I. Sara Cerrud Sánchez por permitirme ser parte de este proyecto y por apoyarme durante el desarrollo de esta tesis, sin su dirección y entusiasmo difícilmente hubiera sido posible la realización de este proyecto.

Al Dr. Armando Ortiz Prado por la confianza y el apoyo que me brindo a lo largo de toda la carrera.

A la DGAPA por los fondos proporcionados al proyecto “Desarrollo de un modelo micromecánico para la predicción de las propiedades del hueso humano” (PAPIIT IN107702), del que forma parte este trabajo.

Al Sr. Juan José Ramírez Estrada, del Laboratorio de Yacimientos Minerales, por el apoyo facilitado en la preparación de muestras de hueso y al Ing. Juan Carlos Cruz Ocampo por la obtención de imágenes de microscopía óptica; ambos adscritos al Departamento de Geología de la Facultad de Ingeniería.

Al Dr. Víctor Manuel Domínguez del Laboratorio de Biomecánica del Centro Nacional de Rehabilitación por los artículos proporcionados que permitieron ampliar la información contenida en el trabajo.

A mis sinodales: Dr. Arturo Barba Pingarrón, Dr. Rafael Schouwenaars Franssens y al M. en I. Víctor Hugo Jacobo Armendáriz por sus valiosos comentarios y sugerencias que contribuyeron a la mejora de este trabajo.

Al Biol. Germán Álvarez Lozano, que trabajó en la obtención de imágenes en el microscopio electrónico de barrido, así como al equipo de trabajo de la UDIATEM: Ing. Edgar Isaac Ramírez Díaz, Ing. Efraín Ramos Trejo, Ing. Ignacio Cueva Güitrón, Ing. Jorge Luis Romero Hernández, Ing. Roberto Cisneros Hernández y Francisco Sánchez Pérez, por el apoyo que proporcionaron en distintas etapas del proyecto.

Al Ing. Alfredo Arenas González, tutor del Programa de Alto Rendimiento Académico, por escucharme siempre y haber sido una guía a lo largo de la carrera.

Al Ing. Pablo García y Colomé, coordinador del Programa de Alto Rendimiento Académico por lograr que mi estancia en el programa fortaleciera mi formación como ingeniero.

A Lidia Delgado, del Programa de Alto Rendimiento Académico, por alentarme a concluir mis estudios y continuar con el posgrado, pero sobretodo por ser una gran amiga.

A la Facultad de Ingeniería, por su dedicación a la formación de los ingenieros que requiere nuestro país.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de ser una parte integral del desarrollo y crecimiento de México.

PRÓLOGO

En los últimos años se ha desarrollado la investigación en el área biomédica. El incremento de la esperanza de vida del ser humano provoca una mayor incidencia de patologías y fracturas óseas en la población adulta y en respuesta a estas necesidades se requiere optimizar el diseño de prótesis, implantes y sustitutos óseos.

Una forma de alcanzar esta optimización se logra con la obtención de modelos numéricos que representen de forma mas fiable el comportamiento mecánico del hueso, ya que muchos de los diseños que se realizan hoy en día se prueban, en un inicio, mediante paquetería de cómputo. En estos paquetes es necesario ingresar valores tanto dimensionales como de propiedades mecánicas, de la consistencia de estos valores depende la confiabilidad de los diseños que se pretenden validar.

Un caso particular se observa en el diseño de prótesis. Actualmente para el diseño de estas prótesis es común el uso de paquetería de elemento finito para evaluar los esfuerzos y deformaciones en la estructura. Dentro de este análisis se considera muchas veces que el hueso es un cilindro sólido de comportamiento lineal e isotrópico con propiedades elásticas similares a las de un polímero. Este comportamiento está muy idealizado y conduce a resultados alejados de la realidad.

El desarrollo de modelos numéricos se efectúa previo a las pruebas físicas con el fin de disminuir los costos en tiempo y materias primas. El ejecutar pruebas en cada diseño o prototipo es muy costoso y en muchos casos un análisis numérico evita desperdiciar estos recursos, obteniendo a la vez buenos resultados. Además de que ejecutar pruebas in vivo implica riesgos para el paciente que utilizando modelos pueden reducirse.

La Ingeniería Mecánica, y específicamente el área de materiales, se encarga en muchos casos de la elaboración de este tipo de estudios debido a que la función primordial del hueso es servir como estructura de soporte y esto lleva a que la condición principal que debe de satisfacer un material que sustituya al hueso es contar con propiedades mecánicas equivalentes.

Es por esto que el propósito de este trabajo es aplicar las herramientas de la Ingeniería de Materiales al análisis del hueso estableciendo métodos y procedimientos para su análisis con el fin de proporcionar un conocimiento fundamentado acerca de su comportamiento.

Con estas herramientas se obtuvieron resultados que permitirán seguir con el desarrollo del proyecto con lo que se cumplió el objetivo principal de su elaboración.

Además de esto se lograron innovaciones en la observación de estructuras en bajos potenciales dentro de la microscopía electrónica de barrido.

Todos estos logros constituyen avances en la caracterización de materiales y proporcionan nuevos caminos para el desarrollo de la ciencia en México.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1. <i>BIOLOGÍA Y MORFOLOGÍA DEL HUESO</i>	4
Introducción	4
1.1 Estructuras óseas	5
1.1.1 Hueso cortical	6
1.1.2 Hueso esponjoso	8
1.1.3 Células óseas	9
1.2 Matriz ósea	9
1.2.1 Colágeno	10
1.2.2 Fase mineral	11
1.3 Dimensiones de las estructuras	13
CAPÍTULO 2. <i>MODELADO DEL COMPORTAMIENTO MECÁNICO DEL HUESO</i>	14
Introducción	14
2.1 Materiales compuestos	15
2.2 Mecánica de medios continuos	16
2.2.1 Caracterización del hueso	16
2.2.2 Mecánica de medios porosos	20
2.2.3 Modelos micromecánicos	21
2.3 Aplicaciones de modelado por el método de elementos finitos	24

CAPÍTULO 3. MICROESTRUCTURA DEL HUESO ESPONJOSO	26
Introducción	26
3.1 Análisis de la morfología ósea	27
3.1.1 Microscopía óptica	28
3.1.2 Microscopía electrónica de barrido	29
3.2 Parámetros de la arquitectura del hueso esponjoso	31
3.2.1 Densidad	32
3.2.2 Densidad aparente	33
3.2.3 Porosidad	33
3.2.4 Fracción volumétrica	34
3.2.5 Longitud de intersección principal	34
3.2.6 Métodos Ad Hoc	35
3.3 Preparación de muestras	35
3.3.1 Microscopía óptica	36
3.3.2 Microscopía electrónica de barrido	39
3.4 Imágenes de la microestructura del hueso esponjoso	39
CAPÍTULO 4. PROPIEDADES MECÁNICAS DEL HUESO ESPONJOSO	44
Introducción	44
4.1 Propiedades mecánicas	45
4.2 Pruebas mecánicas	48
4.2.1 Ensayo de compresión	48
4.3 Preparación de muestras	50
4.3.1 Hidratación del hueso	50
4.3.2 Temperatura	51
4.3.3 Velocidad de deformación	51
4.3.4 Corte de probetas	51
4.4 Realización de pruebas	51
4.5 Resultados	53
CONCLUSIONES	58
GLOSARIO	63
REFERENCIAS	65

INTRODUCCIÓN

Este trabajo forma parte de las actividades del proyecto “Desarrollo de un modelo micromecánico para la predicción de las propiedades del hueso humano”. Este proyecto se desarrolla en la Unidad de Investigación y Asistencia Técnica en Materiales de la Facultad de Ingeniería, con el apoyo de la DGAPA a través del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT-IN107702-3).

El objetivo de este proyecto es encontrar, a partir de modelos, una forma de predecir las propiedades mecánicas del hueso. Para lograr esto se centra en la obtención de modelos micromecánicos cuyas propiedades se obtienen a partir de observaciones bajo el microscopio y mediante ensayos mecánicos. Esto lleva a la generación de modelos que son susceptibles de análisis numérico con paquetería de elemento finito.

Para resolver estos modelos numéricos es necesario proveer al paquete los datos relativos a las propiedades mecánicas y dimensiones del modelo. Tanto las propiedades mecánicas como las dimensionales no son fáciles de obtener; las características del hueso que lo hacen una estructura biológica altamente compleja dificultan la aplicación de los protocolos tradicionales que se utilizan para otros materiales estructurales.

En respuesta a la necesidad de evaluar las características morfológicas y las propiedades mecánicas del hueso esponjoso se estructuró este trabajo, cuyo objetivo principal es aplicar las técnicas de microscopía al análisis de hueso para mediciones morfológicas precisas y aplicar las técnicas experimentales para el análisis de esfuerzos, ambas sobre hueso esponjoso vertebral y con las limitantes de que se trate de un material poroso.

Algunas limitantes que se encontraron en la realización de esta investigación fueron la poca disponibilidad de huesos humanos y el protocolo que exige su utilización. Debido a esto todas las pruebas se realizaron en hueso de porcino o bovino, sin por esto limitar la aplicación de la metodología a huesos de otros mamíferos.

Este trabajo se justifica debido a la creciente demanda de prótesis, implantes y sustitutos óseos en la población mayor, cuyo diseño obedece a criterios cada vez mas estrictos para mejorar su desempeño. Además de esto, en nuestro país la investigación dedicada a dichos temas no es muy amplia y los pocos casos que existen se encuentran principalmente en hospitales y centros de rehabilitación.

Dentro de estos lugares se desarrollan implantes y prótesis, pero no se ha investigado mucho acerca de la forma en que se considera el comportamiento del hueso para estos diseños. En gran parte esto se debe a la complejidad en caracterizar el comportamiento del hueso, al ser el resultado de una gran cantidad de factores tanto mecánicos como biológicos. En respuesta, con este trabajo se proporciona un avance en la investigación de la microestructura del hueso esponjoso en México, a la vez que provee información para un proyecto específico que busca predecir el comportamiento mecánico del hueso.

Dado que en el área de ingeniería mecánica no es común el uso de los términos relativos al hueso, se dedicó el primer capítulo a la descripción de la biología y morfología del hueso con el objetivo de entender la interacción de los componentes orgánicos e inorgánicos para optimizar la función estructural del hueso.

El segundo capítulo se dedica a un análisis de los métodos que existen para modelar el hueso con el fin de determinar que características deben ser evaluadas. El tercer capítulo se encarga del análisis de la morfología y el cuarto del de las propiedades mecánicas. Esto debido que en la literatura se reportan la microestructura y las propiedades mecánicas del tejido como los determinantes del comportamiento mecánico del hueso.

Como último capítulo se presentan las conclusiones de este trabajo, en las que se discuten los resultados obtenidos y se proponen algunas líneas para investigaciones posteriores.

CAPÍTULO 1

BIOLOGÍA Y MORFOLOGÍA DEL HUESO

Introducción

El hueso es un tipo de tejido conectivo especializado característico por su rigidez y dureza como producto de las sales minerales impregnadas en su estructura. Además de esto es un material autorreparable capaz de adaptar su masa, forma y propiedades a los cambios en los requerimientos mecánicos y metabólicos.

Dentro del sistema esquelético el hueso cumple cinco funciones principales: *protección, almacenamiento, soporte, movimiento y regulación iónica*; estas funciones lo hacen un tejido de importancia metabólica pero principalmente biomecánica.

El análisis de este trabajo se enfoca en el comportamiento mecánico del hueso sin considerar los aspectos dinámicos de la formación, resorción y remodelado, basado en que las propiedades determinantes de este comportamiento son la composición y arreglo estructural.

1.1 Estructuras óseas

Las estructuras macroscópicas que forma el tejido óseo son los huesos que pueden ser clasificados en:

- a) **largos**, con una dimensión sustancialmente mayor (ej. tibia y fémur);
- b) **cortos**, con sus tres dimensiones similares (ej. vértebra y tarso);
- c) **planos** con una dimensión mucho menor a las otras (ej. escápula y huesos de la cara).

Un esquema típico de hueso largo (figura 1.1) proporciona información acerca de cómo se distribuyen los diferentes tipos de tejido óseo. Los huesos largos presentan una estructura compuesta de un eje central largo y cilíndrico (diáfisis), dos extremos anchos redondeados (epífisis) y dos regiones cónicas (metáfisis) que conectan la epífisis con la diáfisis.

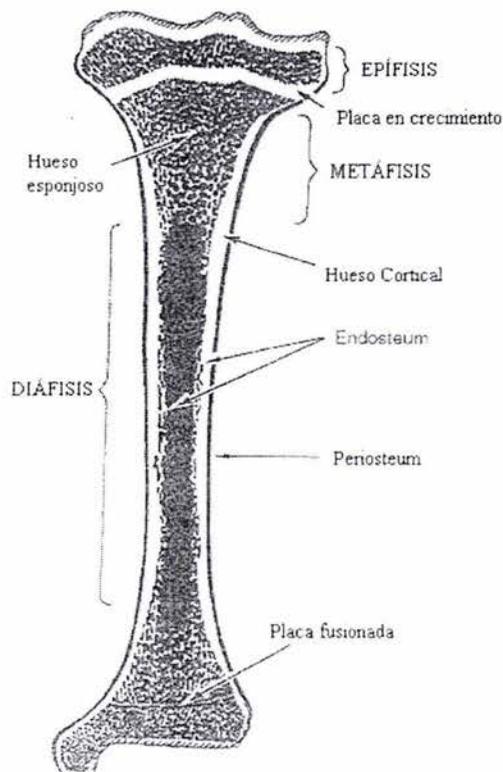


Fig. 1.1 Esquema de un hueso largo
(Cowin, Stephen ed. Bone Mechanics Handbook. CRC Press. EUA. 2001)

La diáfisis, proporciona resistencia a la torsión y a la flexión, además de que está formada por hueso cortical denso en forma tubular de pared gruesa. La metáfisis, formada por hueso trabecular casi exclusivamente, permite que se presenten grandes deformaciones bajo la misma carga, se ensancha para formar las articulaciones y ayuda a absorber los impactos que se aplican a través de las articulaciones (Cowin, 2001).

Esta diferenciación en funciones de los tejidos se explica por el arreglo estructural del tejido que compone ambas partes. Este arreglo microestructural, puede ser en hueso compacto o hueso esponjoso como se observa en la figura 1.2.

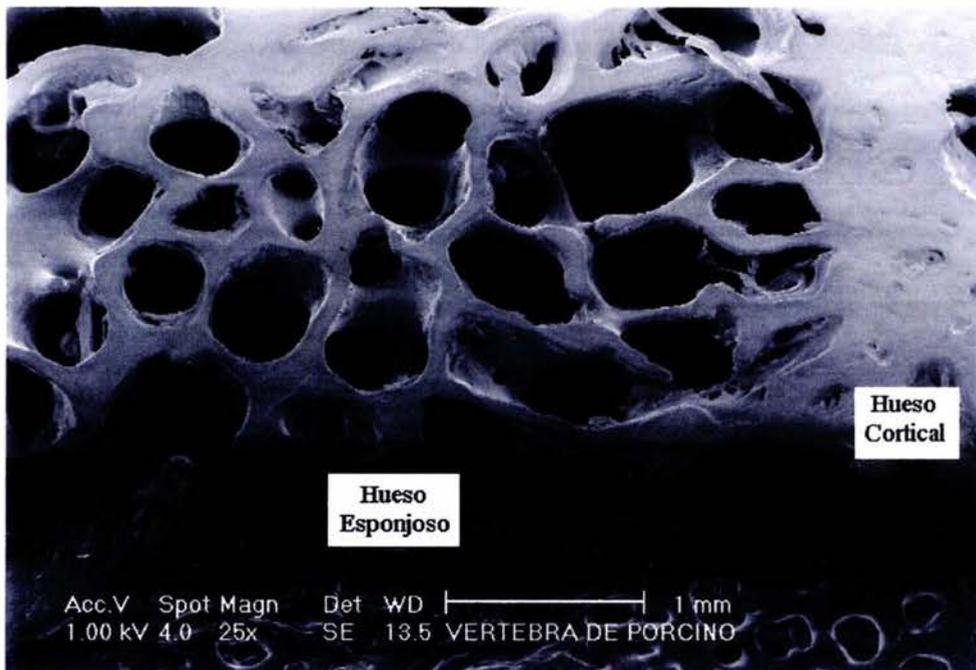


Fig. 1.2. Imagen del corte de un hueso, electrones secundarios 25x

1.1.1 Hueso cortical

El hueso cortical es una masa sólida y densa con solo unos canales microscópicos. Con una porosidad de aproximadamente 10 % presenta 20 veces menos superficie por volumen que el hueso esponjoso así como células rodeadas en gran parte por la matriz ósea.

Su unidad estructural son los osteones, estos consisten de cilindros (lamelas), que corren longitudinalmente alrededor de la diáfisis y se bifurcan irregularmente. La pared de un osteón está formada por un promedio de 20 a 30 lamelas.

Un osteón con su canal central (canal haversiano) recibe el nombre de sistema haversiano, Estos canales (de Havers) miden de 30 a 70 μm de diámetro y contienen vasos sanguíneos, linfáticos, nervios y tejido conjuntivo. En la figura 1.3 se muestra un diagrama de las estructuras óseas que corresponden al hueso cortical mostrando como se acomodan estos canales.

