



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE INGENIERÍA

**CARACTERIZACIÓN MICROESTRUCTURAL
DEL HUESO ESPONJOSO**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERO MECÁNICO**

P R E S E N T A:

OMAR PEÑA GARCÍA

DIRECTOR DE TESIS

M. en I. EDGAR ISAAC RAMÍREZ DÍAZ



CD. UNIVERSITARIA

2009

A mis padres: Gracias por todo el apoyo y la ayuda que me brindaron desinteresadamente a todo lo largo de mi vida escolar, que se ve culminada y plasmada en este trabajo escrito.

A Liz y Daniel: Con un agradecimiento muy especial, ya que siempre me brindaron su apoyo.

Para el M. en Ing. Edgar Isaac Ramírez Díaz por su dirección, paciencia y perseverancia.

Y para todos aquellos que de una forma colaboraron en mi preparación y formación profesional.

ÍNDICE

	Páginas
CAPÍTULO 1. HUESO TRABÉCULAR	
1.1 Estructura del hueso esponjoso o trabécular	1
1.2 Niveles jerárquicos en el hueso	3
1.3 Comportamiento mecánico	7
1.4 Pruebas mecánicas	9
1.5 Propiedades mecánicas de hueso	10
1.6 Propiedades sobre el comportamiento elástico trabécular	18
CAPÍTULO 2. CARACTERIZACIÓN MICROESTRUCTURAL	
2.1 Método de adquisición de imágenes	19
2.2 Características estructurales de las imágenes óseas	20
2.3 Método de medición de la calidad de hueso	21
2.4 Métodos estereológicos	25
CAPÍTULO 3. CARACTERIZACIÓN MICROESTRUCTURAL DEL HUESO ESPONJOSO	
3.1 Preparación de muestras	30
3.2 Metodología de medición	33
3.3 Resultados	36
CAPÍTULO 4. CONCLUSIONES	48
REFERENCIAS	49

Prólogo

A lo largo de la historia el ser humano ha tratado de idear la manera de realizar estudios sobre el hueso para lograr evitar y prevenir algunas enfermedades como la osteoporosis; que es la descalcificación del hueso que se va presentando conforme va pasando el tiempo.

Si bien el 80% del esqueleto esta compuesto de hueso cortical, se ha observado que las fallas debidas a enfermedades como la osteoporosis se presentan en regiones asociadas a hueso esponjoso, es por esto que este estudio se enfoca en esta clase.

Al hablar del hueso esponjoso se va hacer referencia a varios parámetros como son el espesor, método de intersección lineal y fracción de área para caracterizarlo. Para la determinación de los parámetros mencionados se tomaron como herramientas Autocad ®, Excel ® y Corel Draw ®; ya que estos programas facilitaron el manejo de imágenes e hicieron mas eficientes los cálculos.

El objetivo principal es establecer las metodologías para obtener una caracterización cuantitativa de la estructura trabécular, la cual aportará datos para modelos de elemento finito.

Algunas limitantes que se encontraron en la realización de esta investigación fueron la poca disponibilidad de huesos humanos. Debido a esto las muestras utilizadas fueron de hueso de porcino.

En el primer capítulo se describe lo que es el hueso trabécular, cuales son sus principales características, como es su comportamiento mecánico y que pruebas mecánicas se pueden hacer al mismo. La importancia de este capítulo es conocer lo que es el hueso esponjoso, ya que no son temas que comúnmente se aborden dentro de la ingeniería mecánica.

En el capítulo 2 se describe la metodología a seguir para caracterizar cuantitativamente las características geométricas de la estructura trabécular.

En el capítulo 3 se describen las mediciones hechas a las muestras de hueso obtenidas. Se obtuvieron parámetros como la longitud lineal, espacio trabécular, espacio hueco, % de hueso, % de hueco, número de trabéculas, número de huecos, tamaño promedio de trabéculas y tamaño promedio de huecos. Por último en el capítulo 4 se presentan las conclusiones de este trabajo, en las que se discuten los resultados obtenidos.

Capítulo 1 Hueso trabécular

1.1 Estructura del hueso esponjoso o trabécular

La estructura trabécular es una red interconectada de placas y barras que se encuentran en distintas direcciones (Figura 1.8). (Cowin, 2001)

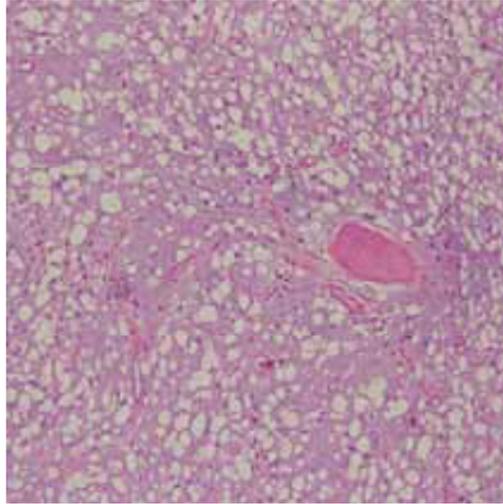


Figura 1.8 Esquema de hueso esponjoso. (www.patoral.umayor.cl)

El hueso esponjoso tiene la misma composición que el hueso cortical pero con una porosidad que va del 50 al 90%. Las células óseas se sitúan entre lámelas o en la superficie de las trabéculas donde pueden ser directamente influenciadas por la médula.

El hueso esponjoso ocupa el 20% de la masa esquelética. Se encuentra en los huesos largos y en los cuerpos vertebrales. Su densidad varía entre 0.05 a 0.7; cuando la densidad es menor a 0.17 se tiene una estructura de barras que forman a su vez celdas abiertas y para una densidad mayor a 0.2 se presentan celdas cerradas con una estructura de placas. (Gibson, 1985)

En el hueso poroso es difícil medir las propiedades mecánicas debido a que las trabéculas son de dimensiones pequeñas y es una de las principales razones por la cual se tiene la necesidad de construir modelos matemáticos para predecir su comportamiento mecánico.

El hueso esponjoso es no laminar o sea que la matriz no está organizada en laminillas, sino que las fibras colágenas que forman haces entrelazados.

La simetría de la estructura del hueso esponjoso depende de la dirección de la carga aplicada. Si las sollicitaciones del hueso esponjoso son complejas, entonces la estructura de la red trabécular también es compleja y altamente asimétrica como en el fémur. (figura 1.9). Pero en huesos donde la carga es preferentemente uniaxial, como en las vértebras, el arreglo trabécular se da de forma columnar con simetría cilíndrica. La columna del hueso está orientada en dirección vertical lo que da una alta rigidez y resistencia en la dirección de la carga. En la tabla 1.1 se resumen los valores de los parámetros más importantes. (Benvenuti, et.al, 1988)

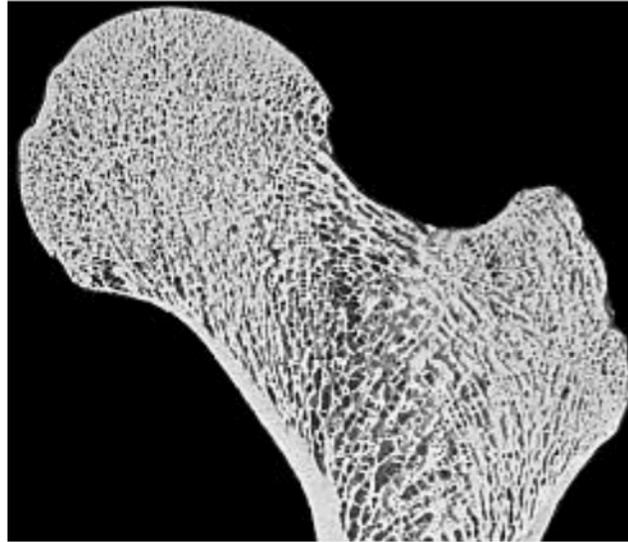


Figura 1.9 Fotografía de cabeza de fémur. (edocs.tu-berlin.de/diss/2004/kassi_jeanpierre.pdf)

Tabla 1.1 Parámetros del hueso trabécular (Benvenuti, et.al, 1988)

Característica estructural	Hueso trabécular
Fracción de volumen [mm^3/mm^3]	0.20
Superficie entre volumen de hueso [mm^2/mm^3]	20
Volumen total de hueso [mm^3]	0.35×10^6
Superficie interna del hueso [mm^2]	7×10^6

1.2 Niveles jerárquicos en el hueso

Para entender las características mecánicas del hueso, es importante entender a su vez el comportamiento mecánico de sus fases componentes, y la relación que existe entre ellas en los niveles jerárquicos de organización estructural.

Claramente las propiedades mecánicas del hueso son de alguna forma dependientes de las propiedades de los constituyentes. Esto significa que el hueso se puede considerar como un material compuesto. Los bloques de construcción básicos (nivel 1) que son las fibrillas de colágeno y los cristales en forma de placas extremadamente pequeñas de carbonato de apatita¹, con sólo cientos de ángstroms de ancho y longitud y unos 20-30 ángstroms de espesor. Estas placas están colocadas en forma ordenada dentro del marco de colágeno (nivel 2) formando las fibrillas de colágeno mineralizado. Las fibrillas mineralizadas están ordenadas en arreglos paralelos (nivel 3). Al siguiente nivel jerárquico, estos arreglos de fibrillas de colágeno mineralizadas están organizados en una estructura tridimensional (nivel 4). En el caso del hueso osteonal, la estructura tridimensional es fácilmente observada en las lámelas² del hueso, ya que estas están organizadas dentro de estructuras cilíndricas llamadas osteones³ (nivel 5) (Rho, et al., 1998). A la estructura que divide al hueso en cortical y trabéculas (nivel 6) y finalmente al hueso completo (nivel 7). A cualquier nivel jerárquico, se presentan distintas propiedades mecánicas por lo que es aceptable considerarlo como un material compuesto.

Los materiales compuestos son por definición no homogéneos, las propiedades de material resultante será la combinación de las propiedades de sus fases constituyentes. El concepto de compartir la carga entre la matriz y las segundas fases es clave para el entendimiento del comportamiento mecánico de un material compuesto.

1. **Apatita:** es un mineral con cristales hexagonales. Su composición química aproximada es $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F}, \text{Cl}, \text{OH})$. El color es variable aunque predominan los cristales incoloros, ó de color parduzco o verdoso.

2. **Lámelas:** Arreglo en capas de fibras de colágeno, formando placas.

3. **Osteón:** estructura cilíndrica formada por capas de lámelas alrededor de un canal haversiano que constituye la unidad estructural del hueso cortical.

En las figuras 1.1 a 1.7 se observan los distintos niveles jerárquicos del hueso:

Nivel 1: Cristales aislados de hidroxiapatita (lado izquierdo) y fibrillas de colágeno decoloradas del tendón de un pavo (lado derecho), obtenida mediante un microscopio electrónico de transmisión (TEM).

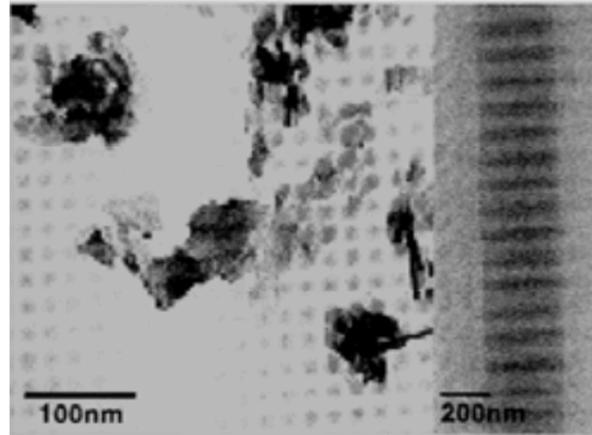


Figura 1.1 Nivel 1. (Cowin , 2001)

Nivel 2: Microfotografía de una fibrilla de colágeno mineralizado del tendón de un pavo, obtenida mediante un microscopio electrónico de transmisión (TEM).

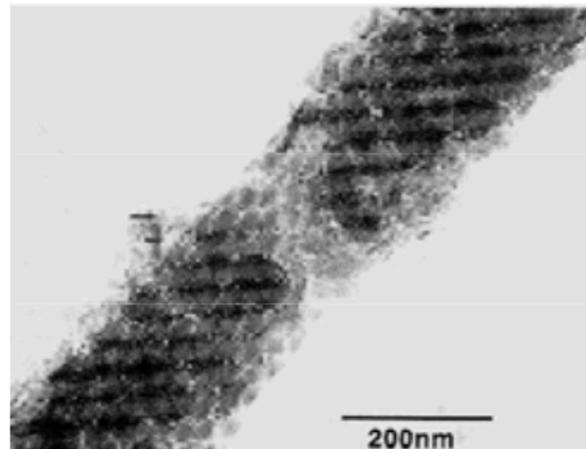


Figura 1.2 Nivel 2. (Cowin , 2001)

Nivel 3: Microfotografía de un arreglo de fibras del pavo mineralizado, obtenida mediante un microscopio electrónico de transmisión (TEM).