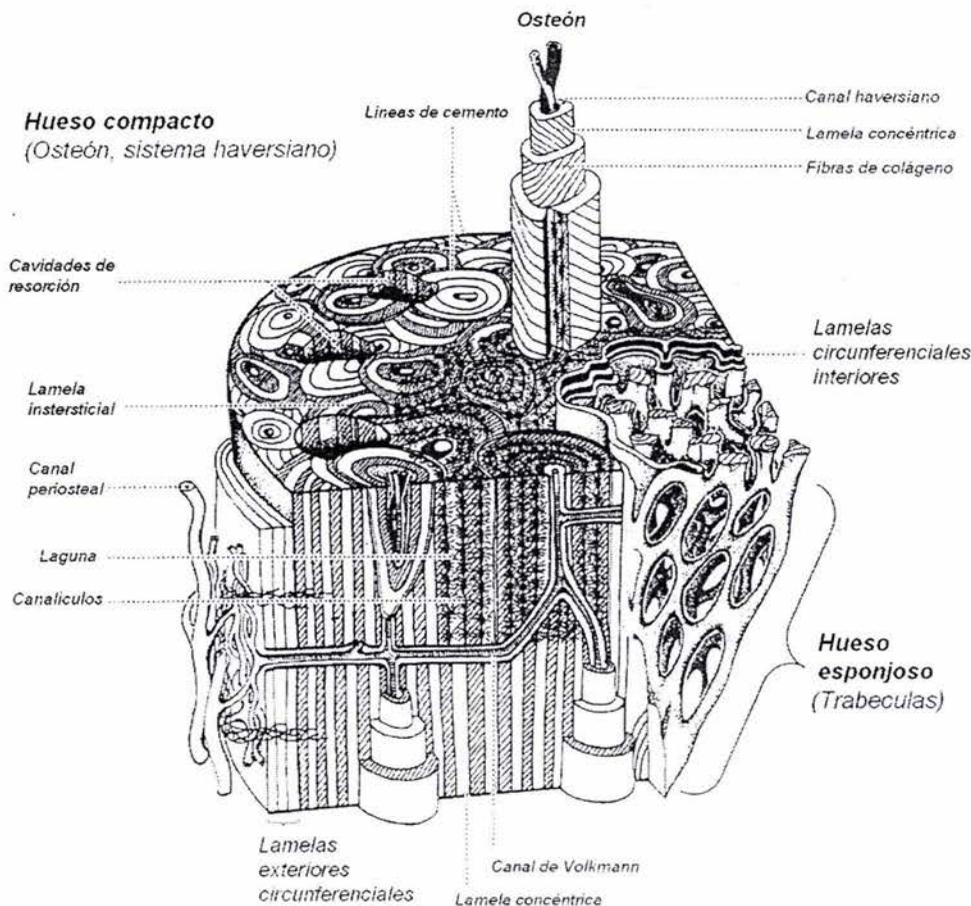


Fig. 1.3 Diagrama de las estructuras óseas en el hueso cortical

(Weiss, L. ed. *Cell and Tissue Biology: A Text of Histology*. Urban and Schwarzenberg. EUA. 1988)

Además de los canales haversianos existen canales oblicuos (canales de Volkmann) que se conectan a los primeros formando una compleja red interna que conecta la superficie

exterior del hueso con la interior. La orientación longitudinal de los canales haversianos (figura 1.3) explica la mayor resistencia en tracción y compresión de la diáfisis cuando se carga perpendicular a su eje.

1.1.2 Hueso esponjoso

Por su parte el hueso esponjoso, también llamado poroso o trabecular consiste en una red de placas y barras conectadas que reciben el nombre de trabéculas (figura 1.3). Tiene la misma composición que el hueso cortical pero una porosidad que va del 50 al 90%. Sus células óseas se sitúan entre lamelas o en la superficie de las trabéculas donde pueden ser directamente influenciadas por la médula. Parece ser más activo metabólicamente y de respuesta más rápida a las cargas.

La mayoría de las trabéculas tienen un espesor menor a 0.2 mm y no contienen vasos sanguíneos. Cada trabécula se compone de un mosaico de segmentos angulares que reciben el nombre de paquetes trabeculares y son la unidad estructural del hueso esponjoso. Estos paquetes se componen de hojas paralelas de lamelas unidas por líneas de cemento al igual que en el hueso cortical. En el caso de trabéculas de espesor mayor a 0.2 mm suelen aparecer estructuras similares a los osteones (hemiosteones).

Entre los dos tipos de hueso existen diferencias en desarrollo, arquitectura, función, proximidad a la médula, suministro sanguíneo, rapidez de generación y, a lo largo de la vida, en cambios y fracturas. En el cuadro 1.1 se resumen algunas de las diferencias más importantes.

La distribución del hueso esponjoso y del cortical varía de acuerdo al hueso del que se trate. El hueso cortical se localiza principalmente en la diáfisis de los huesos largos y el esponjoso en las epífisis. La proporción dentro del esqueleto de cada tipo de hueso (cuadro 1) no se aplica a los huesos individuales, ya que un hueso largo puede llegar a tener 90% de hueso cortical y solo 10% de trabecular, mientras que en otros, como la vértebra esta proporción es del 62 y 38% respectivamente.

Cuadro 1.1

Características comparativas entre el hueso esponjoso y el hueso cortical.

	Cortical	Esponjoso
Masa del esqueleto	80%	20%
Superficie de hueso	33%	67%
Tejido suave	~10%	~75%
Porosidad	Baja	Alta
Médula	Grasa	Hematopoyética
Tejido suave principal	Víscera	Médula
Funciones principales	Biomecánica: de soporte y protección	Homeostasis mineral y también de soporte

(Cowin, Stephen ed. *Bone Mechanics Handbook*. CRC Press. EUA. 2001)

Esta clasificación en hueso esponjoso y compacto es solo morfológica ya que ambos tejidos tienen la misma composición. A pesar de esto es la más importante ya que el principal efecto del cambio de morfología se genera en las propiedades mecánicas.

1.1.3 Células óseas

En cuanto a estructuras biológicas, las células óseas constituyen del 1 al 5% del volumen total del hueso y no afectan sensiblemente las propiedades mecánicas del hueso. Las células óseas son: osteoclastos, osteoblastos, células de revestimiento óseo y osteocitos, su importancia es funcional ya que extraen las materias primas de la circulación, las procesan en su citoplasma y depositan la secreción como producto terminado; este producto es la matriz orgánica que forma al hueso. Posteriormente se encargan de absorber el hueso con el fin de renovarlo.

1.2 Matriz ósea

El hueso consiste de 65% de minerales, 35% de matriz orgánica, células y agua: Por su parte esta matriz orgánica se forma en un 90% de matriz ósea (colágeno y sustancia amorfa) y el 10% restante lo constituyen células, vasos sanguíneos y prolongaciones celulares.

Esta matriz orgánica está constituida en un 90% por una proteína fibrosa (colágeno) y el resto es un medio homogéneo denominado sustancia amorfa fundamental cuya función es servir como medio de adhesión entre fibras y cristales minerales.

1.2.1 Colágeno

El colágeno que forma el tejido óseo es predominantemente del tipo I con pequeñas cantidades del tipo V y XII. La composición del colágeno se basa en proteínas que forman cadenas. Las cadenas de polipéptidos forman grupos de tres y se enrollan entre sí para formar lo que se conoce como estructura de triple hélice (figura 1.4).

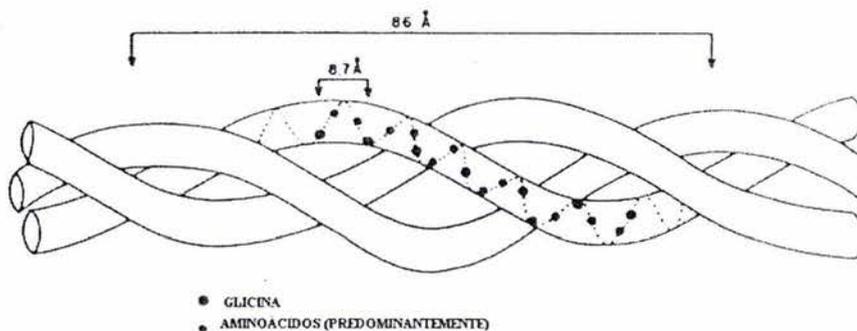


Fig. 1.4. Diagrama del arreglo de triple hélice del colágeno.

(Fung, Yuang-Chen. Biomechanics: mechanical properties of living tissues. 2ª ed. Springer. EUA. 1993)

De esta forma se constituye la macromolécula de colágeno y la unión de varias de estas macromoléculas forma las fibrillas colágenas. Las fibrillas colágenas presentan estriaciones periódicas que pueden observarse con microscopía electrónica, por lo que se ha observado que el diámetro que presentan estas fibrillas va de 20 a 40 nm.

Estas dimensiones dependen de la especie y del tejido que se observa ya que el colágeno aparece en prácticamente cualquier tejido del cuerpo, desde el hueso y la piel hasta en ligamentos y tendones.

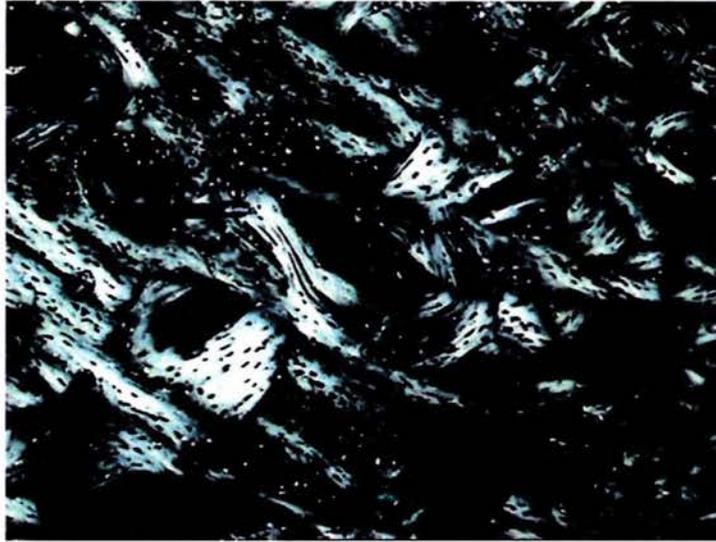


Fig. 1.5. Hueso cortical de porcino bajo, luz polarizada 10x

Las fibras que se forman con los conjuntos de estas fibrillas tienen diámetros de 0.2 a 12 μ m. En un microscopio óptico no se aprecian hasta que se usan polarizadores cruzados, ya que son birrefringentes bajo este tipo de luz (figura 1.5).

1.2.2 Fase mineral

La matriz inorgánica o fase mineral tiene como funciones principales servir como reserva de iones y proporcionar al hueso casi toda su rigidez y resistencia.

El mineral más abundante en el hueso es la hidroxiapatita (HA), este es un fosfato de calcio que presenta una estructura cristalina perteneciente al grupo de las apatitas. Su estructura cristalina puede describirse como un empaquetamiento hexagonal compacto de átomos de oxígeno con los metales ocupando los huecos tetraédricos y octaédricos (figura 1.6).

Esta estructura se asemeja a la de la fluorapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$) a la que de forma general se les atribuye simetría hexagonal. Sin embargo la HA presenta una simetría mas baja, monoclinica, debido a la distorsión del ion OH respecto al modelo ideal de la fluorapatita. A pesar de esto a la HA se le considera con la estructura de la fluorapatita y con parámetros de red $a=b=9.418$ y $c=6.884$, $\alpha=\beta=90^\circ$ y $\gamma=120^\circ$, $Z=2$. Este paralelepípedo de base

romboidal contiene 10 iones de calcio, 6 de fosfato y 2 de oxidrilo, por lo que su fórmula química es: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (Sastre, 2004).

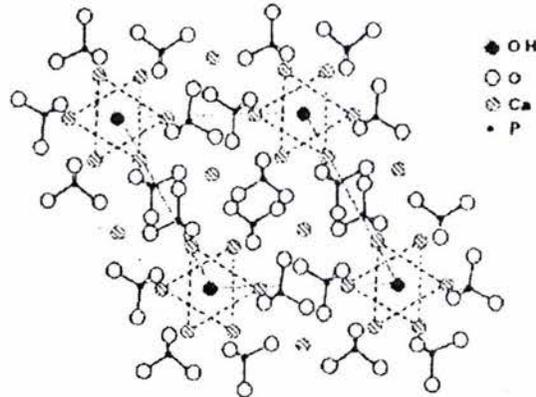


Fig. 1.6. Estructura cristalina de la hidroxiapatita proyectada sobre el plano 0001
(Sastre, R. et al. *Biomateriales*. Faenza Editrice Ibérica, 2004)

Este mineral se presenta en cristales de 200 a 700 Å de largo por 30 a 50 de espesor, que pueden aparecer en forma de agujas, placas o barras. Estos cristales están atrapados entre las fibras de colágeno por lo que la orientación de éstas determina las de los cristales. El eje mayor de los cristales es aproximadamente paralelo al de las fibras con una ligera angulación. Se distribuyen regularmente en intervalos de 600 a 700 Å y son estabilizados por una sustancia cementosa amorfa que se compone de proteínas.

Los iones más abundantes son fosfato, calcio, oxidrilo, carbonato y citrato, pero también existen pequeñas cantidades de sodio, magnesio, potasio, cloro y flúor, incluso puede haber trazas de iones radiactivos que recibe el organismo como el estroncio 90 y el radio.

Algunas de estas impurezas se incorporan en el borde o en la superficie de los cristales y otras como los iones carbonato sustituyen a los iones de la molécula principal (HA). En el caso específico del carbono se obtiene carbohidroxiapatita y se trata de una sustitución muy común entre 4 y 6 % de las moléculas (Currey, 2002).

1.3 Dimensiones de las estructuras

Las estructuras presentes en el hueso se resumen en el cuadro 2 clasificadas a partir de las dimensiones que presentan.

Cuadro 2
Dimensiones de las estructuras óseas

NIVEL	ESTRUCTURA		DIMENSIONES	
0	Huesos		Varios mm	
1	Hueso Cortical	Hueso esponjoso	<3mm	
2	Osteones	Trabéculas	75 a 200	100 a 300
	Hueso intersticial	Paquetes trabeculares Hemiosteones	μm	μm
3	Lamelas	Lagunas	1 a 20 μm	
	Canaliculos	Líneas de cemento		
4	Colágeno	Mineral	0.06 a 0.6 μm	
	Compuestos			

Esta clasificación de las estructuras óseas permite establecer la resolución necesaria en el estudio de cada nivel. Al visualizar la superficie de un hueso grande basta la resolución de 1mm, mientras que para el espacio trabecular se necesita hasta 1 μm. Si se requiere analizar la ultraestructura del hueso y la estructura cristalina del mineral la resolución puede ser menor a 0.1μm.

En el caso del hueso esponjoso la resolución de algunas micras es suficiente para analizar la morfología de su estructura por lo que es posible utilizar instrumentos de bajas resoluciones. En este trabajo basta la resolución de unas cuantas micras ya que se considera que las trabéculas están compuestas de un material homogéneo.

Estos niveles muestran además que el hueso es una estructura jerárquica, siendo esta perspectiva la base para algunos modelos que se detallan en el próximo capítulo.

CAPÍTULO 2

MODELADO DEL COMPORTAMIENTO MECÁNICO DEL HUESO

Introducción

El modelado del comportamiento mecánico del hueso humano, con la finalidad de su análisis estructural, ha requerido de la utilización de métodos y tecnología característicos de los materiales de ingeniería; estos a su vez han tenido que ser adecuados en función de las demandas de éste tejido vivo, el cual presenta una elevada complejidad por su estructura, y cuyo comportamiento puede ser estudiado desde diversas perspectivas.

Este capítulo presenta una revisión de las perspectivas mas utilizadas para describir el comportamiento del hueso. A través de la revisión de literatura especializada se estableció que enfoques han proveído los resultados más importantes y algunos nuevos que se encuentran en desarrollo.

Con base en esto se presentan generalidades del modelado del hueso como material compuesto y, con mayor detalle, el modelado con mecánica de medios continuos. Para este

último se desarrolló la caracterización mecánica del hueso desde un sólido viscoelástico y anisotrópico (que es lo más cercano a la realidad) hasta sus diferentes simplificaciones.

Como un aporte adicional se mencionan los usos recientes que se le ha dado al análisis por elemento finito como una herramienta de solución de diversos modelos.

2.1 Materiales compuestos

Un material compuesto es un material que ha sido armado para formar un bloque sin mezclar físicamente los constituyentes en un material homogéneo, lo que se observa en fases identificables.

Bajo esta definición el hueso es un material compuesto y sus propiedades mecánicas dependen de las de sus elementos constituyentes que son, principalmente, una fase mineral de cristales de hidroxapatita y otra de colágeno. A partir de estos elementos se forman estructuras más complejas y las propiedades resultantes dependen de su arreglo incluso a nivel celular.

Esto último hace que el hueso también pueda ser visto como una estructura jerárquica (cuadro 1.2) y debido a esto factible construir un modelo del tejido óseo considerando diferentes arreglos para los diferentes niveles estructurales.

De estos niveles de organización se tiene lo siguiente:

1. Los bloques de construcción básicos son las fibras de colágeno y los cristales de hidroxapatita.
2. Estos bloques están colocadas en una manera ordenada dentro del armazón de colágeno formando las fibras de colágeno mineralizadas.
3. Las fibras mineralizadas están además ordenadas en arreglos paralelos.
4. En el siguiente nivel jerárquico, estos arreglos de fibras de colágeno saturadas de minerales están organizadas dentro de una estructura tridimensional
5. Las lamelas pueden ser además organizadas en estructuras cilíndricas, llamados osteones.

Un modelo compuesto óseo podría ayudar a clarificar el rol que juegan los constituyentes en las patologías del esqueleto, mejor descritas como el decremento o el incremento de la masa esquelética o la mineralización defectuosa. Las enfermedades que interfieren con la habilidad de los iones minerales a ser depositados dentro del colágeno (armazón) producen huesos que se flexionan, pero no necesariamente se rompen.

2.2 Mecánica de medios continuos

El enfoque mas utilizado para el estudio del hueso es la mecánica del medio continuo y para poder aplicar de forma correcta estos conceptos es necesario realizar primero una caracterización del hueso.

Posteriormente se trata la porosidad del hueso, ya que a pesar de los resultados obtenidos bajo la perspectiva de medios continuos, es conveniente considerar que de acuerdo a su morfología el hueso esponjoso está muy lejos de ser un material continuo y que estrictamente debería modelarse como un medio poroso (Cowin, 1999).

Esta porosidad se puede estudiar a partir de la mecánica de medios porosos o considerando que el hueso está construido de celdas formadas por barras y placas de material sólido. Ambos enfoques se abordan en esta sección pero se amplía el estudio de los modelos micromecánicos ya que, de ambos, es él que ha proporcionado resultados mas alentadores.

2.2.1 Caracterización del hueso

Mediante la observación de las estructuras del hueso se puede asumir que es posible considerar al hueso cortical como un material continuo, por el contrario si se hace lo mismo con el hueso esponjoso este supuesto es por demás discutible.

Este problema ha sido abordado por algunos autores para poder establecer una dimensión mínima sobre la cual es factible considerar al hueso esponjoso como un material continuo (Harrigan, 1988). Considerando que la dimensión encontrada es menor que las dimensiones de una probeta de hueso para los ensayos de compresión, el hueso se consideró como un material continuo para el análisis de resultados de los ensayos mecánicos.

Solucionado este problema surge otro: específicamente para el estudio de sus propiedades mecánicas, el hueso puede ser considerado idealmente como un sólido elástico, homogéneo e isotrópico mediante la aplicación de la mecánica de medio. Esta descripción está bastante alejada del comportamiento real pero es una primera aproximación.

A través de pruebas experimentales se ha podido demostrar que el comportamiento del hueso puede ser mejor descrito como el de un sólido poroso, viscoelástico y anisotrópico. Ésta descripción es muy compleja y los problemas relativos a su análisis son numerosos, lo que lleva a la investigación en esta área a través de aproximaciones sucesivas desde el comportamiento homogéneo, elástico e isotrópico hasta el poroso, viscoelástico y anisotrópico.

La primera característica, que es la porosidad se ha estudiado en varios niveles (Cowin, 1999) y como un factor importante en los procesos de transporte de sustancias dentro del hueso (Fyhrie, 1999). En cuanto a una relación importante con las propiedades mecánicas se ha visto que la densidad del hueso esponjoso se relaciona con su resistencia última pero no es el único factor que la determina (Buckwalter, 1995).

En cuanto a la viscoelasticidad del hueso, se ha reportado frecuentemente que a bajas velocidades de deformación (10^{-3} a 10^{-2} s⁻¹) el comportamiento del hueso puede ser descrito como elástico lineal, siendo este rango de deformaciones el que se presenta in vivo (Keaveny, 1994). El comportamiento viscoelástico del hueso está caracterizado por cuatro fenómenos bien definidos: relajación de esfuerzos, deslizamiento, disipación no destructiva de energía e influencia de la velocidad de deformación en la resistencia y rigidez.

Relativo a la isotropía, las aproximaciones que aparecen reportadas en diversas publicaciones son para un sólido ortotrópico (Turner, 1990), y en algunos casos transversalmente isotrópico (Yoon, 2001). Estas simplificaciones solo son posibles para casos particulares de huesos que no presentan un patrón complejo de esfuerzos.

La idealización del hueso como un material ortotrópico es muy útil en el caso del hueso cortical; que tiene arreglos regulares de capas cilíndricas (Liu, 1999), por el contrario, en el hueso esponjoso no es acertada debido al arreglo irregular del tejido de las trabéculas.

Atendiendo a la microestructura de este último es posible considerar que el hueso esponjoso está constituido por una celosía de placas y barras (Gibson, 1985) constituidas por un material sólido, elástico e isotrópico de propiedades similares a las del hueso cortical con el fin de simplificar el análisis (Kim, 2002). Esta descripción corresponde a la de un material celular y diversos estudios han demostrado que el comportamiento del hueso se ajusta a estos materiales (Gibson, 1997), como se podrá ver en la siguiente sección.

A pesar de lo antes expuesto si se considera al hueso como un sólido elástico, su comportamiento se puede representar como:

$$\sigma_{ij} = C_{ijkl} \varepsilon_{kl} \quad \text{ó} \quad \sigma = C\varepsilon \quad (2.1)$$

donde C_{ijkl} es el tensor de constantes elásticas (rango cuatro) y consta de 81 elementos ($n = 3^4$).

Dado que los tensores de esfuerzos y deformación son simétricos y que “C” presenta una simetría de la forma $C_{ijkl} = C_{klij}$ se concluye que en el peor de los casos se pueden tener hasta 21 constantes elásticas linealmente independientes. Sin embargo, los resultados experimentales y el análisis morfológico del hueso indican que bajo cargas normales solo se presentan deformaciones normales y que en sollicitaciones de corte solo existen deformaciones de esta índole. Por tal condición la descripción del comportamiento se ha realizado con base en los siguientes modelos:

a. *Sólido elástico homogéneo lineal e isotrópico (SEHLI)*. Por lo tanto solo existen dos constantes elásticas linealmente independientes.

b. *Sólido elástico, homogéneo lineal y transversalmente isotrópico (SEHLTI)*, como consecuencia se tendrán 5 constantes elásticas linealmente independientes.

c. *Sólido elástico, homogéneo lineal ortotrópico (SEHLO)*, condición para la cual (existen dos planos de simetría), se presentan 9 constantes elásticas linealmente independientes.

El caso de SEHLI ha sido aplicado en el modelado del hueso por diversos autores; sin embargo dado el comportamiento y la morfología éste es el menos congruente con los resultados experimentales. En el comportamiento isotrópico se asume que la anisotropía del tejido tiene un efecto despreciable en las propiedades elásticas aparentes del hueso esponjoso y que es razonable suponer que existe un módulo elástico isotrópico efectivo, el cual algunos autores (Kobel, et. al. 1999) han obtenido a partir de la densidad y grado de mineralización, mientras que en otros casos se propone su obtención a través de la determinación de la velocidad del sonido, situación totalmente discutible dada la morfología del tejido.

En el caso de huesos largos (fémur, tibia, peroné, etc.) se puede aplicar un modelo SEHLTI en donde el eje de isotropía corresponde con el del propio hueso. En el caso del hueso vertebral el modelo elástico que mejor corresponde es el de un SEHLO, ya que en éste las propiedades elásticas varían con los ejes principales, razón por la cual se definen 3 módulos de elasticidad y 3 módulos de rigidez a corte. El modelo ortotrópico (Van Rietbergen, 2001 y Van Rietbergen, et. al. 1996); sin bien parecería muy complejo en realidad representa un equilibrio entre la simplicidad y semejanza del comportamiento general, esto desde luego si se acepta que se trata de un sólido elástico.

La idealización del hueso como un material ortotrópico es muy útil en el caso del hueso cortical, que tiene arreglos regulares de capas cilíndricas, por el contrario, esta simplificación en el hueso esponjoso resulta discutible debido al arreglo irregular del tejido de las trabéculas.

Por último es conveniente considerar que de acuerdo a su morfología, es discutible el análisis del hueso bajo la consideración de medio continuo, esto a pesar del uso que los modelos enunciados tienen en la representación de su comportamiento. Al definir al hueso como un medio continuo, para modelarlo hay que considerar que se trata de un medio poroso, razón por la cual es recomendable hacer las consideraciones definidas para este tipo de medios.

La obtención de las constantes elásticas dependerá del modelo elegido y su grado de complejidad está definido por el número de constantes linealmente independientes. Por otra parte la aparente heterogeneidad del hueso requiere del análisis estadístico de los datos obtenidos.

Otros intentos por caracterizar la anisotropía del hueso se han desarrollado recurriendo a parámetros topológicos y relaciones con la densidad (Odgaard, et. al. 1997; Pietruszczak, et. al. 1999 y Wirtz, et. al. 2001), ya que se ha concluido que su anisotropía es función únicamente de la arquitectura (Van Rietbergen, 2001).

2.2.2 Mecánica de medios porosos

La mecánica de los medios porosos es un enfoque de reciente desarrollo que considera un material compuesto de dos fases, una sólida y otra fluida. Esta teoría tiene sus aplicaciones en el estudio de los suelos y puede ser aplicada al estudio de hueso en varios niveles.

El hueso es una estructura que presenta porosidad en sus distintos niveles estructurales (Cowin, 1999) y las dimensiones y forma de los poros varían dependiendo del nivel estructural, así como el fluido que los satura. Esto debe considerarse para poder aplicar la teoría de mecánica de medios porosos que es un refinamiento de las ecuaciones relativas a la mecánica de medios continuos.

La importancia de considerar este aspecto poroso se puede ver en la interacción entre los fluidos y la matriz rígida que es un factor que determina la nutrición del tejido y su

remodelado. Para la descripción de este comportamiento se han desarrollado modelos de difusión de metabolitos que buscan predecir la pérdida de hueso (Fyhrie, 1999).

Por otra parte la aplicación de la teoría poroelástica, de amplio uso en geomecánica, podría explicar el comportamiento piezoeléctrico del hueso y la existencia de un sistema mecano sensorial dependiente del flujo de fluido.

La estructura porosa del hueso provoca que para su caracterización se requiera una descripción tanto estructural como material, además de que la porosidad es un parámetro importante para evaluar las condiciones de fractura.

2.2.3 Modelos micromecánicos

La curva de esfuerzo vs deformación de un ensayo en hueso esponjoso revela que su comportamiento es típico de un material celular (Gibson, et. al. 1988). Con base en este comportamiento se han desarrollado modelos que idealizan la estructura del hueso esponjoso como un arreglo de celdas de diferentes geometrías formadas por placas y barras.

En función de esto se han construido modelos micromecánicos, que son una analogía de las celdas unitarias, para describir las propiedades macroscópicas del tejido esponjoso a partir de su construcción mediante celdas de diferentes geometrías (Gibson, 1985; Kowalczyk, 2003; Kim, 2002), cuyos parámetros se determinan mediante el análisis de la morfología local del hueso esponjoso y las propiedades mecánicas del tejido esponjoso.

La obtención de las constantes elásticas dependerá del modelo elegido y su grado de complejidad está definido por el número de constantes linealmente independientes. Por otra parte la heterogeneidad del hueso requiere la realización de numerosas pruebas con ciertos parámetros estructurales fijos con el fin de restringir el rango de variación de las propiedades del hueso.

Las propiedades y dimensiones de estas celdas se obtienen de parámetros morfológicos, densidad y propiedades mecánicas del tejido óseo; y la geometría de la celda puede ir desde

cubos hasta prismas hexagonales. Estas geometrías dependen del sitio anatómico que se pretende modelar, ya que el hueso esponjoso presenta arreglos fuertemente influenciados por la distribución de esfuerzos, dichos arreglos se han generado a través de un proceso evolutivo como solución a un problema de optimización de la función mecánica (figura 2.1).

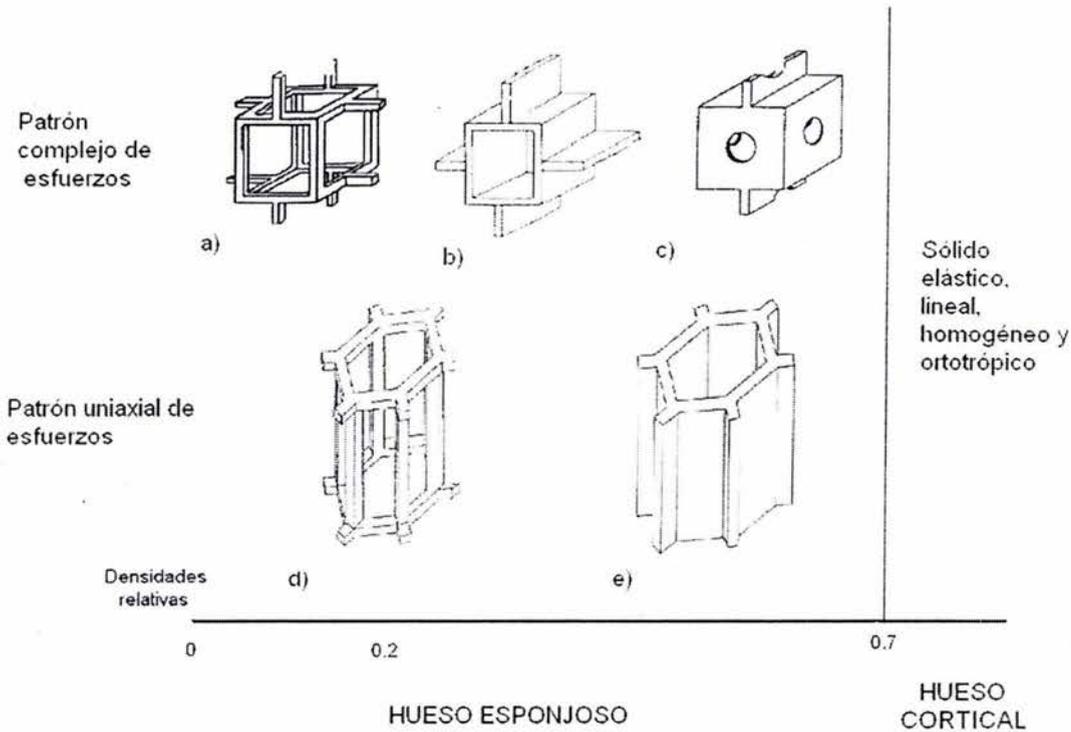


Fig. 2.1 Asignación de modelos micromecánicos en función de la densidad del hueso esponjoso.

La caracterización de estos patrones complejos requiere del estudio de los movimientos y las cargas que soporta cada hueso. Estudios al respecto se han reportado para el fémur, a través de reconstrucciones por computadora comparados con las trayectorias de esfuerzos principales.

En las figuras 2.2 y 2.3 se comparan estructuras reales encontradas en hueso de porcino con los modelos micromecánicos que se sugieren. A partir de estas comparaciones se establece la factibilidad de aplicar estos modelos para determinada localización y tipo de hueso.

La construcción de modelos macroscópicos de hueso a partir de estas estructuras se simplifica mediante el empleo de paquetería para modelado por elemento finito, con la ventaja de que se pueden simular las condiciones carga para los modelos construidos. Las diversas aplicaciones de este software se detallan a continuación.

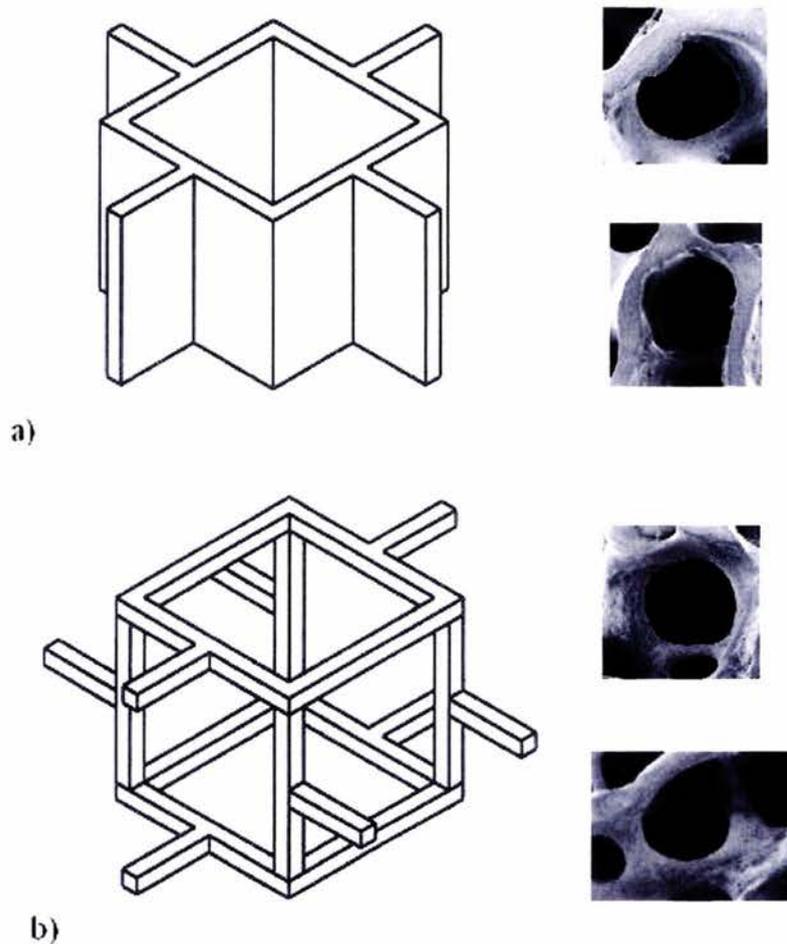


Fig. 2.2. Comparación de modelos micromecánicos cúbicos, cúbico de celda cerrada (a) y cúbico de celda abierta (b) con estructuras reales en el hueso esponjoso

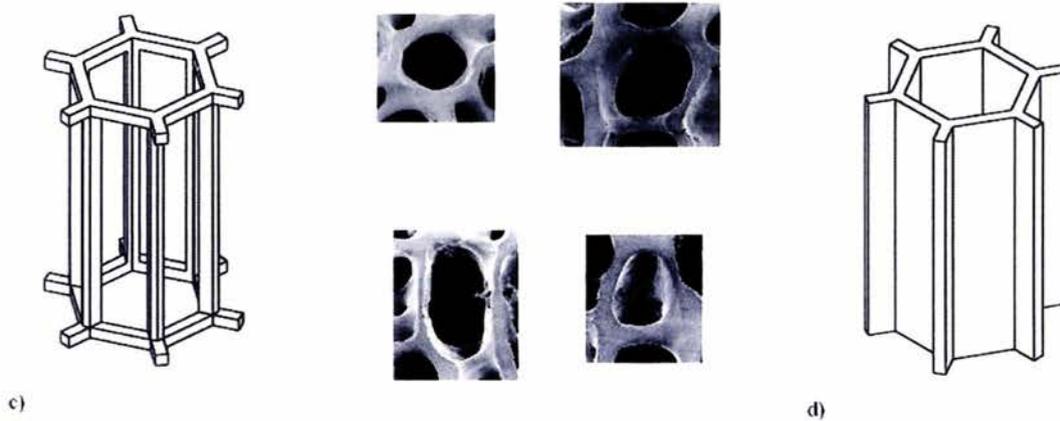


Fig. 2.3. Comparación de modelos micromecánicos prismáticos, hexagonal de celda abierta (c) y hexagonal de celda cerrada (d) con estructuras reales en el hueso esponjoso.