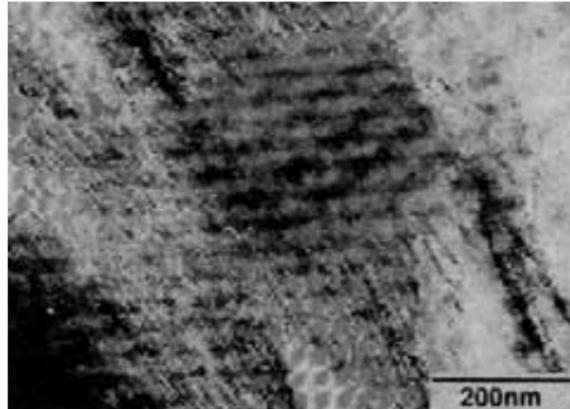


Figura 1.3 Nivel 3. (Cowin , 2001)

Nivel 4: Modelos de la organización de los patrones de fibrillas encontrados en el Hueso.

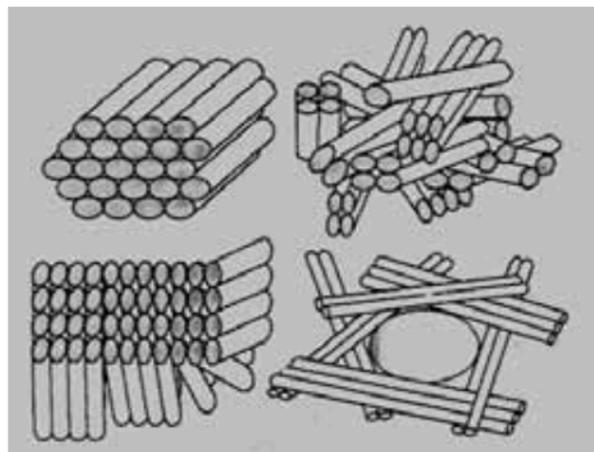


Figura 1.4 Nivel 4.(Cowin , 2001)

Nivel 5: Microfotografía de un osteón de hueso humano, obtenida mediante un microscopio electrónico de barrido (SEM).

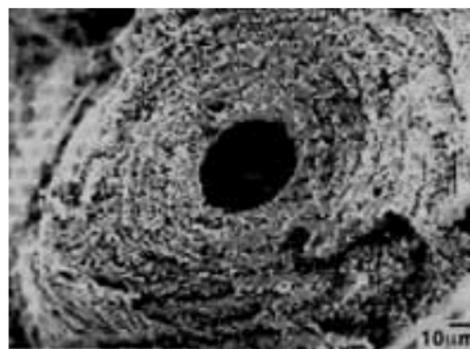


Figura 1.5 Nivel 5.(Cowin , 2001)

Nivel 6: Microfotografía de una sección fracturada de un fémur humano fosilizado, donde se observa que el hueso cortical rodea al hueso esponjoso.

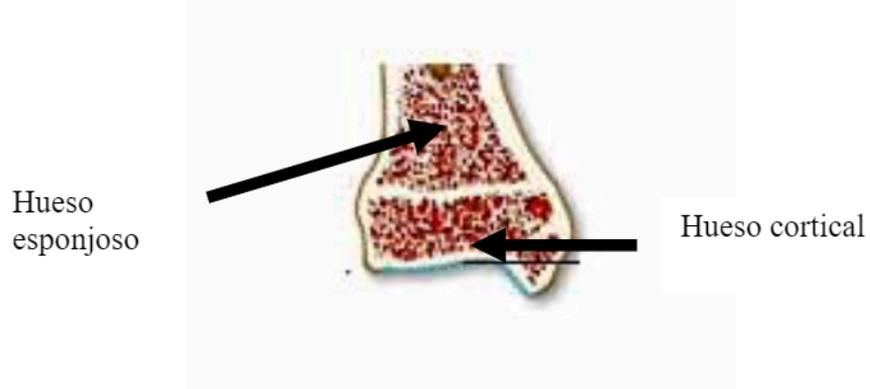


Figura 1.6 Nivel 6

Nivel 7: Hueso completo.

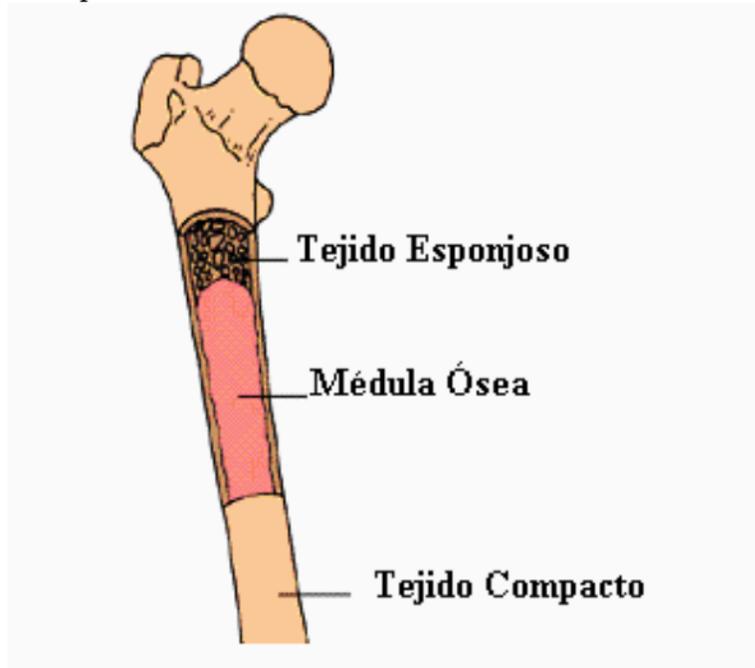


Figura 1.7 Nivel 7. (www.greenfacts.org/es/glosario/ghi/hueso.htm)

1.3 Comportamiento mecánico

Manejo del espécimen y consideraciones.

Las propiedades biomecánicas del hueso varían con el sitio anatómico y además son afectadas por la edad y la salud general del donador. La preparación y almacenamiento de los especímenes óseos pueden afectar las propiedades mecánicas del tejido.

Hidratación del hueso.

Se ha demostrado un incremento del 17% en el módulo de Young en el fémur del cuerpo humano y un incremento del 31% en la resistencia última, pero un decremento del 55% en la tenacidad, después del secado. Para la obtención de resultados precisos, es mejor probar al hueso en su condición hidratada. Esto se puede lograr manteniendo los especímenes en solución salina fisiológica o cubierta con gasas empapadas de la misma solución salina.

Temperatura

Como en la mayoría de los materiales biológicos, las propiedades mecánicas de los huesos son influenciadas por la temperatura de los alrededores. Para mediciones precisas de las propiedades mecánicas, los especímenes óseos deben ser examinados a 37°C. Sin embargo, esto no es siempre práctico. Pruebas a temperatura ambiente (23°C) incrementan el módulo de Young de los huesos de 2 a 4% comparados con las pruebas realizadas a 37°C. Las variaciones en las mediciones en biomecánica pueden ser reducidas con el cuidadoso control de la temperatura.

Velocidad de deformación.

La velocidad en la cual la carga es aplicada durante las pruebas biomecánicas del hueso afecta las mediciones de rigidez y resistencia. En su estado natural, el hueso es viscoelástico. Cuando el hueso es secado, su naturaleza viscoelástica desaparece y se comporta como un resorte perfecto, pero cuando el hueso está húmedo, se comporta como un resorte con un amortiguador.

La resistencia del hueso como “amortiguador”, varía proporcionalmente a la velocidad en la cual la carga es aplicada, por lo que las propiedades mecánicas del hueso húmedo varían ligeramente con la velocidad de deformación. Si la velocidad de deformación es incrementada en un orden de magnitud, la resistencia ósea medida se incrementará alrededor del 15%. Si se tratan de simular condiciones fisiológicas, la velocidad de deformación debe estar entre el 0.01 y 0.08/s, el cual está dentro del rango de la velocidad de deformación que ocurre *in vivo*. (Cowin, 2001)

Comportamiento mecánico del hueso esponjoso

La curva esfuerzo- deformación está caracterizada por 3 regiones: Régimen elástico lineal, correspondiente a la flexión de los bordes o la deformación de las paredes, el colapso plástico, que depende de la naturaleza del sólido del que está hecho el material y finalmente la densificación, correspondiente al colapso de las celdas a través del material y de la carga subsecuente de los bordes de las caras de las celdas, unas sobre otras.

Si las barras o las placas tienen una elevada relación entre longitud y espesor, la falla se da por pandeo elástico, tanto en especímenes húmedos como secos. Pero a bajas relaciones los especímenes húmedos sufren microgrietas mientras que los secos fracturan de forma frágil.

La segunda etapa continúa a un esfuerzo constante hasta que las paredes de las celdas se encuentran unas con otras. Una vez que esto pasa la resistencia a la carga aumenta, en la última pendiente creciente de la curva.

En la Figura 1.10 se observan las tres etapas que describen el comportamiento mecánico del hueso esponjoso, donde cada una de las curvas pertenece a una distinta densidad relativa y donde a un valor mayor de ésta se tiene una mayor resistencia mecánica.

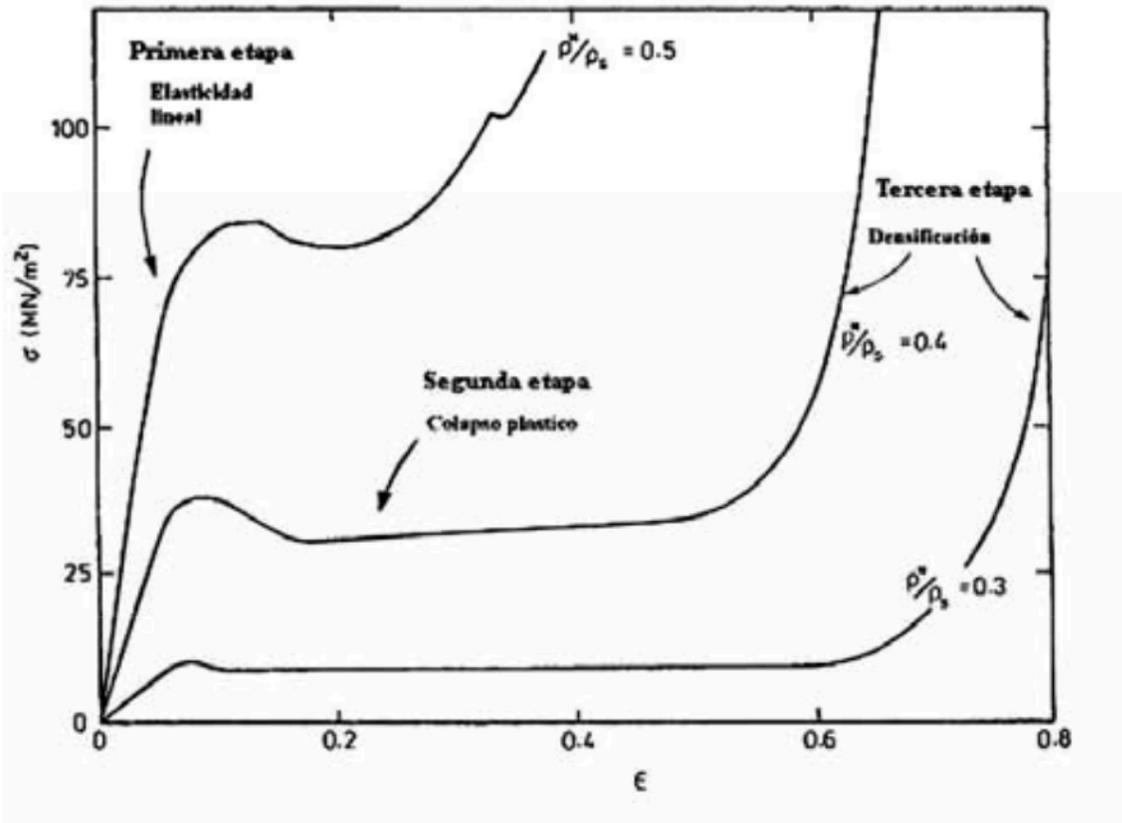


Figura 1.10 Curvas características de hueso esponjoso. (Gibson, 2004)

1.4 Pruebas Mecánicas

Medir las propiedades mecánicas del tejido del hueso esponjoso es más difícil que del tejido del hueso cortical. Varios métodos directos han sido utilizados para determinar el módulo del tejido de trabéculas individuales en los últimos 30 años. Los módulos reportados han fluctuado desde 0.76 a 20 GPa. (Cowin, 2001)

Prueba de Flexión

Las pruebas de flexión han sido utilizadas regularmente para determinar los módulos del tejido del hueso esponjoso.