2.3 Aplicaciones de modelado por el método de elementos finitos

En los últimos años el desarrollo en la capacidad de procesamiento de las computadoras ha permitido el análisis numérico de datos y con esto la solución de modelos que antes parecía imposible. Ligadas fuertemente a esta tecnología, las soluciones por el método del elemento finito proveen una herramienta muy útil para el análisis de materiales con estructuras complejas a partir de elementos microestructurales cuyas propiedades son conocidas.

El desarrollo de modelos microestructurales se basa también en la factibilidad de obtención de imágenes con excelente resolución, esto tanto en 2D como 3D, para esto se emplea la tomografía computarizada y la resonancia magnética.

El análisis por elemento finito tiene la ventaja de facilitar la solución de modelos anisotrópicos y puede ser utilizado para calcular las propiedades del tejido a partir de características relativas a su comportamiento en un arreglo poroso macroscópico (Jacobs, et. al. 1999).

Otra tipo de modelos considera, a partir de una imagen en 3D, la segmentación de la estructura en elementos muy pequeños con propiedades similares a las del hueso compacto (Niebur, 2001).

Un resumen de las aplicaciones en biomecánica de esta herramienta se presenta en el artículo de Van Rietbergen, 2001. Esta herramienta ha servido para un desarrollo acelerado de diversas áreas de ingeniería, pero en el caso del hueso su morfología y propiedades mecánicas limitan su uso más que para otros materiales estructurales como se verá en el siguiente capítulo.

CAPÍTULO 3

MICROESTRUCTURA DEL HUESO ESPONJOSO

Introducción

Diversos estudios han demostrado que los parámetros determinantes del comportamiento mecánico del hueso esponjoso son el arreglo de su estructura trabecular y las propiedades del tejido que la compone.

Las propiedades geométricas y espaciales de la trabécula en el hueso esponjoso son conocidas como la arquitectura del hueso esponjoso. Este arreglo trabecular en el hueso esponjoso es aleatorio. Algunas regiones son muy densas, mientras que otras tienen solamente trabéculas esparcidas. Esta variación en la arquitectura es producto de la adaptación a la función mecánica que realiza cada hueso.

En algunas regiones las trabéculas son anchas y planas, mientras que otras regiones están compuestas de trabéculas más finas. Esto da como resultado que parámetros físicos como la densidad combinados con dimensiones de las trabéculas y orientación de las mismas sean de gran importancia.

Con el objetivo de determinar las variables arquitectónicas de dicha estructura se recurre a diversas técnicas para obtención de imágenes en 2D o reconstrucciones en 3D. Las primeras son muy útiles para mediciones precisas y son de fácil obtención, mientras que las segundas a pesar de no ser tan precisas permiten la obtención de parámetros complejos mediante el uso de software de propósito específico.

En un primer apartado de este capítulo se presenta la tecnología que aparece en la literatura para la obtención de imágenes en 2D y 3D. De manera más amplia se describen los equipos que serán utilizados, así como su principio de funcionamiento.

Posteriormente se describen los parámetros que se utilizarán para caracterizar al hueso esponjoso. Algunos son aplicables a otras estructuras y otros se han desarrollado exclusivamente para caracterizar al hueso esponjoso.

Las técnicas que se han utilizado en el desarrollo de este trabajo son: imágenes en 2D por la disponibilidad del equipo y la precisión que proporcionan, a pesar de esto las imágenes de microscopía electrónica de barrido permiten establecer la morfología con una perspectiva cercana a 3D.

3.1 Análisis de la morfología ósea

Para poder hacer un análisis de la morfología del hueso se recurre a técnicas y métodos diversos debido a la complejidad de las estructuras óseas, la variedad de materiales que lo componen y las resoluciones que se requieren para cada nivel estructural.

Las técnicas mas utilizadas incluyen

- Microscopía electrónica de transmisión
- Radiografías y tomografías computarizadas
- Resonancias magnéticas (MRI)
- Microscopía confocal (CLSM)
- Absorsometría de rayos X de energía dual (DEXA)
- Microscopía óptica

- Microscopía electrónica de barrido

La elección de una técnica u otra depende de la característica a observar y de la disponibilidad del equipo, por lo que para los fines de este trabajo se seleccionaron la microscopía óptica y la microscopía electrónica de barrido. Debido a esto se presenta una descripción mas detallada del principio de funcionamiento de cada equipo y características del equipo.

3.1.1 Microscopía óptica

El equipo que requiere es común en la mayoría de los laboratorios y permite el uso de luz reflejada y polarizada. Las muestras deben prepararse como láminas delgadas y pulidas, que permiten la visualización de un plano de la estructura en el que es posible hacer mediciones precisas de longitudes principalmente, además de realizar conteos de estructuras.

Cuando se usa la luz reflejada se obtienen imágenes de planos de corte de las muestras, por lo que se debe contar con muestras pulidas y con buen acabado. Al utilizar hueso se puede utilizar la técnica descrita en el apartado de preparación de muestras para microscopio óptico. Si se requiere utilizar luz polarizada las muestras usadas deben ser delgadas para permitir el paso de la luz. En el uso la birrefringencia de las fibras de colágeno debida a la variación en su orientación se puede evaluar de forma cualitativa mediante el empleo de este tipo de luz.

Los aumentos que se pueden utilizar en estos microscopios se restringen por el rango de luz visible en el espectro electromagnético, como se puede ver en la figura 3.1. Si se obtienen imágenes con mayores aumentos se utilizan otros dispositivos como puede ser los microscopios de rayos X.

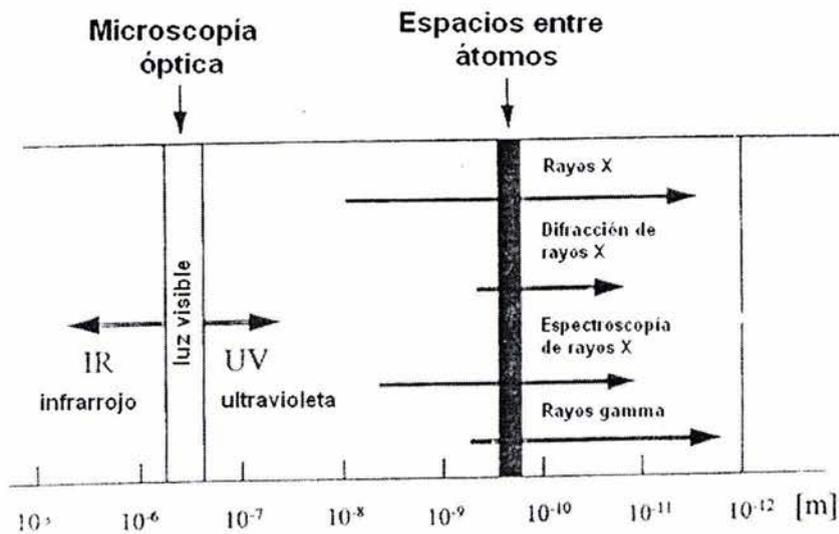


Fig. 3.1 Espectro electromagnético

(Amelickx, S. et al. ed. *Handbook of Microscopy: Applications in Materials Science, Solid-State Physics and Chemistry. Vol. 1: Methods* VCH. 1997)

Además del microscopio óptico común se utilizó un estereomicroscopio para obtener fotografías a color de la estructura en 3D. Este equipo trabaja con aumentos de hasta 32x.

3.1.2 Microscopía electrónica de barrido

Un microscopio electrónico de barrido funciona haciendo incidir un haz de electrones sobre una muestra para obtener información sobre la misma. A través de la detección de los electrones que son rechazados construye imágenes de topografía, distribución de materiales y composición.

En la figura 3.1 se muestra el esquema de funcionamiento típico de un microscopio electrónico de barrido.

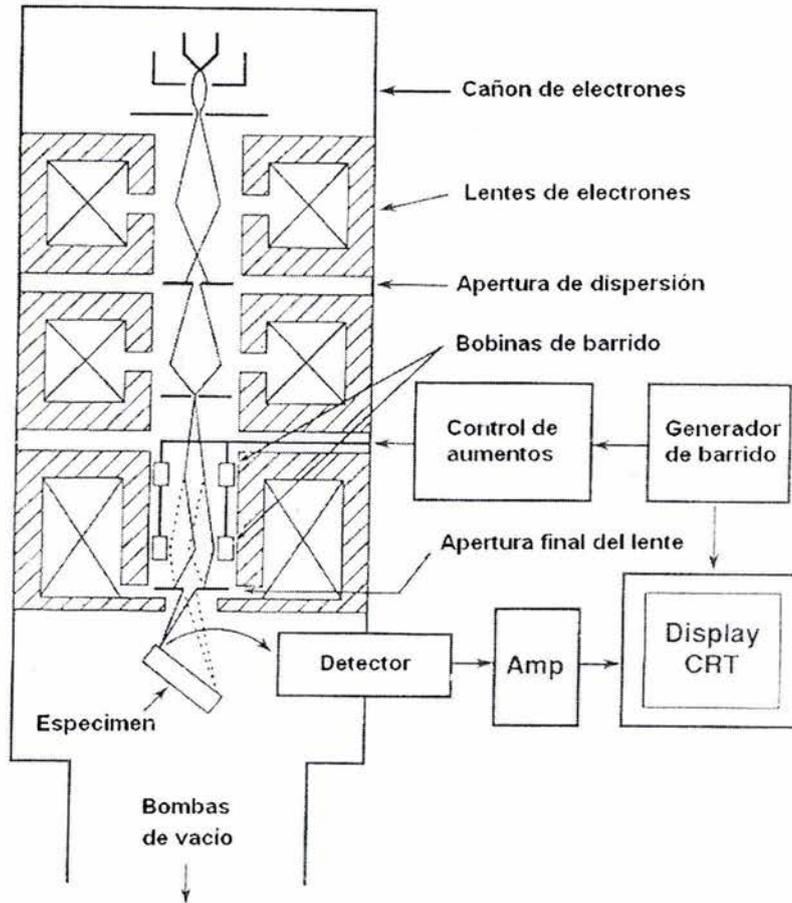


Fig. 3.1. Esquema de funcionamiento de un microscopio electrónico de barrido

(Goldstein, J. et al. *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Analysis*, 2ª ed. Plenum Press. 1992)

Los electrones que son disparados del cañón inciden en la muestra y pueden alcanzar diferentes profundidades. Los electrones que logran escapar de la misma son absorbidos por diferentes tipos de detectores de acuerdo a su energía, esta energía determinó la profundidad que alcanzaron y la información que pueden proporcionar.

Los electrones que comúnmente se utilizan para obtener información son los electrones secundarios y los retrodispersados. Los electrones secundarios son aquellos que alcanzaron una profundidad de 1 a 10nm y sirven para obtener topografía superficial principalmente, mientras que los electrones retrodispersados son aquellos que alcanzaron una profundidad de 0.1-1 μm y sirven para dar la distribución de los materiales dependiendo de su masa atómica, distinguiendo los mas ligeros de los mas pesados.

Para este estudio de hueso solo se utilizaron imágenes obtenidas con el detector de electrones secundarios ya que la distribución de los materiales se considera homogénea al nivel de las trabéculas.

Sin embargo para la evaluación de hueso se puede usar el análisis con electrones secundarios o retrodispersados. Para poder obtener imágenes se requiere tener la muestra en vacío, y esto puede representar una desventaja para las muestras de hueso que en condiciones in vivo se encuentran precargadas y al secarse se deforman en función de estas cargas.

Además de esto para la obtención de imágenes óptimas se debe recubrir la superficie con una capa de material conductor, lo que involucra mayor tiempo y equipo para la preparación de las muestras (Helfrich, 2003). Contrario a esto último en la sección de preparación de muestras se propone un método alternativo.

Con las imágenes que se obtienen con estos equipos se realizan mediciones de morfología que se detallan en la siguiente sección.

3.2 Parámetros de la arquitectura del hueso esponjoso

Los parámetros que se utilizan para caracterizar la microestructura del hueso esponjoso se pueden clasificar en: físicos, estereológicos, 3D, ad hoc e histomorfométricos.

Cuadro 3.1

Parámetros para evaluar la arquitectura del hueso esponjoso

Tipo	Parámetros
Físico	Densidad Densidad Aparente Porosidad Momento de inercia Orientación del colágeno
Estereológico	Fracción de volumen Densidad superficial

	Volumen estrella Conectividad
3D	Grado de anisotropía Longitud de intercepción principal, Orientación del volumen Distribución del volumen estrella Conectividad Dimensiones trabeculares
Ad Hoc	BV (Bone Volume).- Fracción volumétrica de hueso. TBA (Trabecular Surface Area/Total Area).- Área superficial trabecular por área total. Tb.Th (Trabecular thickness).- Espesor promedio de las trabéculas en μm , Tb.Sp.-Distancia promedio entre trabéculas. Tb.N.- Promedio de elementos trabeculares por unidad de área. Ho.N.- Promedio de agujeros trabeculares por unidad de área. N.Nd.- Número de nodos trabeculares. N.Tm.- Número de extremos de trabéculas. Nd/Tm.- Relación entre los dos anteriores.

(Adaptado de Cowin, Stephen. ed. *Bone Mechanics Handbook*, CRC Press, 2001)

Dentro del cuadro 3.1 se enlistan los parámetros principales que se utilizan para analizar el hueso. La selección de los parámetros utilizados en este trabajo se hizo bajo los criterios de disponibilidad de equipo y simplicidad de obtención; además del aporte específico para definir los parámetros de un modelo micromecánico. Los parámetros elegidos se detallan a continuación:

3.2.1 Densidad

La técnica utilizada comúnmente para obtener la densidad del hueso se basa en el principio de Arquímedes mediante la inmersión de muestras en líquidos y utilizando la ecuación 3.1.

$$\rho_{\text{hueso}} = \rho_{\text{fluido}} \frac{W}{W - S} \quad (3.1)$$

Donde: W es el peso del hueso seco

S es el peso del hueso sumergido

Para medir la densidad del hueso es importante la limpieza del espécimen. La médula se remueve con agua a presión y los residuos se remueven sumergiendo la muestra en acetona, esto provoca que se modifiquen las propiedades mecánicas por lo que las muestras no se pueden utilizar para otros fines.

Otra alternativa consiste en utilizar alcohol etílico puro en lugar de agua para sumergir las muestras ya que humedece mejor la muestra y la medición es mas precisa; al sumergir la muestra en alcohol, este desplaza al agua de la matriz por lo que la muestra se debe rehidratar en solución salina para que recupere sus propiedades (Cowin, 2001).

3.2.2 Densidad aparente

La densidad aparente es un parámetro utilizado en el hueso esponjoso que se calcula como la masa del espécimen óseo después de remover la médula dividida entre su volumen total incluyendo los poros. También puede obtenerse como $(1-P)$, donde P es la porosidad, cuando esta se obtiene mediante el conteo de puntos como se describe en el siguiente apartado.

3.2.3 Porosidad

La porosidad se define como la fracción de volumen que no está ocupada por hueso. En el caso del hueso esponjoso esta fracción suele estar ocupada por médula.

El valor de densidad aparente es muy útil para un cálculo preciso de la porosidad utilizando tanto la densidad aparente como la ósea mediante la ecuación 3.2.

$$P = 1 - \frac{\rho_{ap}}{\rho_{ósea}} \quad (3.2)$$

En donde: ρ_{ap} es la densidad aparente y $\rho_{ósea}$ es la densidad del hueso, esta ecuación se obtiene partiendo de que la porosidad se define como el cociente del volumen de los poros entre el volumen total.

Además del procedimiento mencionado para determinarla se puede hacer uso de una técnica estereológica. Esta técnica consiste en dibujar una red de puntos sobre una imagen de una superficie pulida de hueso y se cuenta la fracción de puntos que caen sobre hueso.

Este valor es exacto basándose en métodos estadísticos y es muy común su uso en la caracterización de materiales.