Las ventajas que ofrece esta prueba son: (1) facilidad de implementación además de ser insensible al alineamiento de la muestra; (2) se reproduce un modo de deformación fisiológico importante de la trabécula. Sin embargo, varias cuestiones deben ser tomadas en cuenta en las pruebas de flexión. Primero, la anisotropía y la heterogeneidad del tejido óseo causa una distribución del esfuerzo no lineal complejo y se traduce en errores cuando se aplica la fórmula para flexión elástica simple.

Segundo, el esfuerzo concentrado en la base causa distorsión por esfuerzos locales, que pueden ser amplificados por defectos biológicos en el maquinado de la superficie del tejido. La figura 1.11 muestra un ensayo de flexión en 4 puntos.

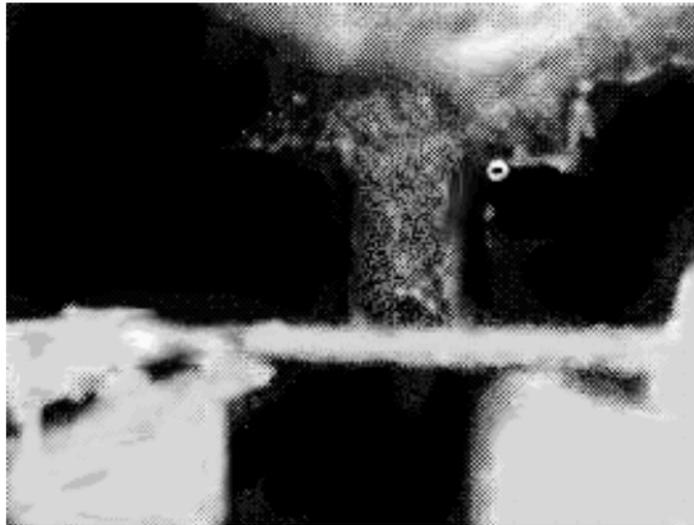


Figura. 1.11 Técnica de micro pruebas para medir las propiedades mecánicas del tejido óseo esponjoso. (Cowin, 2001)

Las pruebas a flexión son útiles para medir las propiedades mecánicas de huesos largos. Para huesos de animales pequeños es muy difícil de maquinar las muestras de prueba para tracción o compresión. El hueso es más débil en tracción que en compresión, por lo que en una prueba a flexión la falla usualmente ocurre en el lado que se encuentra a tracción del hueso. La longitud de la muestra que es cargada debe ser lo suficientemente larga para garantizar una prueba precisa, si la distancia entre los apoyos L es pequeña, mucho del desplazamiento inducido por la carga será debido a los esfuerzos cortantes y no por flexión. Para las muestras óseas, la relación entre la longitud y el ancho debe ser al menos 20:1 para garantizar que los desplazamientos por cortante sean insignificantes.

1.5 Propiedades mecánicas del hueso

Se ha demostrado, tanto experimentalmente (Carter, 1977), como numéricamente (Gibson, 1985), que el módulo de elasticidad de hueso esponjoso depende de la densidad estructural del mismo. Pero en determinadas zonas, el hueso tiene una estructura anisótropa y, por lo tanto, su comportamiento no se puede predecir simplemente mediante la densidad.

Con el desarrollo de técnicas como la tomografía axial computerizada (TAC) en aquellas zonas en las que el hueso esponjoso se puede considerar como un comportamiento anisotrópico, se pueden determinar sus propiedades mecánicas directamente a partir de la densidad obtenida en imágenes radiográficas.

El comportamiento del hueso esponjoso a partir de las características mecánicas de las trabéculas, definiendo modelos a nivel microscópico que representan la arquitectura de las estructuras trabeculares y que permiten reproducir el comportamiento de la estructura básica del hueso. (Fazzalar, 1989)

Para determinar las propiedades mecánicas de la trabécula, existen distintas hipótesis. En un principio se considera que el tejido óseo de la trabécula es el mismo que el del hueso cortical, de modo que las propiedades mecánicas de las trabéculas de la zona esponjosa no difieren mucho de las del hueso de la zona cortical.

Carter (1976) reporta que el hueso cortical y el esponjoso se puede considerar como un único material, con diferencias en las propiedades mecánicas debidas principalmente a la variación de su densidad estructural. Pero desde 1988 se ha discutido mucho esta hipótesis Ashman 1988, Choi 1990, Keller 1990, Rice 1988. En los ensayos realizados por Rho 1993, la media del módulo de elasticidad determinado para la trabécula fue de 14.8 GPa por ultrasonidos y 10.4 GPa en el ensayo de tracción frente a los 20.7 y 18.6 GPa obtenidos respectivamente según los mismos ensayos para una serie de muestras tomadas de la zona cortical.

En ambos ensayos se observa como el módulo de elasticidad de las trabéculas es significativamente menor que el obtenido en la muestra de hueso cortical. Analizando estos resultados se demuestra que desde el punto de vista mecánico, el hueso de la zona cortical y esponjosa no se pueden considerar el mismo material.

Para confirmar esta hipótesis en la tabla 1.2 se han resumido los valores del módulo de elasticidad del material de la trabécula, según distintos autores. Se observa como efectivamente estos valores son sensiblemente inferiores a los obtenidos para el hueso cortical, indicados en la tabla 1.3.

Tabla 1.2. Módulos de elasticidad de la trabécula, determinados por distintos autores. (www.uax.es)

Autor	Tipo de hueso	Método utilizado	Módulo de elasticidad de la trabécula
Wolff, 1892	Húmedo	Hipótesis	17-20 GPa
Pugh, 1973	Fémur distal	Elementos finitos	Menor que el cortical
Runkle, 1975	Fémur distal seco	Deformación	8.69 GPa
Townsend, 1975	Tibia proximal	Deformación no elástica	11.38GPa (fresco) 14.13GPa(seco)
Williams, 1982	Tibia proximal	Elementos finitos 2- D	1.3GPa
Ku, 1987	Tibia congelada fresca	Flexión en 3 puntos	3.17GPa
Mente, 1987	Fémur seco Tibia fresca	Empotramiento a flexión con M.E.F	5.3GPa
Ashman, 1988	Fémur	Ultrasónicos	12.7GPa
Choi, 1989	Tibia	Flexión en 3 puntos	4.59GPa
Kuhn, 1989	Cresta iliaca	Flexión en 3 puntos	3.81GPa
Mente, 1989	Fémur seco Tibia fresca	Empotramiento a flexión con M.E.F	7.8GPa
Jensen, 1990	Vértebra	Análisis estructural con modelo 3 -D	3.8 GPa
Choi, 1991	Tibia	Flexión en 4 puntos	5.35GPa
Rho, 1993	Tibia	Ultrasónicos Ensayo tracción	14.8GPa 10.4GPa

Tabla 1.3. Módulos de elasticidad E, determinado experimentalmente por distintos autores. (www.uax.es)

	Fémur fresco (Ahman, 1984)	Fémur fresco (Meunier, 1989)	Fémur seco (Yoon, 1976)
$E_x=E_y$ (GPa) (transversal)	13.48	12.41	18.8
E_z (GPa) (longitudinal)	20.6	20.35	27.4

La obtención de las propiedades del hueso esponjoso es la resultante entre la carga aplicada a una estructura y el desplazamiento de la muestra como se observa en la figura 1.12

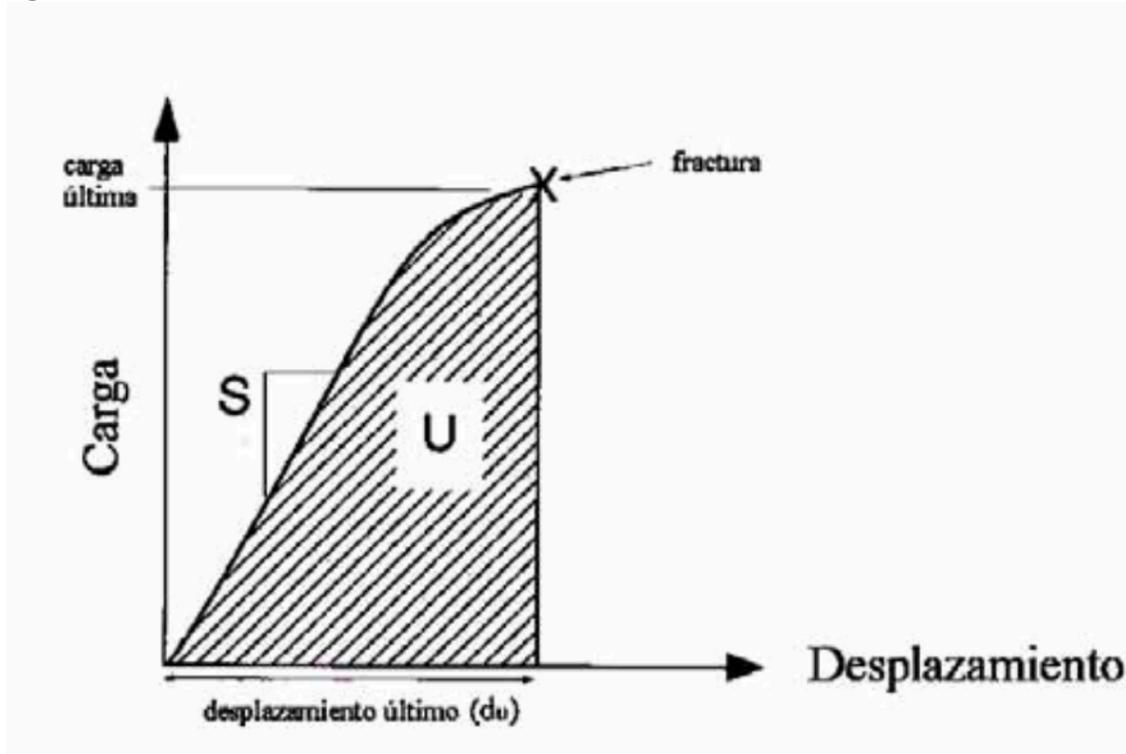


Figura. 1.12 La curva Carga-Desplazamiento, ilustra los 4 parámetros importantes para la muestra ósea: carga última, rigidez (S), trabajo (U) y desplazamiento último. (Cowin, 2001)

Los parámetros biomecánicos (S, U, carga última, desplazamiento último) pueden ser utilizados para caracterizar la totalidad del hueso. La pendiente de la región elástica de 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), el desplazamiento último.

Al convertir la carga en esfuerzo y el desplazamiento en deformación se tiene la curva esfuerzo deformación. La inclinación de la curva esfuerzo-deformación dentro de la región elástica es el módulo de elástico o módulo de Young, que es la medida de 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 tenacidad. El esfuerzo y deformación máxima que el hueso puede sufrir son llamados el esfuerzo y deformación última, respectivamente. En la siguiente gráfica se ve el comportamiento de la región elástica y plástica. (Figura 1.13)

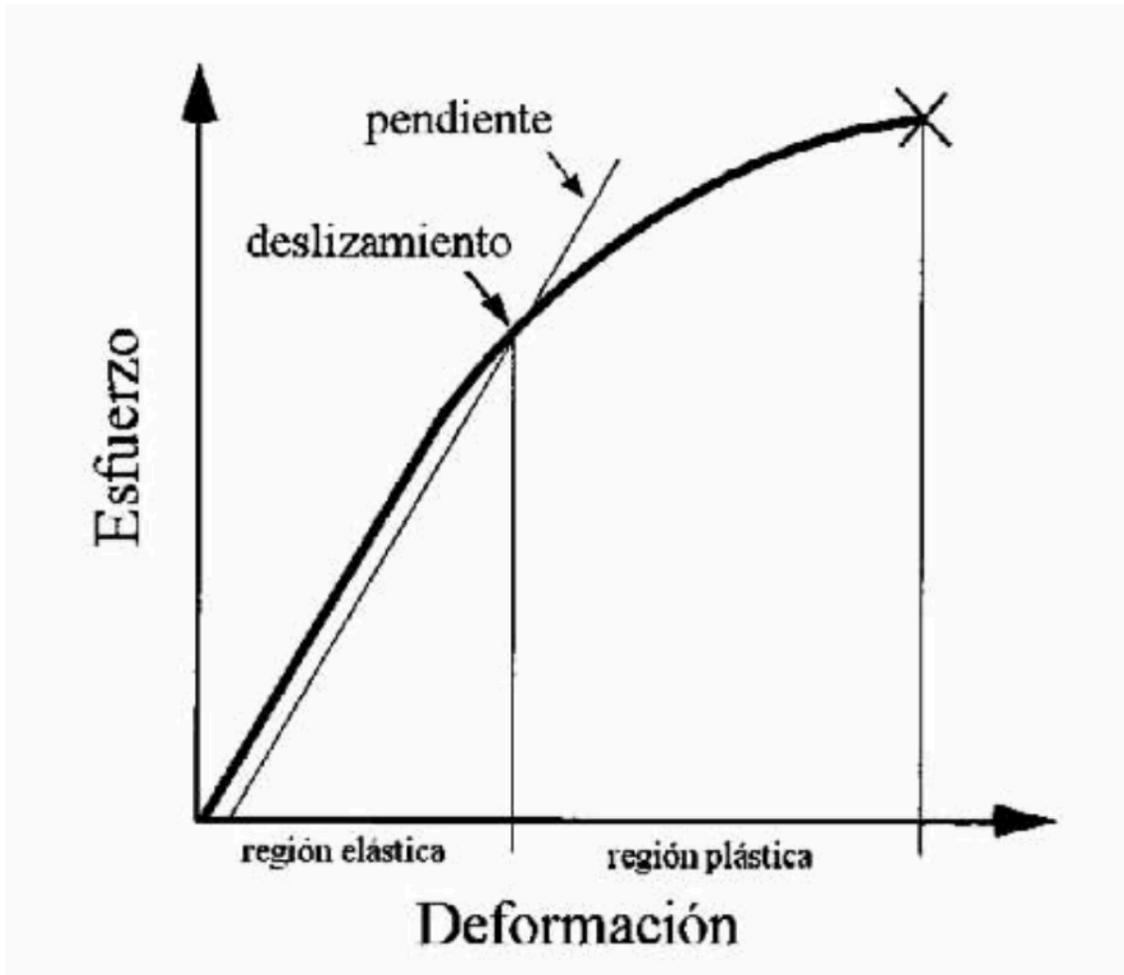


Figura. 1.13 La curva esfuerzo deformación está dividida en regiones tanto elástica como plástica por el punto de fluencia (el nivel del esfuerzo en el cual se origina el daño permanente en la matriz ósea).este punto es frecuentemente estimado trazando una línea paralela pero desplazada a una distancia predeterminada desde la parte lineal de la curva, y la intersección de la curva esfuerzo-deformación, con la línea de desplazamiento ubican el punto. (Cowan, 2001)

Pruebas a tracción

La prueba a tracción es el método más preciso para medir las propiedades mecánicas del hueso, consiste en aplicar una fuerza sin inducir un momento de torsión en la muestra. La medición de la deformación puede realizarse colocando un extensómetro en la parte media de la muestra.

Las muestras para la prueba deben ser relativamente grandes y cuidadosamente maquinadas (muestras como las de la figura 1.14 tienen de 15 a 20 mm de longitud) la técnica de preparación de los especímenes, comienzan con un cilindro de 40 mm de diámetro del hueso esponjoso). El tamaño limita la utilidad de la prueba tensión para el hueso, particularmente cuando se realiza en el hueso esponjoso, ya que el espécimen debe ser lo suficientemente grande para permitir que la estructura trabécular sea tratada como un continuo.

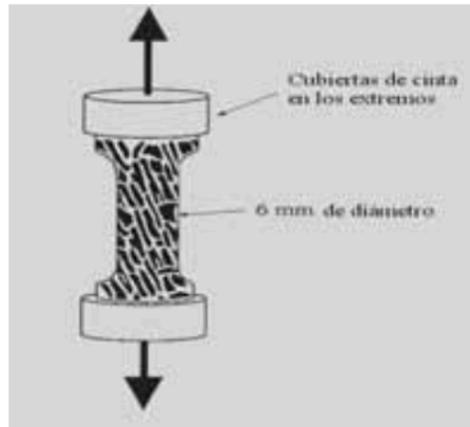


Figura. 1.14 Muestra del hueso esponjoso. (Cowin, 2001)

Pruebas de flexión

Las pruebas a flexión son útiles para medir las propiedades mecánicas de huesos largos. Para huesos de animales pequeños es muy difícil de maquinar las muestras de prueba para tracción o compresión. El hueso es más débil en tracción que en compresión, por lo que en una prueba a flexión la falla usualmente ocurre en el lado que se encuentra a tracción del hueso.

Para las muestras óseas, la relación entre la longitud y el ancho debe ser al menos 20:1 para garantizar que los desplazamientos por cortante son insignificantes. (Figura 1.15)

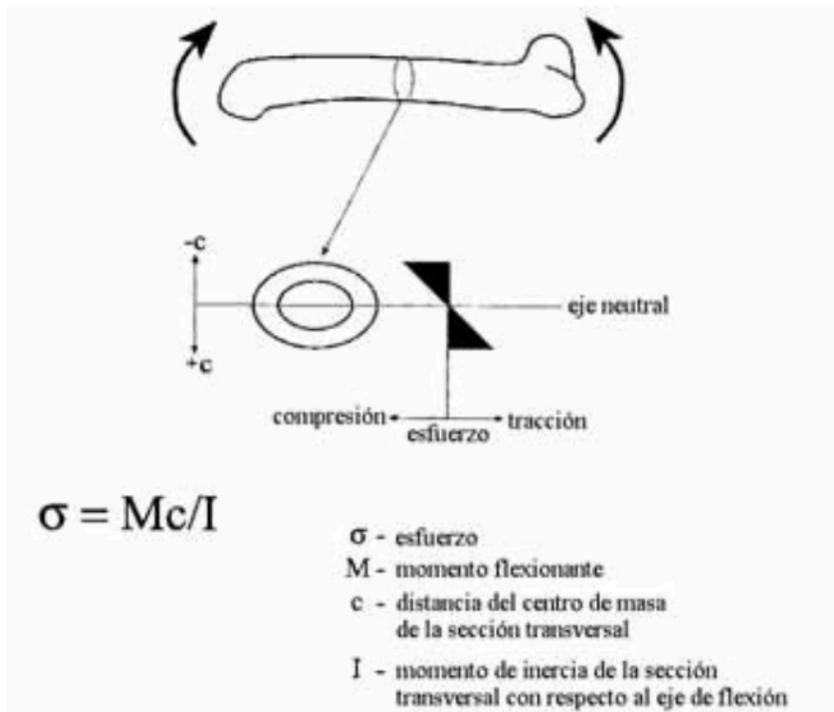


Figura. 1.15 La flexión causa tanto esfuerzos de compresión como de tracción. La magnitud de los esfuerzos es máxima en la superficie del hueso y es cero en el eje neutro. (Cowin, 2001)

Pruebas en sitios específicos

Diversos métodos han sido desarrollados para medir propiedades biomecánicas en una variedad de sitios anatómicamente diferentes. Un tema de interés clínico en particular es el cuello femoral. Con la aceleración reciente en el desarrollo de drogas para prevenir las fracturas de caderas asociadas con la osteoporosis, ha habido un interés considerable en la biomecánica del cuello del femoral.

Para medir la resistencia del cuello femoral, el extremo proximal del fémur es montado en un aditamento de carga, éste es insertado en una resina plástica o sujetado, una fuerza es aplicada a la cabeza hasta que el cuello se fracture. Esta prueba produce una curva carga-desplazamiento. Existen dos configuraciones comunes de carga para el cuello femoral: si la carga es aplicada paralela al tallo (configuración axial) o en una configuración simulada de caída, que provee información valiosa acerca de la biomecánica de la cadera humana bajo condiciones reales de carga. (Figura 1.16)

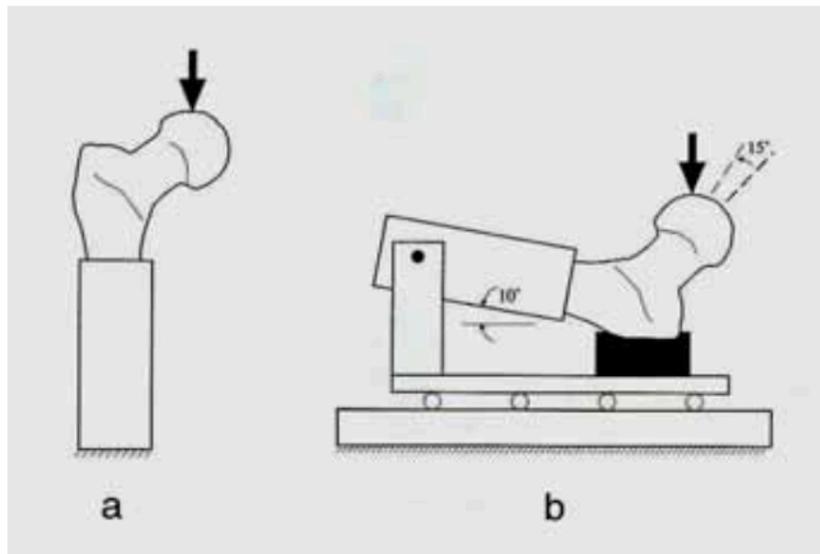


Figura. 1.16 Pruebas Biomecánicas del cuello del femoral típicamente utilizado en la configuración de carga axial (a) o en la configuración simulada de caída. (Covin, 2001)

Pruebas de indentación

Las pruebas de indentación son utilizadas para establecer el módulo de Young y la resistencia de hueso subcondral y el hueso subyacente trabécular cerca de las articulaciones del hueso adyacente a los implantes. Las pruebas son comúnmente realizadas con un indentador de blunt, en rangos de 2.5 a 6 mm de diámetro, con una velocidad de desplazamiento de 2 mm/min y a una profundidad de 0.2 a 0.5 mm. Como el indentador penetra a la muestra, la curva carga-desplazamiento es creada, la resistencia del hueso es estimada como la carga máxima dividida por el área transversal del indentador. El módulo de Young es calculado como:

$$E = S \left(\frac{1 - \nu^2}{d} \right)$$

S – Pendiente de la curva carga-desplazamiento

d – Diámetro

ν - Radio de Poisson

Pruebas mecánicas de impacto

El objetivo de la mecánica de la fractura es describir el proceso de ésta en un material estructural. La relación importante está dada entre el campo local de los esfuerzos cerca de una punta de grieta y el crecimiento de la misma. Una prueba mecánica de fractura produce dos parámetros importantes: el factor de la intensidad crítica del esfuerzo, K_c , y la velocidad de descarga de la energía de la deformación crítica, G_c . Existen varias geometrías de los especímenes que son útiles para determinar los parámetros de la fractura (figura 1.17).

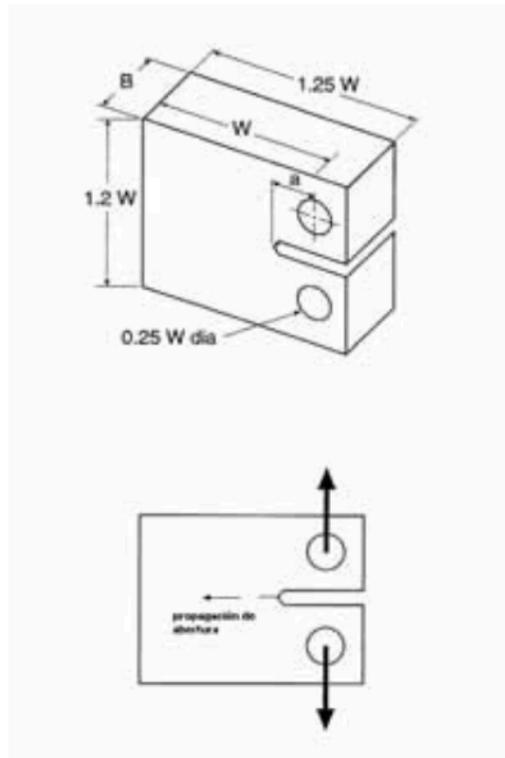


Figura. 1.17 Configuración de la probeta compacta a tracción (superior). Esta geometría está de acuerdo con la norma ASTM E 399-83, donde a es la longitud de la grieta y B es idealmente $W/2$. (Covin, 2001)

Pruebas de fatiga

Cuando un material es cargado repetitivamente, donde las sollicitaciones están dentro de la región elástica de la curva esfuerzo-deformación, sus propiedades mecánicas se degradan gradualmente sobre un periodo de tiempo. Esta degradación de la resistencia y el módulo de Young con respecto al tiempo es llamado fatiga. En los huesos, la reducción en las propiedades mecánicas es atribuido a la formación de pequeñas grietas dentro de la estructura ósea. Como la carga continúa, estas grietas crecen y se unen hasta que finalmente, el hueso falla catastróficamente. La fatiga en los huesos puede ocurrir de dos maneras: deslizamiento de las líneas de cemento o la acumulación de las grietas.