3.2.4 Fracción volumétrica

La fracción volumétrica de hueso trabecular, $V_v(\text{hueso})$, es una de las propiedades arquitectónicas fundamentales del hueso esponjoso, y está definida como el volumen trabecular por un volumen de referencia, de acuerdo con la ecuación 3.3.

$$V_v(\text{hueso}) = \frac{\text{Volumen del hueso trabecular}}{\text{Volumen del hueso trabecular} + \text{Volumen espacial medular}} \quad (3.3)$$

La fracción volumétrica de médula $V_v(\text{médula})$, esta definida equivalentemente, y $V_v(\text{hueso}) + V_v(\text{médula}) = 1$. Para cualquier fase, la fracción volumétrica puede ser estimada por la fracción de área A_A , la fracción lineal L_L y la fracción puntual P_P para una muestra aplanada uniformemente, línea, y puntos prueba, respectivamente; de acuerdo a la nomenclatura que se usa comúnmente en estereología cuantitativa. Por lo que se cumple la igualdad (3.4).

$$V_v = A_A = L_L = P_P \quad (3.4)$$

3.2.5 Longitud de intersección principal

El principio básico del método MIL consiste en colocar una malla de líneas con una orientación w sobre una estructura. Se cuenta el número de intersecciones I entre la malla y las interfaces de la médula ósea, quedando que la longitud principal entre cualesquiera dos intersecciones es entonces

$$MIL(w) = \frac{L}{I(w)} \quad (3.5)$$

donde L es la longitud lineal de la línea de la malla. Algunos autores han utilizado una definición modificada de MIL.

$$MIL(w) = 2 \frac{L(w)}{I} V_v(\text{hueso}) \quad (3.6)$$

la cual reporta la longitud principal de intersecciones a través de la fase ósea.

El factor $2V_v$ (hueso) es la única diferencia entre las ecuaciones 3.5 y 3.6 pero esta no proporciona información adicional sobre la anisotropía. El método MIL cuantifica la anisotropía de la interfase de una estructura.

3.2.6 Métodos Ad Hoc

Los métodos ad hoc se han desarrollado específicamente para el análisis del hueso y representan: número de trabéculas, fracción de hueso, espesores promedio, etc; entre otros datos. Los valores se obtienen mediante el conteo de la variable a medir sobre secciones planas y no cuentan con la base estadística que le da validez a los parámetros estereológicos. A pesar de esto son útiles porque dan una idea de que tan concentrados se encuentran los elementos por unidad de área.

El desarrollo de más parámetros que caractericen a la arquitectura del hueso esponjoso continúa ya que no se han obtenido pruebas concluyentes de que los existentes bastan para predecir sus propiedades. Como se había mencionado anteriormente las técnicas que se seleccionaron para obtener estos parámetros fueron microscopía óptica y estereomicroscópica, así como microscopía electrónica de barrido.

3.3 Preparación de muestras

La parte experimental abarca la preparación de las muestras ya que, al tratarse de material orgánico, es de gran importancia observar estrictas normas de seguridad e higiene. En todos los casos es primordial la conservación de los especímenes, así como el uso de guantes de látex, bata, cubrebocas y, en el caso de los cortes, el uso de gafas de seguridad para evitar que se incrusten fragmentos de hueso desprendidos durante los mismos.

Para la preparación de muestras de hueso el primer paso es la obtención de los especímenes, estos deben ser cortados dentro de las horas siguientes a la muerte del sujeto de estudio con el fin de obtener mediciones más precisas.

En mediciones morfológicas se recomienda el uso de huesos frescos y evitar los congelados, ya que la dilatación del agua al solidificarse puede romper las trabéculas. Estos daños no se han reportado extensamente pero se sugiere en los protocolos almacenar el hueso inmerso aun en tejido a -20°C dentro de bolsas de plástico selladas al vacío. Por la poca disponibilidad de huesos frescos es una necesidad el almacenamiento a bajas temperaturas.

Las dimensiones de las trabéculas del hueso esponjoso son de varias decenas de micras por lo que el uso de solventes para eliminar los rastros de tejido y médula no produce daños apreciables a la estructura pero si se requiere conservar estructuras celulares se deben aplicar protocolos estrictos (Helfrich, 2003). Esto no es importante para el presente estudio que es de índole mecánica más que biológica.

Una vez que se retiran los huesos del espécimen se retiran los restos de tejido suave del exterior del hueso y se procede a efectuar cortes. En este caso los cortes y el resto de la preparación dependeN del equipo al que son destinados.

3.3.1 Microscopía óptica

Para el microscopio óptico lo primordial es el pulido de secciones pero para poder usar luz polarizada se requieren secciones de algunas decenas de micras.

Comúnmente usadas en mineralogía, las secciones delgadas son cortes de un espesor aproximado de $30\ \mu\text{m}$ que permiten obtener mediciones superficiales de un plano de corte y, por su espesor, el uso de luz polarizada; esto último permite observar de manera cualitativa el cambio en la orientación de las fibras de colágeno que forma el hueso.

Desde su obtención las muestras se conservan en solución salina fisiológica (al 0.9%) para evitar su deshidratación. Dependiendo de la estructuras a observar, la conservación puede ser mas estricta, ya que si se quiere observar la distribución mineral la conservación se realiza en un buffer de solución salina fosfatada con calcio (Gustafson, 1996; Helfrich, 2003).

La secuencia de corte se describe a continuación:

- El primer paso consiste en obtener una superficie de referencia para los cortes. Esto se logra fijando la muestra y realizando un corte pasando una sola vez el disco de diamante. Esta superficie se enjuaga con agua y se seca con aire a presión.
- Posteriormente se adhiere esta superficie con pegamento (cianoacrilato) sobre un elemento plano que se pueda ajustar a la cortadora. Ajustando esta pieza se realiza un nuevo corte paralelo a la superficie. Con esta nueva superficie se realizan cortes paralelos con el menor espesor posible.

El hueso que se trabajó, por las razones antes expuestas fue la vértebra de porcino. Los cortes que se realizaron fueron en dos direcciones como se muestra en la figura 3.1. Se asumió que existe simetría en el hueso y se utilizó una mitad de cada sección cortada para el microscopio óptico y la otra para el electrónico de barrido.

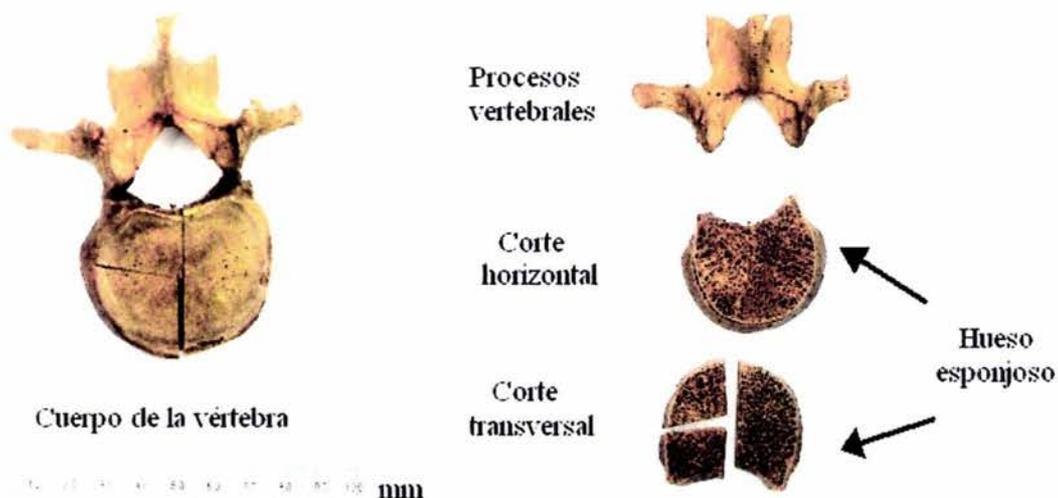


Fig. 3.1 Secuencia de cortes para una vértebra

En la realización de los cortes se utilizó una cortadora Buehler de baja velocidad con disco de diamante y se utilizó agua como lubricante.

No se recomiendan láminas demasiado delgadas porque al retirar la médula ósea y secar las láminas, tienden a deformarse y se pierden las superficies planas de corte que sirven para su asentamiento posterior. Esta deformación puede deberse a la liberación de esfuerzos ante la eliminación de la carga. También se debe considerar que las dimensiones de las trabéculas exceden en algunos casos el espesor de láminas más delgadas en cuyo caso se tendría pérdida de material al quitarle su soporte.

La lámina obtenida se lava con agua jabonosa y un cepillo de cerdas delgadas tratando de retirar toda la médula presente entre las trabéculas. Al terminar de lavarla se realiza un secado con aire a presión. Este procedimiento se puede repetir hasta que se retire la mayor cantidad de medula. Para mejorar la limpieza se sumergen las muestras en agua jabonosa dentro de un limpiador ultrasónico (Ultramet III, Buehler Ltd) durante unos cuantos minutos, volviendo a lavar y secar.

El ajuste del espesor de la muestra se realiza con el pulido después de fijarla en resina. Para lograr esto se prepara una mezcla de resina cristal (10 ml) con catalizador (11 gotas- 1.5 ml) al 10%. Con esta mezcla se cubre la superficie de un portaobjetos colocando la lámina de hueso y presionándola sobre el vidrio, el resto de la mezcla se distribuye sobre la lámina cubriéndola. Esta lámina se deja secar una hora hasta que solidifique para que pueda ser pulida.

El pulido se realizó en una pulidora Buehler de 8 pulgadas de diámetro y doble disco, uno de baja velocidad y otro de alta. Para el pulido se utilizaron los siguientes abrasivos en el orden que se presentan, agregando agua como lubricante:

- Carburo de silicio (malla 400-600)
- Oxido de aluminio, Al_2O_3 (alpha alúmina 0.3 y 1 μm)
- Pasta de diamante (9,6,1 μm)

Las ventajas que ofrece una muestra de este tipo es que es apta para microscopios de polarización, evita la contaminación excesiva de la muestra con los abrasivos del pulido y conserva la estructura del hueso que se fragiliza al secarse.

El espesor de la lámina se monitoreó con un microscopio de polarización marca Carl Zeiss modelo Axiolab; el espesor óptimo de la lámina se obtiene cuando la muestra presenta una coloración uniforme en tonos grises a lo largo de toda la superficie, bajo luz reflejada.

3.3.2 Microscopía electrónica de barrido

En el caso de la microscopía electrónica de barrido, aparece reportado en la literatura un protocolo muy completo que incluye un recubrimiento conductor de la superficie (Helfrich, 2003), pero tiene la desventaja de que la preparación de una muestra lleva una semana aproximadamente, además de que requiere de equipo y sustancias especializados.

Buscando optimizar recursos se desarrolló un protocolo alternativo que disminuye sensiblemente el tiempo de preparación y las sustancias empleadas. Con estas pruebas se llegó a la conclusión de que el hueso es un material poco conductor pero es posible la obtención de imágenes a bajos voltajes de aceleración (1 ekV).

Se trabaja con láminas delgadas cortadas como se indica en la sección anterior ($\approx 1\text{mm}$) a las que se les elimina la humedad secándolas con aire comprimido. Este procedimiento se presenta como alternativa al protocolo mencionado, siendo empleado en la preparación de las muestras cuyas imágenes se incluyen en este trabajo.

Otra forma de secar estas láminas puede ser con un horno a 37° durante 6 horas para evitar la degradación de las fibras de colágeno al mantenerlas a la temperatura *in vivo*. El uso de un horno podría permitir obtener corte más anchos de hueso.

3.4 Imágenes de la microestructura del hueso esponjoso

Con el objetivo de mostrar los parámetros que se pueden observar bajo diferentes tipos de luz y con diferentes equipos se incluyen imágenes representativas a diferentes aumentos.

La figura 3.2 corresponde a dos imágenes de cortes de secciones delgadas de hueso esponjoso de una vértebra de porcino con un aumento de 2.5x. La figura 3.5 (a) es con luz reflejada y la figura 3.5 (b) con luz polarizada. Estas fotografías son ideales para medir parámetros estereológicos.

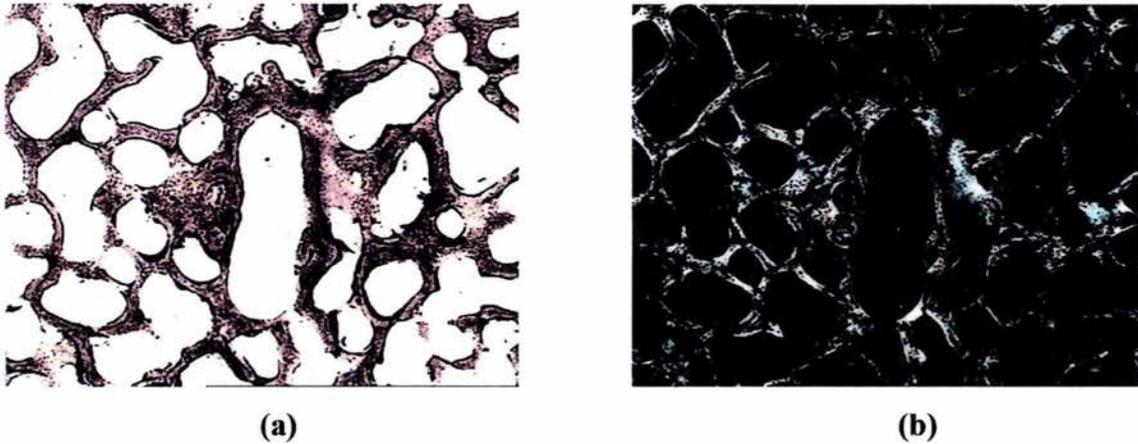


Fig. 3.2 Fotografías de láminas de hueso esponjoso de porcino montadas en resina transparente bajo microscopio óptico, aumento 2.5x

La figura 3.3 corresponde a un corte de hueso cortical bajo un aumento de 10x con luz reflejada (figura 3.3(a)) y con luz polarizada (figura 3.3 (b)). En estas imágenes se observa claramente la estructura ordenada del hueso cortical y la baja porosidad que presenta. Además de esto se puede ver como corren las fibras de colágeno y la distribución homogénea de los osteocitos.

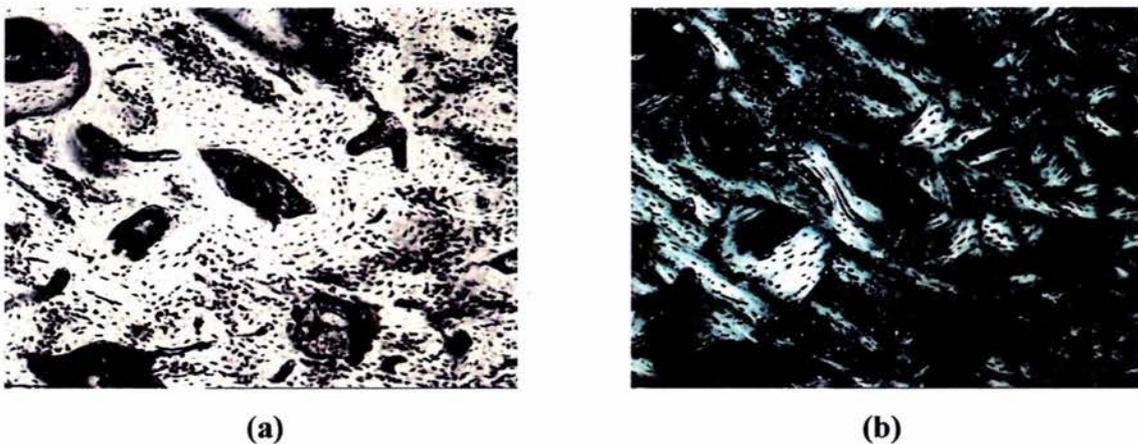
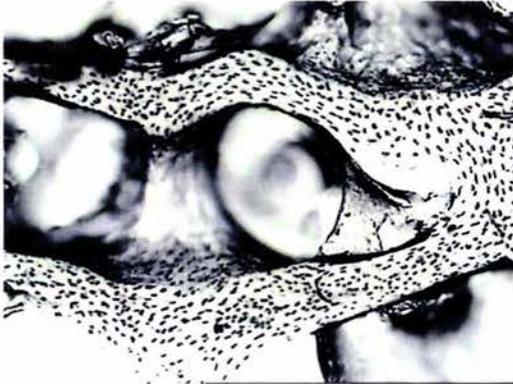


Fig. 3.3 Fotografías de láminas de hueso cortical de porcino montadas en resina transparente, aumento 10x.

Para poder observar características correspondientes a detalles del tejido que forma las trabéculas es necesario recurrir a mayores aumentos como se puede ver en la figura 3.4 (a) y (b). Estas imágenes corresponden a un aumento de 10x y muestran la geometría de las trabéculas en aspectos tan detallados como es la curvatura en sus extremos.



(a)



(b)

Fig. 3.4 Fotografía de láminas de hueso esponjoso de porcino montadas en resina transparente bajo microscopio óptico, aumento 10x.

Con microscopía electrónica de barrido se pueden tener imágenes de la microestructura del hueso a bajos potenciales. En las figuras 3.5 y 3.6 se observan las estructuras que corresponden al hueso esponjoso presente en el cuerpo de una vértebra de porcino.