Nano y Micro pruebas

Existen un número de técnicas desarrolladas para medir las propiedades biomecánicas del hueso a un nivel micro y nanoestructural. Las técnicas de micro y nanoindentación ofrecen la posibilidad de medir las propiedades biomecánicas en una región muy pequeña tanto como $1 \mu m$. Las mediciones de dureza reflejan el grado de mineralización del hueso. Utilizando un indentador Knoop, la anisotropía de la dureza del mineral óseo puede ser medida. Los métodos de nanoindentación desarrollados recientemente ofrecen una resolución espacial de 1 a $5 \mu m$.

Consecuentemente, la nanoindentación puede ser utilizada para medir las propiedades mecánicas de las lamelas individuales en el hueso. La nanoindentación permite la estimación del módulo de Young utilizando la ecuación:

$$S = 2\pi^{-1/2} \left[\left(\frac{1 - \nu_b^2}{E_b} \right) + \left(\frac{1 - \nu_i^2}{E_i} \right) \right]^{-1} A^{1/2}$$

Donde E y ν son el módulo de Young y la relación de Poisson respectivamente, para el hueso (b) e indentador (i), A es el área en contacto. Las mediciones en micro y nanoindentación requieren una superficie de la muestra altamente pulida. Las muestras son pulidas típicamente con una serie de papeles abrasivos de tamaño de grano que se reduce gradualmente (600, 800, y grano 1200). Esto seguido de pulir con polvo de diamante de $0.05 \mu m$.

Pruebas acústicas

La velocidad en la cual el sonido viaja a través de materia sólida depende de sus propiedades elásticas y su densidad.

La velocidad del sonido puede ser medida transmitiendo una onda a través de un espécimen y midiendo el tiempo requerido para que la onda atraviese el espécimen; el ancho del espécimen dividido por el tiempo de retraso es la velocidad.

Transductores piezoeléctricos son utilizados para generar y detectar ondas para mediciones de velocidad de sonido o ultrasonido. Con estas pruebas se puede determinar el módulo de Young en huesos trabeculares utilizando ondas ultrasónicas.

1.6 Propiedades sobre el comportamiento elástico trabécular

El módulo elástico del hueso trabécular depende principalmente de la densidad aparente; esta se obtiene el cociente ρ_R / ρ_T , en donde ρ_R es la densidad obtenida al pesar la muestra y ρ_T utiliza los valores reportados para la hidroxiapatita. En la figura 1.18 se muestra que el módulo de Young depende de la densidad aparente en relación a la dirección de la carga.

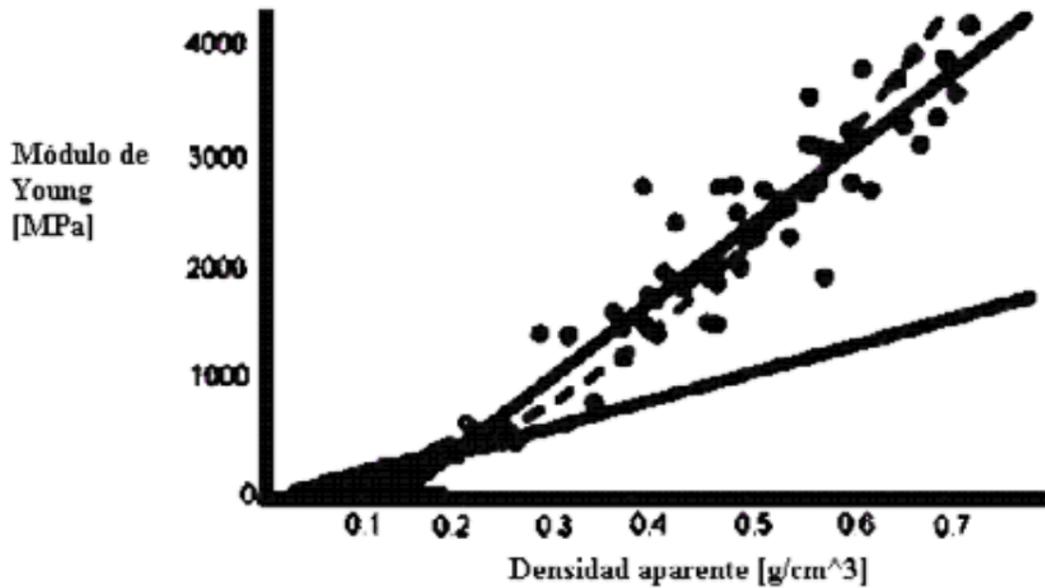


Figura 1.18 Gráfica de módulo elástico como una función de densidad aparente para espacios de hueso trabécular desde el cuerpo vertebral humano (HVB) y tibia proximal bovina. (Keaveny et al., 2001)

Capítulo 2 Caracterización microestructural

2.1 Métodos de adquisición de imágenes

Tomografía computacional (CT)

La micro-CT utiliza un microfoco de tubo de rayos-X como una fuente, un intensificador de imagen con un detector en 2D, y un algoritmo de reconstrucción para crear objetos en 3D con una resolución típica de $50 \mu\text{m}$. Este sistema está basado en un abanico compacto de rayos de tomógrafo. También conocido como micro-CT de escritorio, suministrando una resolución nominal de $14 \mu\text{m}$. Y se pueden observar muestras con diámetros de unos cuantos milímetros a un máximo de 18 mm (figura 2.1).

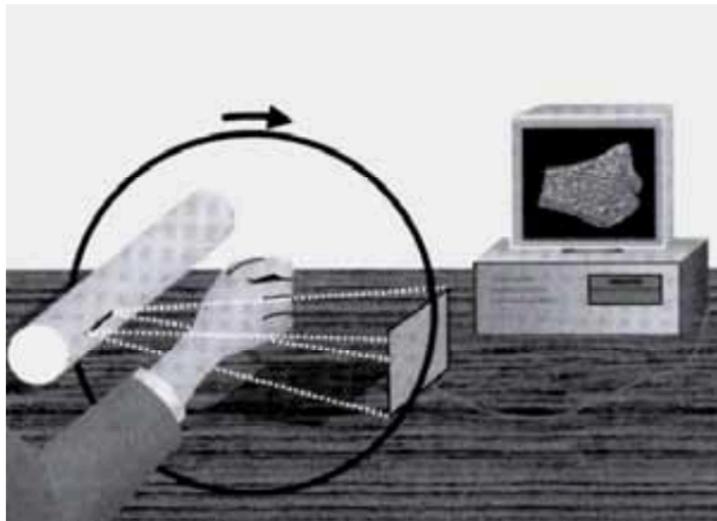


Figura 2.1 Recorrido básico de las geometrías para la obtención de datos en 3D. Flecha superior de izquierda a derecha: geometría del rayo en forma de abanico con el cambio axial del objeto (Covin,2001).

Las imágenes por MRI (Magnetic Resonance Images) son diferentes de las imágenes obtenidas por CT, ya que las imágenes por el primer método muestran componentes del tejido suave tales como médula ósea, grasa, músculo.

Micro-MRI también conocida como microscopía NMR, es utilizada para extraer parámetros morfométricos del hueso trabecular, de la misma manera como se hace con micro-CT. Resoluciones típicas con tiempos de análisis están en el orden de 30 a 60 minutos con 50 a $80 \mu\text{m}$.

Otro caso muy particular que permite adquirir imágenes, es la absorptometría de rayos-X de energía dual (DEXA), se basa en dibujos proyectados donde los cambios estructurales del hueso esponjoso tales como la reducción de elementos óseos transforman de placas a barras, o alteraciones en conectividad y anisotropía, podrían ser observados.

La resolución espacial es un parámetro muy importante que debe ser seleccionado de acuerdo al problema que se tiene como objetivo resolver. Ya que para observar la superficie de un hueso grande, una resolución de 1mm es la mas adecuada, mientras que una resolución de 1 μm es la necesaria para analizar el espacio trabécular. De esta manera se puede establecer que para analizar las características del hueso esponjoso se requieren resoluciones por arriba de las 10 μm . Por lo que, para estudiar los cambios óseos en un nivel celular, la resolución de 1 μm es la adecuada. Aunque se requiere de resoluciones más altas para analizar la ultra estructura del hueso y la estructura cristalina del mineral óseo.

2.2 Características estructurales de las imágenes óseas.

Los sitios de fractura más comunes en la osteoporosis son en la espina, el fémur proximal, y el radio distal (Cowin, 2001). Esta es la razón por la cual estos sitios son los más importantes para analizar la estructura ósea en los pacientes.

Las limitaciones técnicas y las dadas por la física fundamental dan un análisis estructural inadecuado para el esqueleto central. De los tres sitios mencionados, solamente el radio es lo suficientemente pequeño y accesible para imágenes 3D de alta resolución. Examinaciones por CT y MRI del radio distal están disponibles actualmente con una resolución espacial de aproximadamente 150 μm , aunque MRI tiene una resolución menos favorable en la dirección axial. La examinación del paciente tiene que ser realizada con una resolución espacial óptima.

Las biopsias óseas típicamente tomadas de la cresta iliaca de pacientes para análisis histológicos e histomorfométricos son de 4 a 8 mm con aproximadamente 1 cm de longitud. Tales objetos pueden ser examinados con procedimientos de micro-CT, con una resolución espacial de aproximadamente 10 veces mejor que las imágenes obtenidas. El volumen total de la biopsia no es utilizada para analizar la estructura del hueso esponjoso, solamente la biopsia central de la cresta iliaca de 4 mm (figura 2.2).

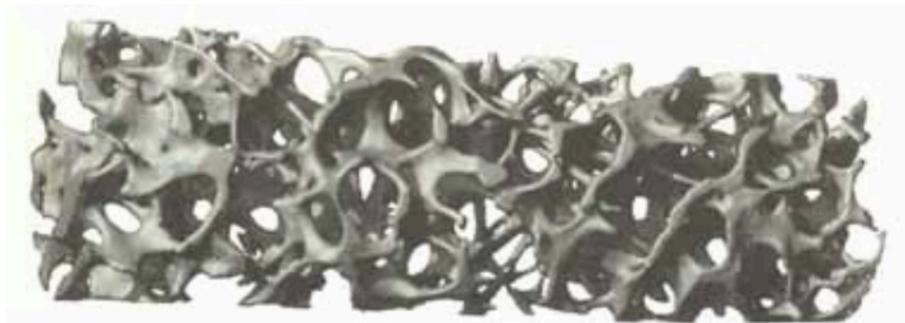


Figura. 2.2 Imagen en 3D obtenida con micro-CT de una biopsia de hueso humano de la cresta Iliaca. (Cowin,2001)

Para huesos de animales tales como ratones y ratas, se pueden utilizar los mismos procedimientos para el análisis estructural así como para biopsias óseas donde el tamaño de los objetos y la resolución son comparables. Utilizando técnicas de micro-CT para evaluar cuantitativamente la arquitectura del hueso esponjoso de la tibia proximal de una rata mostrando una pérdida pronunciada de hueso trabécular en la figura 2.3 a), seguida de una ovariectomía (figura 2.3 b) y una inhibición marcada de esta pérdida para la rata tratada con estrógenos (figura 2.3 c). Un cambio similar en la microestructura ósea puede ser visualizada con micro-MRI. La disponibilidad de modelos modificados genéticamente de enfermedades del esqueleto en ratones ha llevado a un interés significativo en desarrollar técnicas de imágenes para evaluar diferencias morfológicas en estos modelos.



Figura. 2.3 Imágenes por Micro-MR (voxels de $39 \mu m$) de la tibia de una rata seguida de una ovariectomía y tratada con estradiol. (Cowin, 2001)

Para estudiar la viabilidad del uso de alta resolución MRI para documentar los cambios por osteoporosis en la microarquitectura del hueso calcáneo, un grupo de 50 mujeres fue examinado. La mitad del grupo sufrió fractura de cadera antes de las mediciones; la otra mitad fue considerada como sana. En este estudio las diez divisiones centrales del calcaneus fueron evaluadas y adentro regiones circulares de interés. El hueso esponjoso es dramáticamente inhomogéneo y se debe tener un gran cuidado para obtener resultados representativos y reproducibles.