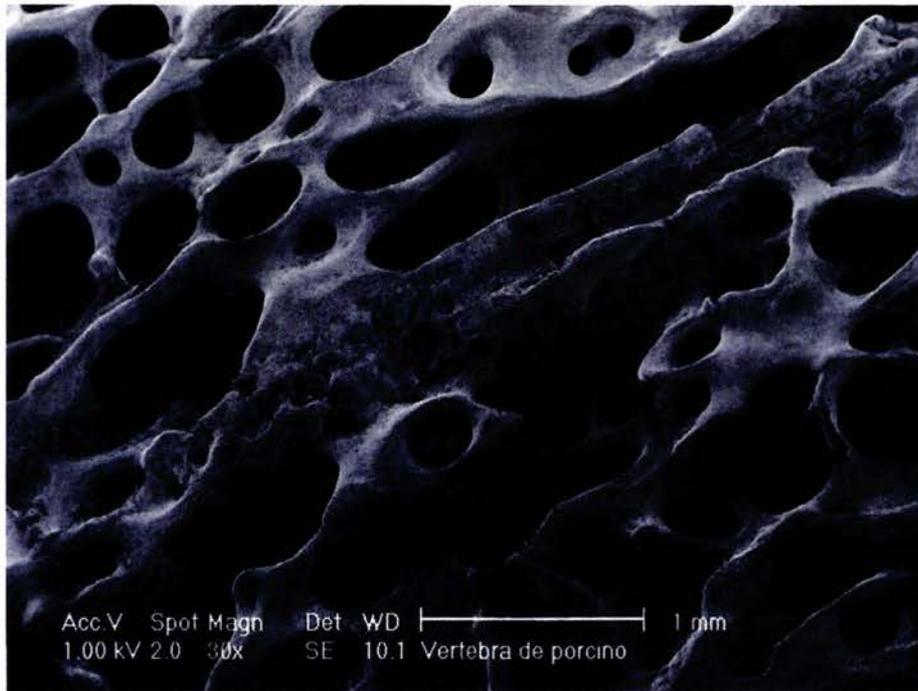


Fig. 3.5 Imagen de SEM de hueso esponjoso

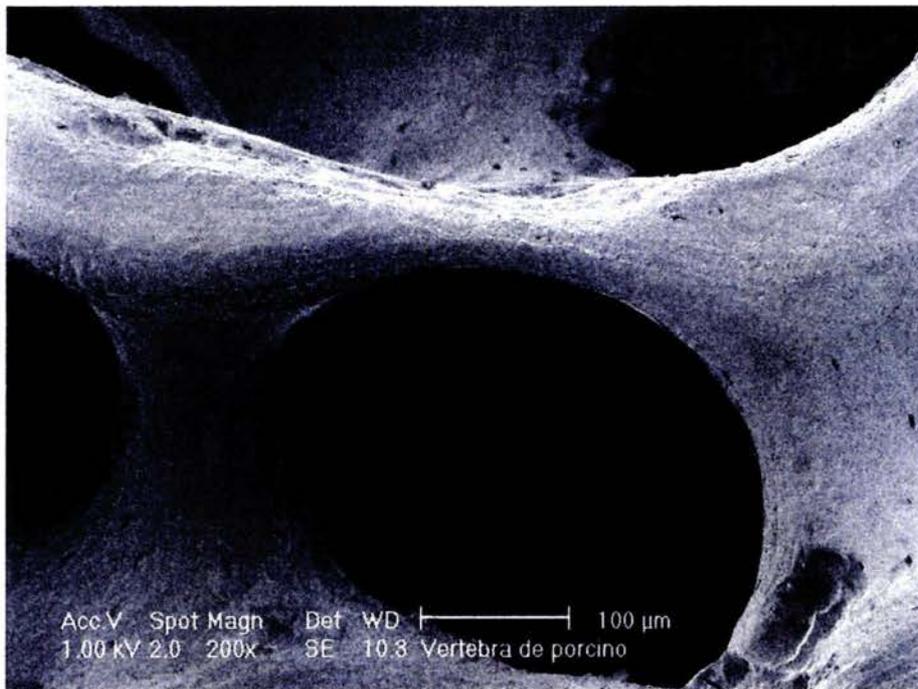


Fig. 3.6 Imagen de SEM de hueso esponjoso

Debido a que las imágenes de microscopía electrónica de barrido no muestran solo un plano de la muestra es difícil realizar mediciones tan precisas como con la microscopía óptica en

lo que respecta a parámetros estereológicos pero es muy buena para poder determinar que las estructuras que se observan en un plano pueden no ser precisamente las reales.

Un último tipo de imágenes son las obtenidas con microscopio estereoscópico que son cualitativas de la estructura del hueso, como se ve en la figura 3.7, esta imagen se tomo de una vértebra humana seca y preparada para su conservación.

CAPÍTULO 4

PROPIEDADES MECÁNICAS DEL HUESO ESPONJOSO

Introducción

Al tratarse de una función predominantemente mecánica, el estudio de las propiedades mecánicas del hueso constituye uno de sus campos principales de investigación. Desde una perspectiva macroscópica de huesos completos, hasta las propiedades de las fibras de colágeno y los cristales de hidroxiapatita, el determinar constantes elásticas de estos materiales contribuye a predecir su comportamiento.

En la sección 2.2. del segundo capítulo se presenta la aplicación de la mecánica del medio continuo a la caracterización mecánica del hueso. Sin este supuesto de medio continuo sería muy complicado el análisis incluso de los resultados de pruebas mecánicas debido a que muchas de las ecuaciones que se utilizan para el análisis de resultados consideran que el material bajo prueba es homogéneo e isotrópico.

A partir de esto se enlistan las pruebas mecánicas que suelen utilizarse en el hueso y se amplía la descripción de la prueba de compresión. Esta última fue la que se aplicó en este estudio por que corresponde a las sollicitaciones principales in vivo a que se somete al hueso esponjoso.

La preparación de probetas para realizar los ensayos de compresión requiere de la consideración de algunos parámetros como son la temperatura, velocidad de deformación e hidratación de la muestra. A diferencia del método que se usa en morfología la consideración de estos parámetros es de especial cuidado porque el deterioro de las propiedades mecánicas empieza desde que se suspenden las condiciones fisiológicas.

4.1 Propiedades mecánicas

La relación clave para la obtención de las propiedades mecánicas de un material es la resultante entre una carga aplicada a una estructura y el desplazamiento que se produce en ella en respuesta a la carga.

Bajo esta premisa una gráfica típica de carga vs desplazamiento muestra los elementos que se observan en la figura 4.1.

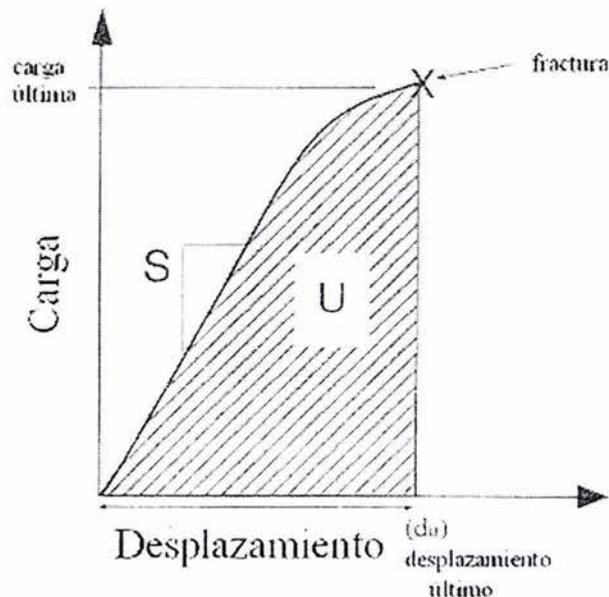


Fig. 4.1 Diagrama de una curva carga vs desplazamiento para una muestra ósea (Cowin, Stephen ed. Bone Mechanics Handbook. CRC Press. EUA. 2001)

Donde: S es la rigidez de la estructura,

F es la carga última o fuerza a la falla,

U es el trabajo de falla (área bajo la curva) que corresponde a la energía necesaria para romper la estructura,

D_u es el desplazamiento último,

Y es el punto de deslizamiento o cedencia, que indica a partir de donde se presenta la deformación plástica (permanente),

Existen parámetros biomecánicos que pueden ser utilizados para caracterizar la totalidad del hueso. La inclinación de la región elástica a la curva carga-desplazamiento representa la rigidez de la estructura, mientras que otras propiedades mecánicas pueden ser derivadas incluyendo la carga última (fuerza de falla), trabajo de falla (área bajo la curva carga-desplazamiento) y el desplazamiento último.

Cada uno de estos parámetros medidos refleja una propiedad diferente del hueso:

- la carga última refleja la integridad total de la estructura del hueso,
- la rigidez está relacionada con la mineralización del hueso,
- trabajo a la falla es la cantidad de energía necesaria para romper al hueso,
- el desplazamiento último está inversamente relacionado a la fragilidad del hueso.

Al convertir la carga en esfuerzo y el desplazamiento en deformación por la fórmula ingenieril, la relación entre el esfuerzo y la deformación en los huesos sigue a una curva esfuerzo deformación. La inclinación de la curva esfuerzo- deformación dentro de la región elástica es el módulo elástico o módulo de Young, que es una medida de la rigidez del material. El área bajo la curva esfuerzo-deformación es una medida de la cantidad de energía necesaria para causar una fractura y se denomina energía de absorción. El esfuerzo y deformación máxima que el hueso puede sufrir son llamados el esfuerzo y deformación última, respectivamente.

Este esfuerzo último es una propiedad intrínseca del material, ya que sus valores son independientes del tamaño y forma del hueso. La fuerza requerida para romper el hueso es diferente que la que indica este esfuerzo, porque la carga última variará con el tamaño del hueso.

Las deformaciones permanentes se presentan después del punto del deslizamiento, el cual es causado por el deslizamiento de las líneas cementadas, microfracturas trabeculares, crecimiento de grietas o combinación de estas.

Esta nueva curva se construye normalizando los datos para obtener valores representativos del material y no de cada muestra. Esto se logra aplicando las ecuaciones 4.1 y 4.2.

$$\sigma \equiv E\varepsilon \quad (4.1)$$

$$\varepsilon \equiv \frac{\Delta l}{l_0} \quad (4.2)$$

La curva esfuerzo deformación, como se observa en la figura 3.2, está dividida en región elástica y región plástica por el punto de deslizamiento, que es el nivel del esfuerzo en el cual se origina el daño permanente en la matriz ósea.

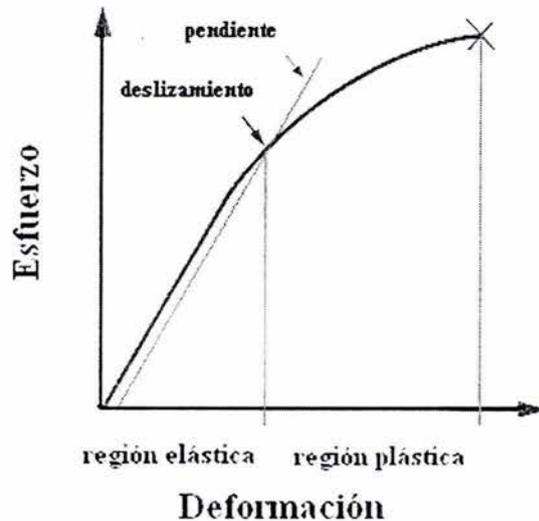


Fig. 4.2 Curva esfuerzo-deformación

(Cowin, Stephen Ed. *Bone Mechanics Handbook*. CRC Press. EUA. 2001)

El punto de deslizamiento es frecuentemente estimado utilizando el método de la pendiente, una línea paralela pero desplazada a una distancia predeterminada desde la parte lineal de la curva, es trazada y la intersección de la curva esfuerzo-deformación y con la línea de desplazamiento se ubica el punto de deslizamiento.

En el caso del hueso esponjoso no se ha encontrado un criterio que determine a que porcentaje de deformación debe trazarse esta línea paralela, ya que el rango en el que se deforma cada tipo de hueso es muy amplio.

4.2 Pruebas mecánicas

Para poder obtener estas curvas es necesario realizar ensayos mecánicos de diferentes tipos de acuerdo a las características de las cargas que el material debe soportar durante su desempeño.

Las pruebas mecánicas que se aplican comúnmente al hueso incluyen pruebas en huesos enteros simulando condiciones in vivo y en muestras de tejido. Dentro de la literatura se encuentran reportadas las siguientes: tracción, compresión, flexión en 3 o 4 puntos, torsión, indentación (dureza), cortante puro, impacto, fatiga, nano y micro pruebas, además de pruebas acústicas y pruebas diseñadas para sitios específicos (Cowin, 2001)

4.2.1 Ensayo de compresión

La herramienta mas empleada para obtener las propiedades mecánicas del hueso esponjoso es la prueba de compresión. Esto se debe a que el hueso esponjoso absorbe en su mayor parte los impactos repetitivos en las articulaciones y a la dificultad de aplicar otro tipo de pruebas sobre un material poroso.

Medir las propiedades mecánicas del tejido del hueso esponjoso es más difícil que medir aquellas propiedades del tejido del hueso cortical. Las dificultades técnicas son debido a las

dimensiones extremadamente pequeñas de la trabécula individual en el hueso esponjoso. Varios métodos directos han sido utilizados para determinar el módulo del tejido de trabéculas individuales en los últimos 30 años. Los módulos reportados del tejido del hueso esponjoso ha fluctuado desde 0.76 a 20 GPa (Keaveny, 1993).

La aplicación de las cargas en un ensayo de compresión se observa en la figura 4.3. En la figura 4.3 (a) las placas de carga están ligeramente desalineadas con la muestra. Esto causa concentración de esfuerzos en la orilla derecha de la muestra conduciendo a resultados incorrectos. En 4.3 (b) las placas sobre un pivote son colocadas dentro del tren de carga para corregir el desalineamiento.

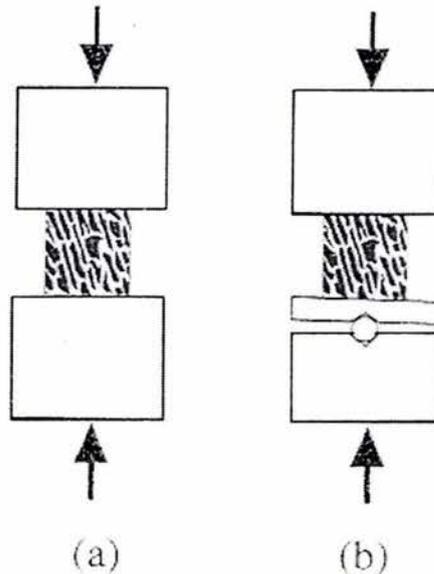


Fig. 4.3 Prueba a compresión de un cubo de hueso esponjoso.

Las pruebas a compresión permiten la utilización de muestras relativamente pequeñas, sin embargo, la prueba a compresión tiende a ser menos precisa que la prueba a tracción debido a efectos de las placas sobre los extremos de la probeta durante la prueba.

Las pruebas restantes se han empleado para muestras (principalmente) de hueso cortical, tejido óseo y huesos completos que son considerados como continuos en sus dimensiones de prueba. En el caso del hueso esponjoso no es fácil asumir un continuo debido a la alta porosidad que se observa, incluso a simple vista.

4.3 Preparación de muestras

Existen tres factores importantes a considerar en la realización de pruebas mecánicas en especímenes óseos: la preservación del espécimen, su hidratación y la temperatura a la que se realiza la prueba. Las propiedades mecánicas son muy sensibles a la desmineralización y cambian notoriamente cuando el hueso se seca, ya que se convierte en un material frágil.

4.3.1 Hidratación del hueso

En el caso de la hidratación se ha documentado que el hueso seco presenta un incremento en su módulo Young y en su resistencia, así como un decremento en su dureza (Cowan, 2001). Estas variaciones son importantes para establecer las propiedades del hueso de manera precisa por lo que es necesario conservar el hueso en condiciones fisiológicas.

Para emular las condiciones fisiológicas se conservan las muestras de hueso inmersas en solución salina fisiológica (0.9%), antes y durante las pruebas. En el caso de que las pruebas no se realicen inmediatamente (2-4 horas) el hueso debe mantenerse congelado a -20 °C, cubierto aún con tejido o con una gasa empapada de solución salina y dentro de bolsas plásticas selladas al vacío.

Los protocolos más recientes sobre pruebas con hueso sustituyen la solución salina por un buffer PBS (solución salina fosfatada) al 7.2 pH (Helfrich, 2003). Además de esto se ha documentado que la pérdida progresiva de calcio en las muestras de hueso afecta las propiedades mecánicas; debido a esto se propone añadir un compuesto de calcio a la solución usada (Gustafson, 1996).

4.3.2 Temperatura

El funcionamiento del hueso *in vivo* es a una temperatura media de 37 °C, comparando con pruebas hechas a temperatura ambiente de 23 °C se han reportado incrementos de 2 a 4 % en el módulo de Young (Cowin,2001).

4.3.3 Velocidad de deformación

En condiciones naturales el hueso tiene un comportamiento viscoelástico pero al secarse su comportamiento es elástico lineal. El comportamiento viscoelástico presenta una resistencia a la carga proporcional a la velocidad a la cual se aplica la misma por lo que se debe establecer una velocidad de aplicación de la carga adecuada.

Con el objetivo de simular las condiciones *in vivo* se deben utilizar velocidades de 0.01 a 0.08 s⁻¹ que son las que se presentan en la actividad diaria.

4.3.4 Corte de probetas

Para realizar pruebas sobre hueso esponjoso las muestras mas usadas son las probetas cilíndricas. Estas probetas a diferencia de las rectangulares minimizan los bordes para evitar concentración de esfuerzos.