2.3 Métodos de medición de la calidad de hueso

Densidad Mineral Ósea

La DMO viene definida por la concentración media de mineral por unidad de área. Existen diferentes métodos para llevar a cabo la medición. Los diferentes métodos densitométricos se basan en el principio de la atenuación que sufren los rayos X o los fotones de rayos gamma al atravesar los tejidos. Los valores de atenuación se suelen expresar en equivalentes a grosor mineral. El resultado se expresa en desviaciones estándar respecto a estas curvas de normalidad. De todas maneras, el valor obtenido es una medida combinada de tejido óseo, medula ósea y tejido circundante. La medida adecuada de la masa ósea requeriría una densitometría tridimensional que excluyera la medula ósea y los tejidos blandos que rodean al hueso. La mayoría de decisiones clínicas se basan en el T-score.

Dentro de la terminología relacionada con la densitometría ósea, se hallan dos conceptos a definir:

- T-score: es el número de desviaciones estándar (SD) por debajo de la DMO media en adultos jóvenes (entre 25 y 45 años).
- Z-score: es el número de SD por encima o por debajo de la media de la DMO en la población de la misma edad que el paciente.

Dado que la DMO disminuye con la edad, los T-score suelen ser inferiores que los Z-score a partir de los 40 años, y esta diferencia aumenta de acuerdo con la edad.

La medida de la DMO puede ser de utilidad por dos motivos: diagnosticar aquellos enfermos con un contenido bajo de tejido mineral óseo, y para monitorear el curso de una osteoporosis sospechada o confirmada con varias medidas repetidas (por ejemplo cómo seguimiento de los efectos del tratamiento).

Características óseas de las localizaciones de DMO.

Se debe tener en cuenta que aproximadamente el 80% del peso esquelético es aportado por hueso cortical o compacto, mientras que el 20% restante es aportado por el hueso trabécular o poroso. La actividad metabólica del hueso trabécular es de 3 a 10 veces mayor que la del hueso cortical. Por este motivo la medida del hueso trabécular reportará una mayor utilidad cuando se quieran determinar los cambios del contenido mineral óseo.

El hueso trabécular representa el 40% del contenido mineral óseo de los cuerpos vertebrales, mientras que el cuello femoral contiene también aproximadamente un 40% de hueso trabécular. La parte más distal del radio (radio ultradistal) contiene un 80% de hueso trabécular. Sin embargo la forma irregular de esta parte del radio comporta dificultades a la hora de calibrar y obtener medidas en esta localización, disminuyendo de forma importante la precisión de la técnica en esta zona. Por este motivo, la medida más utilizada a nivel del radio se lleva a cabo en el tercio distal (también llamado radio 33%), que contiene aproximadamente un 25% de hueso trabécular.

Tipos de técnicas densitométricas

En la actualidad hay múltiples métodos tecnológicos para determinar la medida de la DMO, en la siguiente tabla 2.1 se mencionan.

Tabla 2.1 Técnicas densitométricas y lugares de exploración

Técnicas densitométricas	Localización
Absorciometría fotónica simple (SPA)	Calcáneo, radio
Absorciometría fotónica dual (DPA)	Columna, cadera, antebrazo
Absorciometría radiológica simple (SXA)	Antebrazo, mano
Absorciometría de doble energía de rayos X (DXA)	Columna, cadera, antebrazo, mano
Tomografía cuantitativa computarizada (QCT)	Columna, cadera, antebrazo
Densitometría por ultrasonidos(BUA)	Calcáneo, rótula

Absorciometría Fotónica Simple (SPA)

Fue la primera técnica densitométrica que se desarrolló a principios de los años 60. Un fotón proveniente de una fuente radioactiva atraviesa el hueso periférico. Dado que únicamente se utiliza un fotón, no se puede separar la atenuación producida por el tejido óseo de la producida por los tejidos blandos. Por este motivo esta técnica sólo se puede utilizar en zonas como el calcáneo o el radio donde prácticamente todo el tejido atravesado es óseo. Actualmente es una técnica en desuso.

Absorciometría Fotónica Dual (DPA)

Técnica muy parecida a la anterior con la diferencia que se basa en la utilización de dos fotones diferentes que provienen de un radioisótopo. Es capaz de diferenciar la atenuación del hueso de la de los tejidos blandos. Se puede utilizar tanto en localización axial como en localización periférica. Con el desarrollo de la DXA (la cual no precisa de fuentes isotópicas), esta técnica entró también en desuso.

Absorciometría Dual de Rayos X (DXA)

Se basa en la emisión de dos haces de energía diferentes originados de una fuente de rayos X en vez de una fuente radioactiva. La utilización de dos haces de energía permite corregir la atenuación producida por los tejidos blandos. Es la técnica más ampliamente utilizada en la actualidad por su baja radiación, por su precisión y por su capacidad de obtener medidas tanto del esqueleto axial como del esqueleto periférico.

Con esta técnica se puede explorar la cadera, la columna, el antebrazo y la totalidad del esqueleto. Los cuerpos vertebrales contienen principalmente hueso trabécular, que debido a su participación en la fase de remodelación ósea, es más sensible a los efectos de las hormonas y de determinados fármacos que el hueso cortical. Por lo tanto, la medida de la DMO a nivel de la columna suele objetivar mejor los cambios en respuesta a determinados tratamientos a diferencia de la medida de la DMO en otras localizaciones.

Los aparatos de absorciometría dual de rayos X presentan una alta precisión (0.5-2%), repetibilidad y han demostrado tener un valor predictivo de fractura. Sus inconvenientes son el alto costo y el gran tamaño del equipo, así como la necesidad de personal especializado para su manejo.

Densitometría periférica

En los últimos años se han desarrollado densitómetros periféricos por absorciometría de doble energía de rayos X (pDXA) y otros por energía de rayos X simple (pRA). Sus ventajas radican en su menor tamaño, la escasa radiación que emiten y el hecho de que no requieren personal especializado para su manejo.

Con esta técnica se puede medir la DMO a nivel del antebrazo y del calcáneo. Una localización utilizada con frecuencia es la parte distal del radio, ya que contiene hueso trabécular y cortical. Otras localizaciones menos utilizadas son los metacarpianos y las falanges.

Aunque estas técnicas pueden predecir fracturas, su capacidad de predicción de fractura de cadera es inferior a la DMO medida con DXA a nivel de la cadera. Igualmente, su capacidad predictiva de fracturas vertebrales también es menor que la DXA de cadera y columna.

Uno de los problemas que presentan los densitómetros periféricos es su escasa concordancia con el T-score. La proporción de pacientes con T-scores inferiores a -2.5 varía de forma considerable entre unos tipos de densitómetros y otros. De hecho en la actualidad no existe consenso sobre la interpretación de los resultados de las medidas periféricas, y se continúa debatiendo acerca de la capacidad de los aparatos periféricos para identificar a pacientes con una DMO central baja. La ISCD aconseja identificar puntos de corte para cada tipo de densitómetro periférico que tengan una sensibilidad del 90% a la hora de identificar pacientes con osteoporosis.

Tomografía cuantitativa computerizada (QCT)

Esta técnica permite realizar la medida de la DMO tanto a nivel axial como a nivel periférico (antebrazo).

Es la única técnica que ofrece una medida tridimensional volumétrica, y por tanto la única que es capaz de diferenciar el hueso cortical del trabécular. La QCT tiene un valor predictivo de fractura vertebral igual de bueno que la DXA de columna.

La QCT presenta una precisión del 1% a nivel de la columna y del 1.2-3% a nivel de la cadera. Sus inconvenientes son su alto costo económico y a diferencia del resto de técnicas la alta radiación a la que es sometido el enfermo (www.radiologyinfo.org/sp/).

Ultrasonografía

La densitometría por ultrasonidos se podría clasificar en el grupo de densitometría periférica, pero tiene cualidades que la diferencian del resto de técnicas expuestas anteriormente. Como su nombre indica, la fuente de energía utilizada no es radiológica. La localización más habitualmente utilizada es a nivel del calcáneo, aunque algunos aparatos también miden la DMO a nivel de la rótula, tibia y falanges. Miden fundamentalmente el hueso trabécular.

La atenuación de los ultrasonidos de banda ancha (BUA) a través del hueso, se usa para determinar la densidad y la estructura ósea. Algunos aparatos pueden medir la velocidad del sonido (VS) y ofrecen un índice que es la combinación de BUA y de VS, índice ecográfico cuantitativo (QUI) que aporta datos cuantitativos y evalúa aspectos cualitativos como la elasticidad, la estructura y la geometría del hueso. De hecho la ultrasonografía es la única técnica que analiza estos aspectos de la microarquitectura ósea, cada vez más relevantes como factores de riesgo de fractura.

Algunos estudios han demostrado que la ultrasonografía tiene el mismo valor predictivo de fracturas vertebrales que la DXA de columna y cadera. Por otro lado la combinación de BUA a nivel del calcáneo con la DXA a nivel del cuello femoral predice mejor el riesgo de fractura de cadera que cada una de las medidas por separado.

2.4 Métodos estereológicos

Son métodos y procedimientos de estimación probados en poblaciones geométricas. Dentro de las cuales se encuentran:

- Fracción volumétrica
- Densidad superficial
- Volumen estrella

Fracción volumétrica

La fracción volumétrica de hueso trabecular, $V_v(\text{hueso})$, es una de las propiedades fundamentales arquitectónicas del hueso esponjoso, y está definido como el volumen trabecular por un volumen de referencia. Para una muestra,

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

la fracción volumétrica espacial medular $V_v(\text{médula})$, esta definida equivalentemente, y $V_v(\text{hueso}) + V_v(\text{médula}) = 1$. Para cualquier fase, la fracción volumétrica puede ser estimada imparcialmente por la fracción de área A_A , la fracción lineal L_L y la fracción puntual P_p para una superficie, línea, y puntos prueba, respectivamente.

$$V_v = A_A = L_L = P_p$$

esto significa que la fracción volumétrica del hueso esponjoso puede ser estimado imparcialmente colocando una malla puntual en una sección aleatoria y determinando la fracción de puntos tomados en el hueso. No hay requerimientos para la orientación de las pruebas, y no hay requisitos para la isotropía de la estructura .

Densidad superficial

La superficie trabecular, o la interfase médula-hueso, es altamente irregular y su cuantificación puede parecer difícil. La densidad superficial, o el área superficial trabecular por volumen óseo esponjoso S_v , esta relacionada con la longitud lineal de la frontera entre la trabecula y la médula por área examinada B_A , en una sección plana del hueso. La densidad superficial S_v , esta relacionada también con el número de intersecciones superficiales por longitud lineal I_L , para una prueba lineal colocada en la estructura.

$$S_v = \frac{4}{\pi} B_A = 2I_L$$

La I_L se define como el número de intersecciones entre la longitud total, mientras que B_A se define como el área de medula ósea.

Si la superficie trabecular es isotrópica, la ecuación es válida independientemente de la orientación del plano y de las líneas examinadas, y $2I_L$ y $(\frac{4}{\pi})B_A$ deberían ser estimadores imparciales de S_v . Como las superficies trabeculares como una regla general son anisotrópicas, los requerimientos de isotropía para las pruebas deben ser obedecidas en orden para obtener resultados en elementos parciales. Para determinar I_L se usan líneas aleatorias en las secciones 2D con una orientación fijada que resultarán en valores imparciales de B_A en estas secciones, pero S_v será parcial hasta un grado desconocido.

La dirección arbitraria es elegida, y es llamada el eje vertical, y secciones 2D son hechas rotando la muestra alrededor de este eje y las secciones 2D obtenidas por este método. Intersecciones entre las superficies trabecular y líneas de prueba cicloidales son determinadas mediante la combinación de secciones verticales y líneas de prueba cicloidales que aseguran la isotropía de las líneas en el espacio de 3D.

Conociendo la longitud de las líneas de prueba permiten el cálculo directo de I_L , y una estimación imparcial de S_v . (Cowin, 2001)

Método de intercepción lineal

La medida de intercepción lineal (MIL, por sus siglas en Inglés) fue introducida primeramente en la morfometría del hueso esponjoso por Whitehouse. El principio básico del método MIL consiste en colocar una malla lineal con una orientación w sobre una estructura, y contando el número de intersecciones I entre la malla y las intercaras de la médula ósea, la longitud principal entre dos intersecciones cualquiera es entonces

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

donde L es la longitud lineal de la línea de la malla.

Debe ser notado que el método MIL cuantifica la anisotropía de la interfase de una estructura, se puede fácilmente pensar en estructuras que despliegan la isotropía de la interfase pero son todavía estructuralmente anisotrópicas.

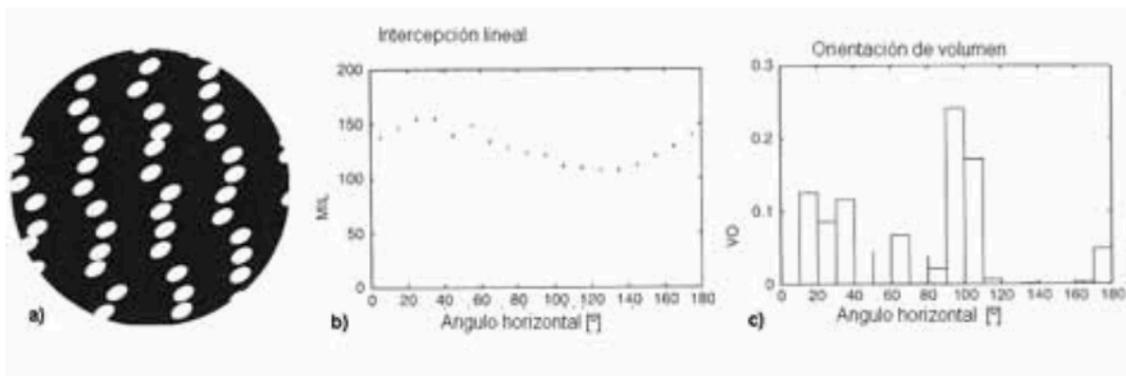


Figura 2.4. Ejemplo de una estructura que muestra diferentes direcciones de anisotropía del método de análisis utilizado. El resultado del análisis de la intercepción lineal muestra una dirección principal a 30° correspondiendo a la orientación de las elipses. La anisotropía captada parece ser que se expresa mejor por VO (Orientación volumétrica) que por MIL. (Cowin, 2001)

Este método se usa para medir la orientación trabécular y observar como se distribuyen de acuerdo al ángulo preferencial, a continuación se explica la manera de cuantificar este método.

Para calcular el MIL, se utiliza una rejilla circular de líneas de prueba paralelas, que es superpuesta sobre imágenes de hueso trabécular en cada uno de los ejes x, y. La distancia media entre la intercara de la cavidad de hueso medular se calcula contando el número de interfaces a lo largo de las líneas de prueba y dividir esa suma por la longitud de todas las líneas en la cuadrícula de prueba. Esto produce la longitud de intercepción media. Posteriormente, la cuadrícula es girada 5° con respecto a un eje arbitrario sobre la imagen, y los recuentos son repetidos en incrementos de 5° a 180° para todos los ejes barridos.

Los datos de MIL son elegidos arbitrariamente en función de un círculo. El grado de anisotropía de la arquitectura trabécular es definido como la proporción del eje principal. En las proporciones cercanas a 1, los ejes son de valor similar y la estructura de hueso es isotrópica.

El método usado para medir la orientación y la anisotropía del hueso trabécular en gran parte consiste en la descomposición en eigen vectores y eigen valores lo que produce el significado de la orientación y la región anisotrópica. (figura 2.5)

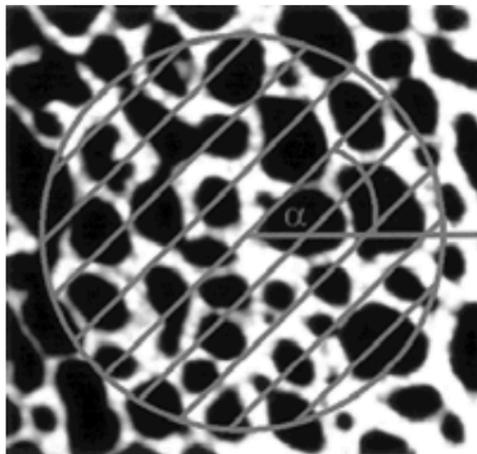


Figura 2.5. Se muestra la orientación de la trabécula al girarlo con respecto a un Angulo α (Fajardo, et.al, 2001).

Dimensiones de la trabécula

Las dimensiones de la trabécula han sido aproximados por un número de métodos cualitativos o influenciados por otros. El parámetro derivado del modelo de placa MTPT (espesor de placa trabécular principal) es un ejemplo del parámetro de espesor. El problema principal de medir las dimensiones de la trabécula esta en definir que debe ser medido.

Conociendo el número de uniones redundantes por medio de la conectividad, el volumen trabecular principal (MTV) es

$$MTV = \frac{V_v(\text{hueso})}{\beta_{1v}}$$

donde $V_v(\text{hueso})$ es la fracción volumétrica en el volumen examinado y β_{1v} es un parámetro de espesor. El espesor de una estructura esta definido localmente para cada punto dentro de la estructura como el diámetro del círculo máximo contenida completamente dentro de la estructura y que encierra al punto.

La histomorfometría presenta parámetros de arquitectura y métodos para determinarlos. Generalmente hablando la histomorfometría se puede dividir en mediciones estáticas y dinámicas. Los métodos estáticos pueden ser divididos en medidas fundadas estereologicamente y medidas basadas en modelos. El método basado en modelos son encaminados a determinar las propiedades de la arquitectura trabecular que son supuestos para ser relacionados a las propiedades mecánicas.

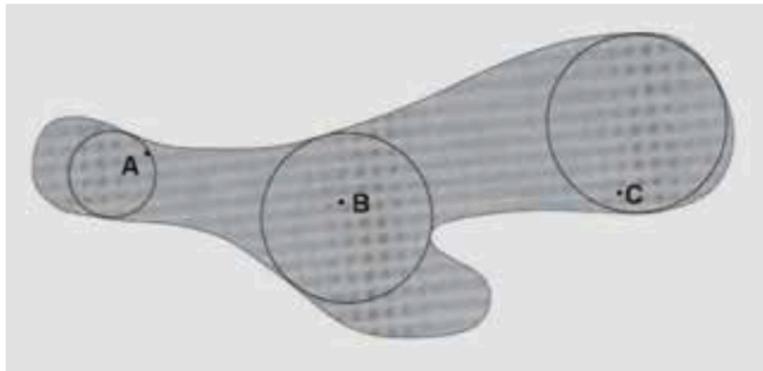


Figura 2.6 El espesor en un punto esta definido como el diámetro del círculo más grande circunscrito dentro de la estructura. El espesor en los puntos A, B, y C esta definido por el diámetro de los círculos mostrados. (Cowin, 2001)

Modelo de placas

Suponiendo que todos los huesos trabeculares están organizados en placas paralelas infinitas con un espesor $MTPT$ y separadas por un $MTPS$ (separación de placa trabécular principal), y suponiendo que la fracción volumétrica V_v y que la densidad superficial ha sido determinada; entonces las siguientes relaciones se cumplen:

$$V_v = \frac{MTPT}{MTPS + MTPT} \quad (2.1)$$

$$S_v = \frac{2}{MTPS + MTPT} \quad (2.2)$$

$$MTPD = \frac{1}{MTPS + MTPT} \quad (2.3)$$

en donde $MTPD$ (densidad de placa trabécular principal) es el número de placas atravesadas por una línea de longitud unitaria perpendicular a las placas.

$$MTPT = \frac{2 - 2V_v}{S_v} \quad (2.4)$$

$$MTPS = \frac{2V_v}{S_v} \quad (2.5)$$

$$MTPD = \frac{S_v}{2} \quad (2.6)$$

Estas expresiones del espesor principal de la placa trabécular, la separación y la densidad han sido utilizadas en el espaciamento y conectividad, respectivamente. Se debe hacer énfasis que las ecuaciones anteriores son válidas solamente bajo suposiciones de un modelo de placa y que S_v se determina correctamente.

Capítulo 3 Caracterización microestructural del hueso esponjoso

Introducción

Dentro de la Unidad de Investigación y Asistencia Técnica en Materiales, se ha venido trabajando en la caracterización del hueso en distintas especies y mediante diversas pruebas. Aun cuando en la literatura existen una gran cantidad de datos reportados, la dispersión entre ellos es importante.

3.1 Preparación de muestras

Se eligió trabajar con muestras de cerdo debido a su accesibilidad en comparación con los huesos de humano y que su alimentación es mas parecida en comparación con otras especies. Las muestras se obtienen con la ayuda de un sacabocados. Se corta en la dirección que se muestra en la figura 3.1 con la finalidad de sacar la mayor cantidad de hueso trabécular. Durante la extracción del material se observó que el hueso poroso es muy delicado debido a que no se puede conservar mucho tiempo ya que su estructura se va perdiendo con el paso del tiempo.



Figura 3.1 Se muestra el fémur al momento de extraer la probeta.

Capítulo 3 Caracterización microestructural del hueso esponjoso

Se obtuvo una muestra cilíndrica con un diámetro de 1cm y una longitud de 2.5 cm. Después de la extracción y lavado de la muestra se realiza el corte a las dimensiones antes mencionadas mediante una máquina cortadora con disco de diamante (que se muestra en la figura 3.2 y en la figura 3.3), debido a que proporciona superficies planas y paralelas para realizar una adecuada observación microestructural.

Tabla 3.1 Medidas de la probeta

	Longitud [cm]	Diámetro [cm]
Antes	4	1
Después	2.5	1



Fig 3.2 Disco de diamante

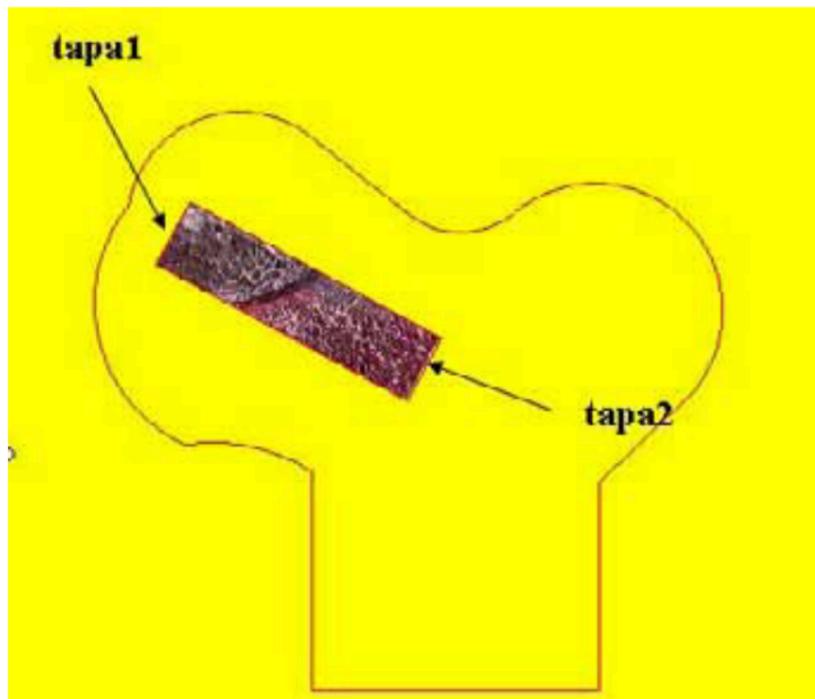


Figura 3.3 Dirección de extracción de la muestra

Capítulo 3 Caracterización microestructural del hueso esponjoso

Posteriormente se lava bien la muestra, para almacenarla en solución de cloruro de sodio Abbott (Cloruro de sodio al 0.9%) y se refrigera con el fin de que se conserve y no se eche a perder. Se obtuvo 1 probeta cilíndrica con la cual se realizó la caracterización microestructural.

En el capítulo anterior se vieron los métodos que se van a aplicar con el objetivo de caracterizar microestructuralmente las muestras de hueso trabécular mediante los distintos parámetros (espacio trabécular, espacio de hueco, tamaño promedio de trabéculas, tamaño promedio de huecos, intersección lineal). Estos parámetros son importantes ya que van a aportar información sobre la arquitectura trabécular que para trabajos futuros ayudará a un modelado del hueso esponjoso que se aproxime más a su geometría.

Como ya se mencionó se partió de una muestra cilíndrica de hueso esponjoso de fémur de puerco, la cual se consiguió fresco para asegurar el menor deterioro posible.