La forma más fácil de obtener estos cilindros es mediante el uso de sierras rotativas para taladros. El hueso no es un material muy difícil de cortar comparado con los materiales que se usan en ingeniería por lo que se emplearon sierras bimetálicas. Estas sierras se consiguen comercialmente en diámetros de aproximadamente 14mm como mínimo (9/16 pulg).

Después de obtener los cilindros de hueso se ajusta la longitud de la probeta con una sierra manual para eliminar los extremos que se dañan al sacar el cilindro de la sierra. Para asegurar que los extremos queden paralelos se pueden recurrir a cortadoras de precisión como la mencionada con antelación para obtener las láminas de hueso.

4.4 Realización de pruebas

Para el ensayo de compresión se utilizó una máquina universal de pruebas Instron modelo 4206. La velocidad de aplicación de la carga fue de 0.05 mm/min con una celda de carga de 15000 kg.

Las dimensiones de la probeta fueron: 14.64 de longitud y de 10.48 de diámetro, como se observa en la figura 3.5, esta probeta es muy pequeña pero cumple con las dimensiones mínimas que propone Harrigan para considerarla un continuo.

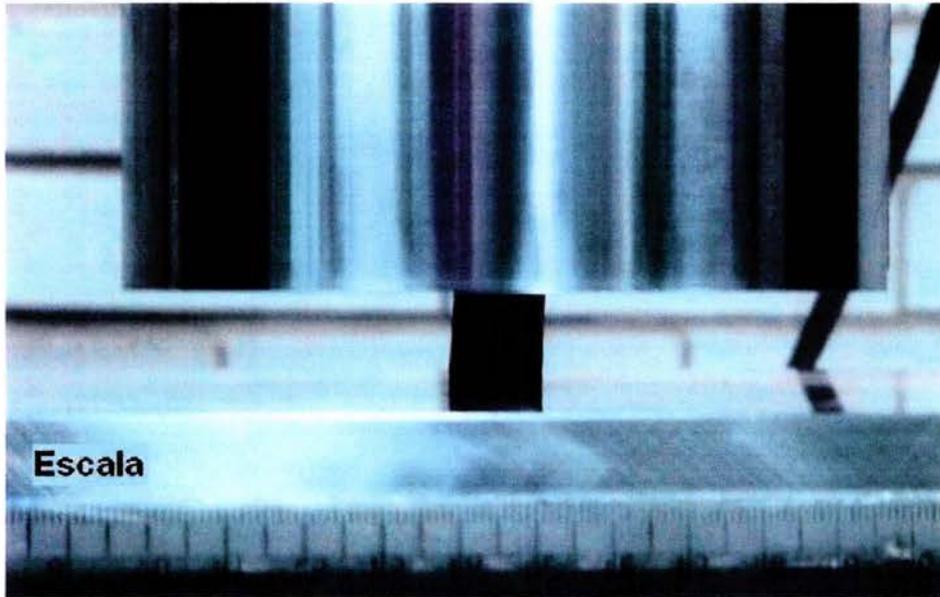


Fig. 4.4 Prueba de compresión en hueso esponjoso

El tiempo estimado de la prueba fue de 7 minutos. Con fines demostrativos se extendió la prueba hasta observar que no había una variación notable en el comportamiento del hueso (aprox. 15 min).

A partir de los datos generados por la maquina de pruebas se construyeron gráficas de carga-desplazamiento, esfuerzo-deformación, región elástica y módulo de Young. En el caso de la región elástica se realizó el ajuste por regresión lineal en la paquetería de Excel.

Para el cálculo de la curva ingenieril de esfuerzo deformación se utilizaron las ecuaciones 4.1 y 4.2 con las dimensiones iniciales de la probeta.

4.5 Resultados

Se obtuvo una curva de esfuerzo deformación para hueso esponjoso de porcino (figura 3.5) en la que se observa el comportamiento del hueso hasta la fractura y posterior a ella, ya que se extendió el ensayo para poder observar el comportamiento del hueso al colapsarse.

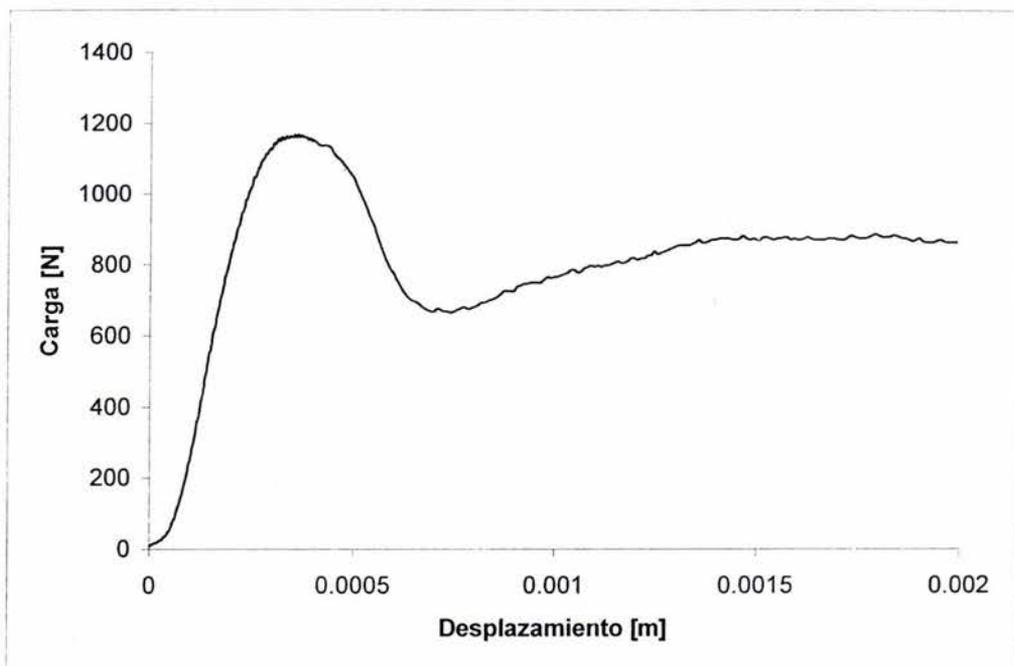


Fig. 4.5 Curva de carga vs desplazamiento para una probeta de hueso esponjoso de porcino

En la figura 4.6 se muestra la curva ingenieril de esfuerzo vs deformación para la misma muestra.

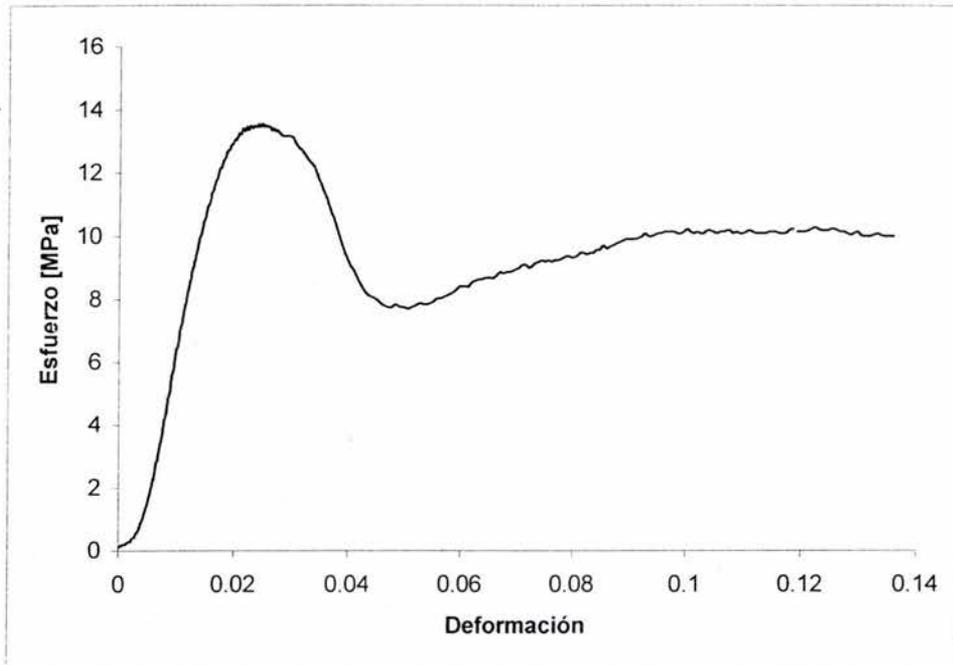


Fig. 4.6. Curva σ vs ϵ de una muestra de hueso esponjoso en un ensayo de compresión.

En esta curva (figura 4.6) esfuerzo deformación se definió una región elástica desde un 0.75% de deformación hasta un 1.75% (figura 4.7) y se obtuvo un coeficiente de correlación de 0.9885.

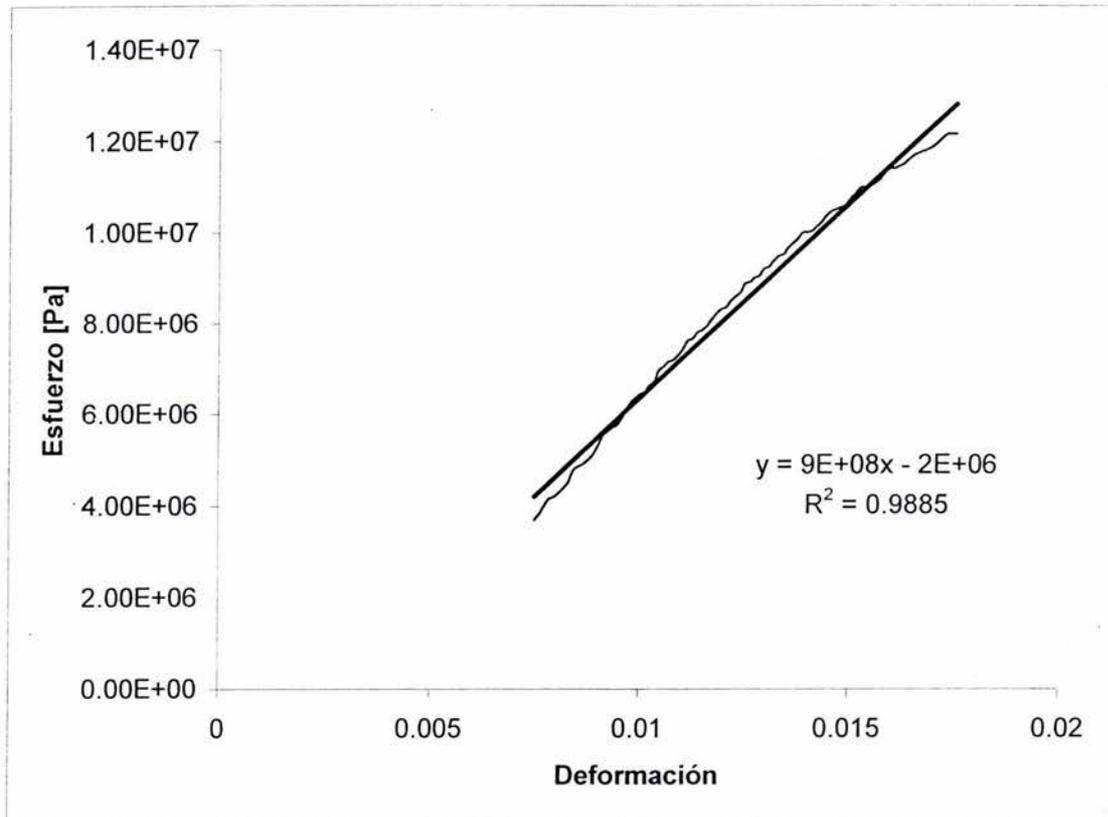


Fig. 4.7. Región elástica de la curva σ vs ϵ de una muestra de hueso esponjoso en un ensayo de compresión.

La selección de este intervalo se realizó en base a los coeficientes de correlación obtenidos para diferentes intervalos considerados.

Con el ajuste por regresión lineal de esta curva se obtuvo un módulo de Young de 0.9 GPa. Este valor es el que mejor se ajusta al conjunto de datos, pero para poder evaluar el cambio de Modulo de Young de forma instantánea se evaluó la variación del modulo entre cada lectura (figura 4.8).

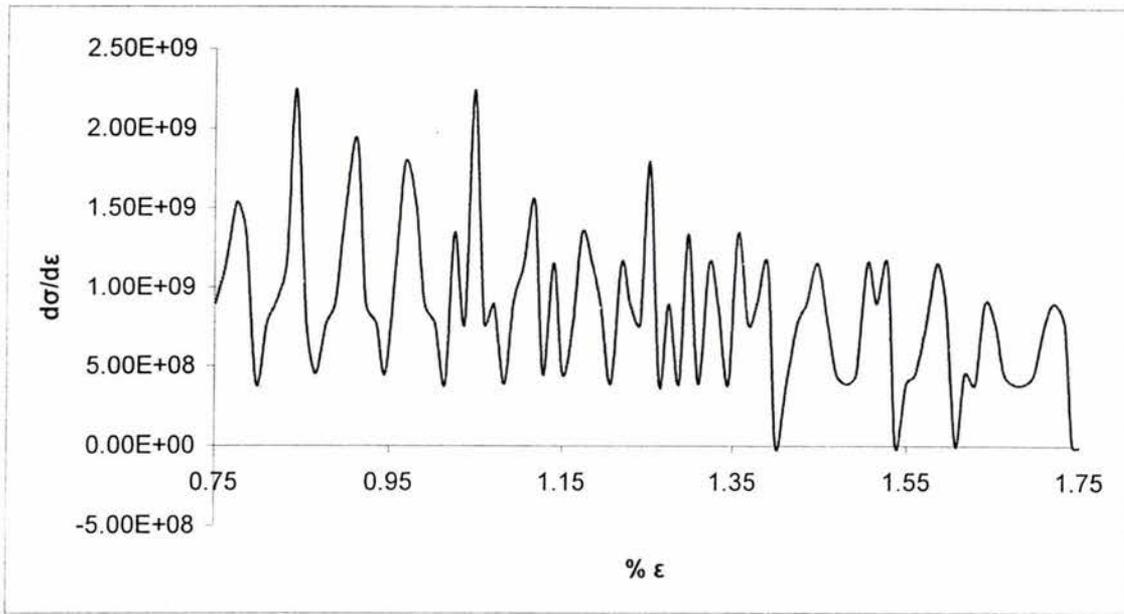


Fig. 4.8 Pendientes instantáneas ($E=d\sigma/d\epsilon$) en la región elástica de la curva σ vs ϵ , en cada porcentaje de deformación.

Con estos módulos de Young se construyó la gráfica de errores relativos entre cada modulo y su subsecuente dentro de la región considerada como elástica. Esta gráfica permite observar que la variación entre los módulos no sobrepasa el 4% e incluso sobre el 1.25% de deformación es menor al 1% dentro del rango elástico.

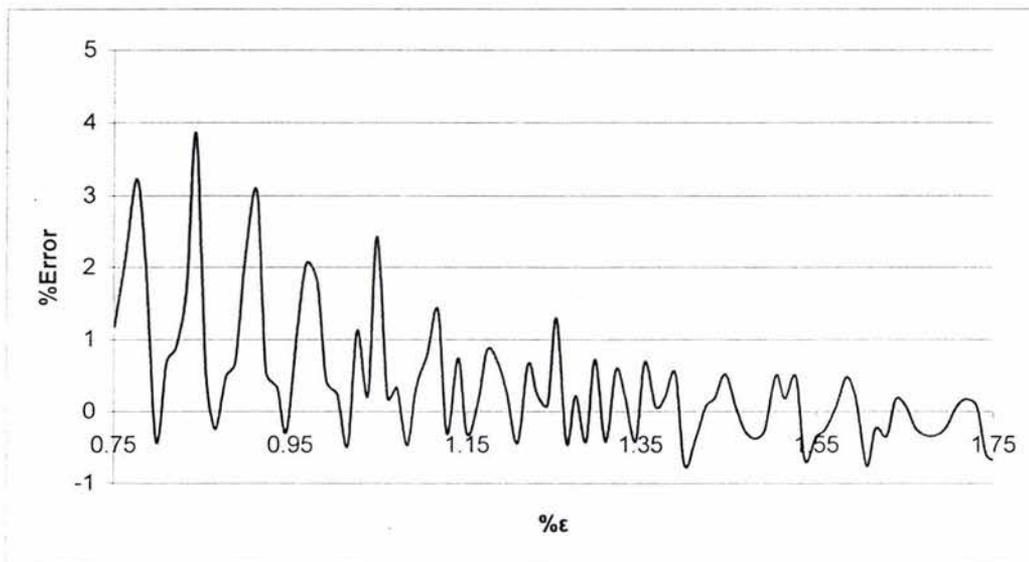


Fig. 4.9. Errores relativos entre un modulo instantáneo y el subsecuente para cada porcentaje de deformación en la región elástica.

Con estos resultados se puede ver que el comportamiento del hueso no es perfectamente elástico pero al igual que en los metales, cuando la deformación es muy pequeña se puede considerar que el comportamiento es elástico.

Establecidos los procedimientos tanto para analizar la morfología como las propiedades mecánicas lo que se incluye en el siguiente capítulo es una discusión sobre las inferencias que se pueden realizar a partir de estas curvas y sobre que líneas se pueden dirigir futuros trabajos.

CONCLUSIONES

Para la obtención de una morfología característica se requieren mediciones en un conjunto de muestras para obtener representatividad en los datos. El objetivo del trabajo se limitó únicamente a establecer los métodos para evaluar esta microestructura ya que la combinación de mediciones que se pueden realizar es muy amplia.

Las pruebas de compresión tienen, por otra parte, un análisis muy específico por lo que se incluyó la prueba realizada y a continuación se exponen algunas de las inferencias que se pueden hacer con la misma.

La curva de esfuerzo vs deformación del hueso esponjoso se puede dividir en las siguientes regiones:

- un intervalo inicial de ajuste en el que se colapsan las trabéculas de los extremos de la probeta, al no contar con soporte en ambos extremos;
- una región prácticamente elástica con una pendiente de 0.9 GPa;
- un intervalo plástico muy reducido y la fractura del material.

Posteriormente a este comportamiento la disminución de la resistencia se debe a que las trabéculas se colapsaron y comienzan a deslizarse de forma lateral observándose un fenómeno similar al abarrilamiento pero con trabéculas rotas. Después de una deformación de 0.05 se vuelve a observar un incremento en la resistencia pero este no corresponde a la

estructura del hueso esponjoso, ya que esta se colapsó desde una deformación de alrededor de 0.02 y la estructura que resulta, después de este colapso y hasta el incremento de la resistencia, corresponde mas a un conglomerado de fragmentos de trabéculas que rellenan los poros que antes estuvieron llenos de médula expulsándola de la estructura.

La elección del rango elástico se basó en el coeficiente de correlación lineal obtenido para diferentes intervalos pero la selección de estos fue aleatoria. Esto lleva a que el intervalo elástico mas que representar un comportamiento característico es un aproximación para una región de deformación determinada.

El valor obtenido para el módulo de Young (0.9 GPa) se encuentra dentro del intervalo encontrado en la literatura pero muy cercano al extremo inferior. Este comportamiento puede esperarse cuando se trabaja con huesos de animales jóvenes ya que el arreglo aleatorio del tejido es menos resistente que el arreglo ordenado de huesos adultos. Además de esto puede ocurrir que aún no se halla detenido el crecimiento de los huesos y se encuentren zonas de placas de crecimiento (cartílago) cuya resistencia mecánica es mucho menor. Todos estos son parámetros que deben ser tomados en cuenta cuando se requiere minimizar el rango de variación de las propiedades del hueso, reduciendo las variables que pueden afectarlas.

En cuanto a la obtención de las curvas al no existir un consenso en cuanto a la determinación del límite de cedencia, este no fue calculado. A pesar de que existen autores que usan el método del trazo de una paralela, este no es aplicable a una deformación fija porque el hueso de determinada especie puede ser notablemente más resistente que la otra y los rangos de deformación elástica son variables. La determinación de un criterio mas preciso puede ser el objetivo de trabajos posteriores.

Las gráficas que se realizaron con los porcentajes de error entre un módulo de Young de una pareja de puntos y la subsecuente se realizó con el objetivo de determinar si la variación de este módulo de Young es aceptable. El comportamiento de las gráficas muestra que se observa un patrón de incremento – decremento entre cada módulo obtenido

en el intervalo de la región elástica considerada (0.75-1.75 de ϵ), este comportamiento es muy notorio en la primer parte y en la zona final se reduce. Su origen puede explicarse en base a la celda de carga que se utilizó que no es muy sensible e introduce un error en las lecturas.

Para corregir estas lecturas se debe cambiar a una celda de carga mas sensible que permita realizar inferencia respecto a este comportamiento. A pesar de esto se puede ver que el módulo de Young obtenido para los primeros puntos oscila entre valores mayores a los finales lo que indica que el comportamiento del hueso, como ha sido reportado extensamente, no es perfectamente elástico. En este caso se observa que el módulo de Young se va reduciendo conforme se acerca la deformación plástica del hueso, esto lleva a que el hueso como estructura precargada no es tan resistente como indican las pruebas *in vitro*, lo que da una buena justificación para efectuar ciclos de precarga (Rohl, 1991).

La gráfica de errores muestra que en efecto la parte mas lineal de la curva se obtiene cuando se acerca la deformación plástica. Un estudio de el comportamiento *in vivo* del hueso que lo idealice como lineal podría fundamentarse en que el hueso precargado trabajaría en la zona mas elástica, pero esto depende de que tan precargado se encuentre y que tan cerca trabaja de su zona de fractura.

La mayoría de las inferencias que se pueden hacer de estas curvas deben ser fundamentadas en pruebas sobre colecciones de huesos debido a sus variaciones individuales. Siendo estos estudios la base para cualquier proposición generalizada sobre hueso.

Con base en los métodos que se establecieron existen diferentes líneas de investigación que pueden abordarse. Una de ellas es el estudio de la viscoelasticidad del hueso, ya que aunque existen estudios que determinan las constantes viscoelásticas del hueso, estos se fundamentan en un solo modelo y aún no se establece cuál de los modelos existentes es el que mejor representa el comportamiento del hueso.

Los estudios acerca de la viscoelasticidad del hueso son importantes para entender la dinámica de los procesos biológicos del hueso y su comprensión ayudaría a entender también los mecanismos de fractura del mismo.

Las pruebas que se realizaron pueden aplicarse a diferentes tipos de huesos y en diferentes direcciones, eligiendo las direcciones de los esfuerzos máximos a los que se somete el material con el fin de determinar condiciones de fractura.

Todo lo anterior se basó en que la distribución del material óseo puede ser considerada como homogénea pero este es un parámetro que puede explicar la variación entre las propiedades que se predicen y las reales. Un análisis más profundo puede incluir hasta que punto las discontinuidades en el material afectan sus propiedades macroscópicas y si pueden funcionar como predictores de las mismas.

El hueso a pesar de ser un material muy estudiado aún presenta interrogantes respecto a su comportamiento y con la importancia que tiene a lo largo de nuestras vidas se justifican los estudios que se realizan para poder entender su funcionamiento. Además de esto, desde el punto de vista de los materiales, las propiedades que presenta son una excelente interacción entre estructura y propiedades del material por lo que puede servir como base para el diseño de nuevos materiales con bajo peso y alta resistencia.

Las fracturas óseas relacionadas con la edad han tenido grandes repercusiones tanto sociales como económicas, por lo que la comprensión de los mecanismos fundamentales de éstas podría ayudar a generar estrategias para su prevención y tratamiento.

Con este trabajo se determinaron las características más simples de la arquitectura del hueso esponjoso vertebral de porcino pero la aplicación de la metodología se puede extender al hueso humano fácilmente. Con un análisis adicional de las propiedades mecánicas se busca establecer una relación predictiva entre éstas y las dimensiones morfológicas con el fin de reducir el rango de variación de las propiedades mecánicas clasificando de una forma estructural cuantitativa al hueso esponjoso.

Esta clasificación actualmente se realiza de forma cualitativa mediante la observación de las estructuras predominantes en una zona determinada del hueso, pero no se ha relacionado cuantitativamente con parámetros de distribución de esfuerzos o mediciones estructurales.

Las ventajas de los métodos morfológicos son: tecnología disponible, bajo costo y una clasificación simple de las estructuras.

En cuanto a las pruebas mecánicas se trató de simular las condiciones fisiológicas y se consideró al hueso esponjoso como un continuo. Esto a simple vista no es cierto por lo que una posible línea de investigación en el hueso esponjoso es considerarlo como un medio poroso continuo aplicando las ecuaciones correspondientes.

Como siguiente paso del proyecto se procederá, con los datos obtenidos a elaborar modelos matemáticos y a su solución mediante simulación numérica por elemento finito en la paquetería ABAQUS.

GLOSARIO

Birrefringente.- Que presenta doble refracción de rayos luminosos; cuando el material se ilumina con luz polarizada se observan dos tonalidades.

Canal de Volkmann.- Canal transversal de nutrición que se encuentran dentro de los osteones del hueso cortical.

Canal haversiano.- Canales longitudinales que forman el eje de los osteones en el hueso cortical.

Canalículos.- Canales tubulares que se extienden desde las lagunas y por los que corren las prolongaciones celulares para conectarse.

Cavidad de resorción.- Huecos que dejan los osteoclastos al absorber hueso.

Célula de revestimiento.- Osteoblastos en reposo característicos por su forma alargada que se depositan en zonas de hueso inactivo.

Colágeno.- Proteína mas abundante en el cuerpo que proporciona el armazón flexible para el depósito de mineral en los huesos.

Compacto, Hueso.- Arreglo denso del tejido que forma los huesos ($\rho > 70\%$).

Diáfisis.- Región central, tubular y hueca de los huesos largos.

Epífisis.- Extremos de los huesos largos.

E esponjoso, Hueso.- Arreglo poroso del tejido que forma los huesos ($\rho < 70\%$).

Fibras de colágeno.- Arreglo de fibrillas colágenas para forman fibras de mayor tamaño.

Fibrillas colágenas.- Arreglo de triple hélice del colágeno.

Hemiosteón.- Estructura presente en trabéculas muy anchas que presenta un canal central al igual que los osteones pero tiene una geometría mas irregular.

Laguna.- Huecos presentes en el tejido óseo ocupados por células.

Lamela.- Arreglo en capas de fibras de colágeno.

Líneas de cemento.- Interfase entre osteones ocupada por una sustancia formada con proteínas que hace la función de adhesivo.

Matriz orgánica.- Armazón flexible del hueso, esta formada por colágeno y la sustancia amorfa. Es secretada por células vecinas.

Matriz ósea.- Material compuesto por una parte orgánica (colágeno) y otra inorgánica (mineral).

Metáfisis.- Parte cónica que une la diáfisis con la epífisis en huesos jóvenes antes de que se fusionen por el fin del crecimiento.

Osteoblasto.- Célula ósea que se encarga de sintetizar y secretar la matriz orgánica (osteóide)

Osteocito.- Célula ósea más abundante en los huesos maduros que se encargan de transmitir la información de estímulos mecánicos e intercambio iónico.

Osteoclasto.- Células encargadas de disolver hueso, tanto la parte orgánica como la mineral.

Osteón.- Estructura cilíndrica formada por capas de lamelas alrededor de un canal haversiano que constituye la unidad estructural del hueso cortical.

Paquete trabecular.- Segmento angular que constituye la unidad estructural de las trabéculas y se forma por hojas paralelas de lamelas.

Polarizador.- Elemento del microscopio que deja pasar la luz a determinadas longitudes de onda.

Sustancia amorfa.- Sustancia compuesta de proteínas que funciona como adhesivo entre las fibras de colágeno.

Tejido conectivo.- Constituyen una familia de tejidos que se caracterizan porque sus células están inmersas en material intercelular, llamado la matriz extracelular.

Trabécula.- Unidad estructural del hueso esponjoso, pueden tener forma de barras o placas.

REFERENCIAS

- Amelinckx, S et al. ed. 1997.[Manual de Microscopía: Aplicaciones en Ciencia de Materiales y Física y Química del Estado Sólido. Vol. I: Métodos] **“Handbook of Microscopy: Applications in Materials Science, Solid-State Physics and Chemistry. Vol. I: Methods”** VCH.
- An, Yuehwei H. y Martin, Kylie L. eds. 2003. [Manual de métodos histológicos para hueso y cartílago]. **Handbook of Histology Methods for Bone and Cartilage**. Humana Press. E.U.A.
- Ashman, R.B. 1988. [Módulo elástico del material óseo trabecular]. **“Elastic modulus of trabecular bone material”**. Journal of Biomechanics. Vol. 21. No.3. Págs. 177-181.
- Brito, Eva Leticia. 1999. **El deterioro de los restos humanos y su relación con el tiempo de enterramiento**. Col. Científica. Serie Antropología Física. INAH. México.
- Buckwalter, J. A.; Glimcher, M. J.; Cooper, R. R.; Recker, R. 1995. [Biología del hueso. Parte 1 y 2] **“Bone Biology. Part 1 & 2”**. The Journal of Bone and Joint Surgery. Vol.77-A. No 8. Págs. 1256-1289.
- Cowin, Stephen C. 1999. [Poroelasticidad del hueso] **“Bone porelasticity”**. Journal of Biomechanics Vol. 32 . No. 3. Pags. 217-238.
- Cowin, Stephen ed. 2001. [Manual de mecánica del hueso]. **Bone Mechanics Handbook**. CRC Press. E.U.A.
- Currey, J.D. 2002 [Huesos: Estructura y Mecánica] **Bones: Structure and Mechanics**. Princeton University Press. E.U.A.
- Fung, Yuan-Cheng. 1993. [Biomecánica: propiedades mecánicas de tejidos vivos]. **Biomechanics: mechanical properties of living tissues**. Ed. Springer. 2ª ed. E.U.A.

- Fyhrie, D. P. y Kimura, J. H. 1999. [Biomecánica del hueso esponjoso]. **“Cancellous bone biomechanics”**. *Journal of Biomechanics*. Vol. 32. No. 11. Págs. 1139-1148.
- Gibson, L. J. 1985. [El comportamiento mecánico del hueso esponjoso]. **“The mechanical behaviour of cancellous bone”**. *Journal of Biomechanics*. Vol. 18. No. 5. Págs. 317-328.
- Gibson, L. J. y Ashby, Michael F. 1997. [Sólidos celulares: estructura y propiedades]. **Cellular solids: structure and properties**. Cambridge University Press. E.U.A.
- Goldstein, J. , et al. [Microscopía Electrónica de Barrido y Análisis de Rayos X] **Scanning Electron Microscopy and X-Ray Analysis**, 2ª ed. Plenum Press.1992)
- Gustafson, M. B.; Gibson, V.; Storms, D. H.; Stover, S. M.; Gibeling, J. y Griffin, L. 1996. [Calcio en solución es requerido para mantener la rigidez del hueso en solución salina] **“Calcium buffering is required to maintain bone stiffness in saline solution”**. *Journal of Biomechanics*. Vol. 29. No. 9. Págs. 1191-1194.
- Harrigan, T. P.; Jasti, M.; Mann, R. W. y Harris, W. H. 1988. [Límites en el supuesto de un continuo en el hueso esponjoso]. **“Limits on the continuum assumption of cancellous bone”**. *Journal of Biomechanics*. Vol. 21. No. 4. Págs. 269-275.
- Helfrich, Miep H. y Ralston, Stuart H., Eds. 2003. [Protocolos de investigación en hueso]. **Bone Research Protocols**. Humana Press. E.U.A.
- Junqueira. L. C. y Carneiro, José. 1996. **Histología Básica**. 4ª ed. Masson. España.
- Keaveny, T. M.; Guo, X. E.; Wachtel, E. F.; McMahon, T. A. y Hayes, W. C. 1994. [El hueso trabecular exhibe un comportamiento totalmente elástico y cedencia a bajas deformaciones] **“Trabecular bone exhibits fully linear elastic behavior and yields at lows strains”**. *Journal of Biomechanics*. Vol. 27. No.9. Págs. 1127-1136.
- Keaveny, Tony M. y Hayes, Wilson C. 1993. [Una perspectiva de 20 años en las propiedades mecánicas del hueso trabecular] **“A 20-year Perspective on the Mechanical Properties of Trabecular Bone”**. *Journal of Biomechanical Engineering*. Vol. 115. Págs. 534-542.
- Kim, H.S., Al-Hassani, S.T.S. 2002. [Un modelo morfológico del hueso vertebral trabecular]. **“A morphological model of vertebral trabecular bone”**. *Journal of Biomechanics*. Vol. 35. No. 8. Págs. 1101-1114.
- Kowalczyk, Piotr. 2003. [Propiedades elásticas del hueso esponjoso derivadas de modelos de elemento finito de celdas microestructurales parametrizadas]. **“Elastic properties of cancellous bone derived from finite element models of parameterized microstructure cells”**. *Journal of Biomechanics*. Vol. 36. No. 7. Págs. 961-972.
- Liu, Danmei; Weiner, Steve; Wagner, H. Daniel. 1999. [Propiedades mecánicas anisotrópicas del hueso lamelar usando especímenes miniatura en cantiliver a flexión]. **“Anisotropic**

- mechanical properties of lamellar bone using miniature cantilever bending specimens**". Journal of Biomechanics. Vol. 32. No. 7. Págs. 309-319.
- Rohl, L.; Larsen, E.; Linde, f.; Odgaard, A. y Jorgensen, J. 1991. [Propiedades a tensión y compresión del hueso esponjoso]. "**Tensile and compressive properties of cancellous bone**". Journal of Biomechanics. Vol. 24. No. 12. Págs. 1143-1149.
- Sastre, Roberto et. al. ed. 2004. **Biomateriales**. Faenza Editrice Ibérica. España
- Turner, C. H.; Cowin S. C.; Rho, J. Y. y Ashman, J. C. 1990. [Dependencia paramétrica de las constantes ortotrópicas del hueso esponjoso] "**The fabric dependence of the orthotropic elastic constants of cancellous bone**". Journal of Biomechanics. Vol. 23. No. 6. Págs. 1143-1149.
- Weiss L. ed. 1998. [Biología tisular y celular: un libro de texto de histología] **Cell and Tissue Biology. A Textbook of Histology**. Urban and Schwarzenberg. E.U.A.
- Yoon, Y. J., Cowin, S.C. 2001. [Cómo estimar las constantes elásticas efectivas isotrópicas y transversalmente isotrópicas de un tejido a partir de valores conocidos de sus constantes ortotrópicas] "**How to estimate the effective isotropic and transversely isotropic elastic constants of one tissues known values of their orthotropic elastic constants**". BED Bioengineering Conference. Vol. 50. Págs. 305-306.