La muestra fue observada en el microscopio óptico y se adquirieron imágenes a 50x, posteriormente se armó la imagen completa como un rompecabezas, reproduciendo 3 diferentes zonas empezando con la tapa superior (1), luego con la tapa inferior (2), posteriormente se obtuvo una de su sección transversal (3). (figura 3.4)

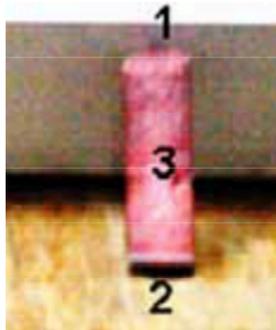


Figura 3.4 Probeta de análisis

3.2. Metodología de medición

Se armó la estructura trabecular por medio de mosaicos en CorelDraw® para facilitar el ensamble de las imágenes y mejorar la calidad. Posteriormente la imagen se introdujo en autocad® 2005 para hacer las mediciones precisas. Se trazan líneas horizontales para sacar el promedio total de trabéculas y espacio de hueso, después se varió el ángulo desde 0°,30°,60°,90°, 120°, 150° de inclinación. Como se muestra en la figura 3.5

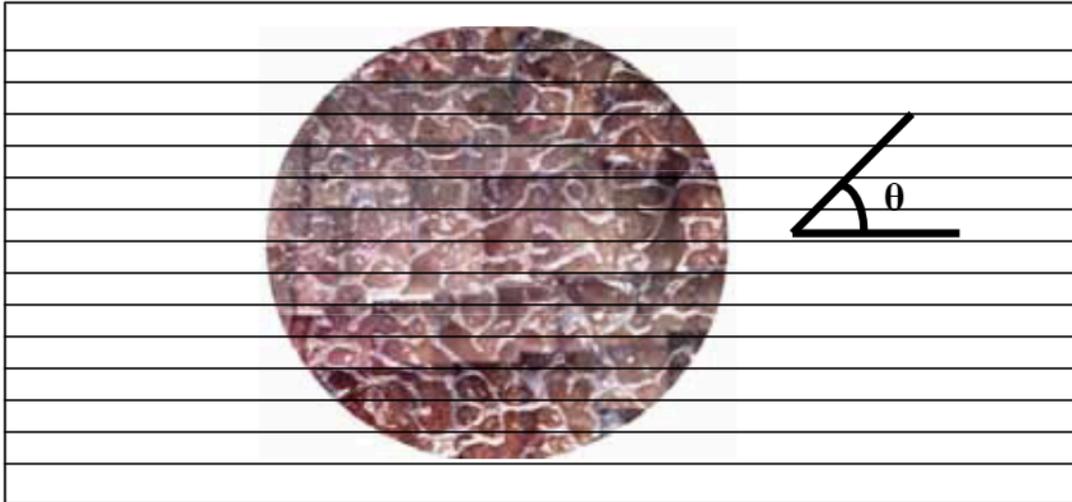


Figura 3.5 En el esquema se muestra claramente el mallado de autocad® con el cual se realizan las respectivas mediciones

Para llevar a cabo análisis primero se trazan líneas horizontales que van de lado a lado de la estructura trabecular. Sobre las líneas se empieza a medir el espesor trabecular y el tamaño de los huecos (Figura 3.6) y posteriormente se obtiene el espesor trabecular promedio y el tamaño de los huecos promedio, para finalmente se determina el porcentaje de hueso y hueco, en cada dirección.

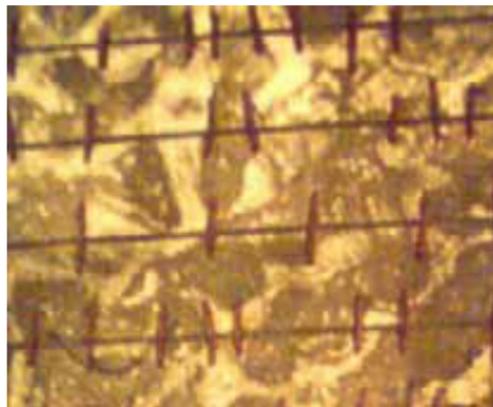


Figura 3.6 Mediciones marcadas sobre la imagen.

Capítulo 3 Caracterización microestructural del hueso esponjoso

Para el escalamiento de dimensiones se establece una relación entre la dimensión del tamaño de la muestra real y la dimensión de la imagen.

Posteriormente se gira la malla de líneas horizontales 0° , 30° , 60° , 90° , 120° , 150° y se llevan acabo las mediciones para cada ángulo. Lo que permitirá obtener las direcciones preferenciales de la estructura y establecer una correlación con las cargas a las que esta sometido el fémur de cerdo.

La longitud lineal (L) se define como la suma de espacio hueco y espacio trabécular cuando se pone de esta forma $L(w)$ quiere decir que esta orientada en cierto ángulo ya que w es la orientación.

Otro de los objetivos es determinar como varía la estructura trabécular tanto en orientación como en espesor conforme se aproxima al hueso cortical.

Al tener los parámetros anteriores se puede graficar el porcentaje de hueso contra el ángulo de inclinación con el objetivo de ver su comportamiento con los distintos ángulos de inclinación.

Después se comparan los valores obtenidos para la tapa 1 con la tapa inferior (tapa 2) y se ven también con los resultados de la sección transversal, lo que permitirá observar claramente la orientación de la estructura trabécular para cada zona analizada.

Adicionalmente es importante conocer la fracción volumétrica, pero debido a que lo que se analiza es una imagen en el plano se hizo uso de paquetería para la determinación de la fracción de área. Axio Vision [®] fue la herramienta utilizada y se analizó tanto la tapa superior, tapa inferior y zona transversal. A continuación se explica en términos generales su uso.

Una vez dentro del programa Axion Vision [®] se busca la imagen a cuantificar a través de open Image. Se ajusta la imagen por medio del comando brightness/contrast/gamma hasta que sea adecuada ademas para auxiliarse en este proceso se puede realizar un acercamiento dentro de la porción Automatic Preview.

El comando para iniciar la medición es Multiphase, herramienta que permite determinar el % de hueso y el % de hueco.

A continuación se muestran las imágenes obtenidas en el programa Axion Vision [®] y sus resultados.

Capítulo 3 Caracterización microestructural del hueso esponjoso

En la figura 3.7 se ve que es menos poroso y por eso tiene un valor de espacio de hueso mayor al de la tapa 2. También sus trabéculas son más delgadas.

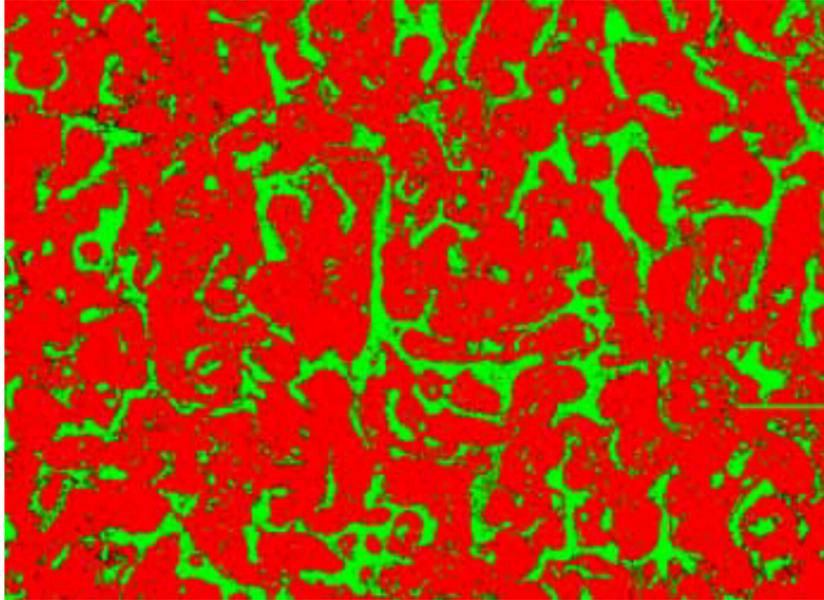


Figura 3.7 Análisis de porcentaje de área sobre la tapa 1

espacio de hueso	21.16%
espacio hueco	74,56%

En la tapa 2 se observa que los poros son más grandes y el espesor de sus trabéculas es mas ancho pero hay un número menor de estas. Los resultados muestran que el espacio hueco es mayor a la tapa 1.

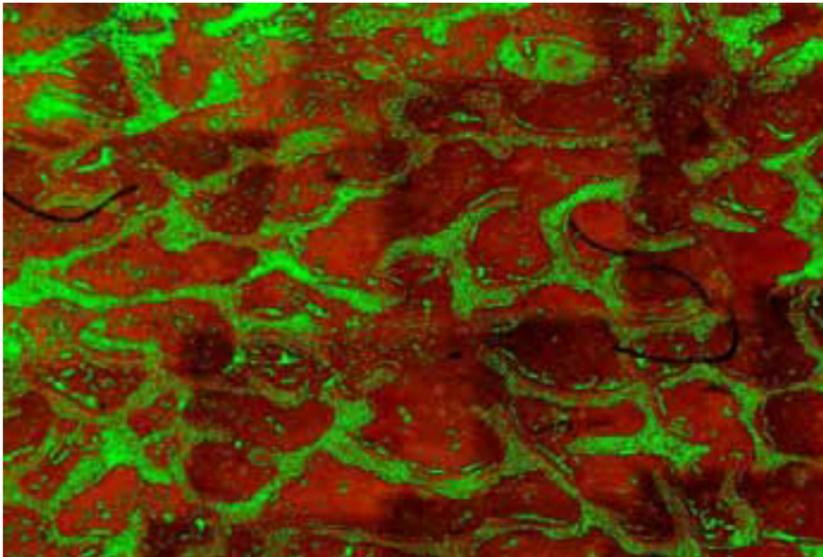


Figura 3.8 Análisis de porcentaje de área sobre la tapa 2

Espacio de hueso	18.79%
Espacio hueco	80.63%

Para la sección transversal se puede ver que es menos poroso, tiene un espacio de hueso mayor que en los casos anteriores. Se observa una menor cantidad de trabéculas pero con espesores menores.

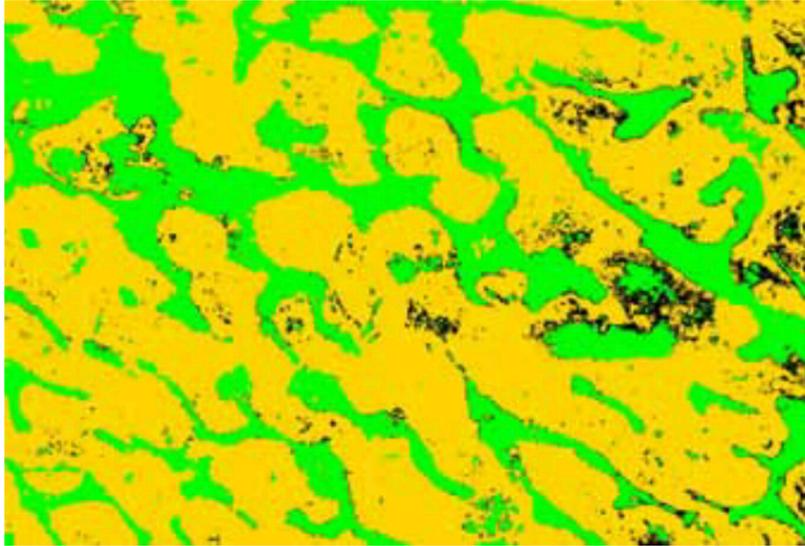


Figura 3.9 Análisis de porcentaje de área sobre la sección transversal

Espacio de hueso	28.44%
Espacio hueco	67,41%

3.3. Resultados

En la siguiente tabla se muestran los cálculos realizados en la tapa superior, se puede observar que tiene una orientación preferencial a 90° , 120° de espacio de hueso y a 0° tiene una dirección preferencial de espacio hueco .

Los resultados de la tapa 1 muestran trabéculas que están mas juntas y se ve un menor espacio trabecular en comparación con la tapa 2. El tamaño promedio de huecos y porcentaje de hueco es mayor en la tapa 1 debido a que está más cerca del hueso cortical.

Tabla 3.2 Resultados de la tapa 1

Angulo [°]	L (w) [mm]	Espacio Trabecular [mm]	Espacio de hueco [mm]	% Hueso	% Hueco	No. Trabéculas	No. Huecos	Tamaño prom. De Trabéculas [mm]	Tamaño prom. De Huecos [mm]	Intersección lineal [No. Trabéculas/mm]
0	132,68	30,47	102,21	22,97	77,03	156	184	0,19	0.41	1,18
30	129,00	32,36	96,64	25,09	74,91	141	165	0,22	0.49	1,09
60	138,24	34,63	103,61	25,05	74,95	139	177	0,24	0.40	1,01
90	158,50	44,89	113,61	28.32	71,68	164	179	0,27	0.48	1,03
120	141,00	39,88	101,12	28,28	71,72	158	175	0,25	0.55	1,12
150	137,51	34,38	103,13	25,00	75,00	163	186	0,21	0.53	1,19

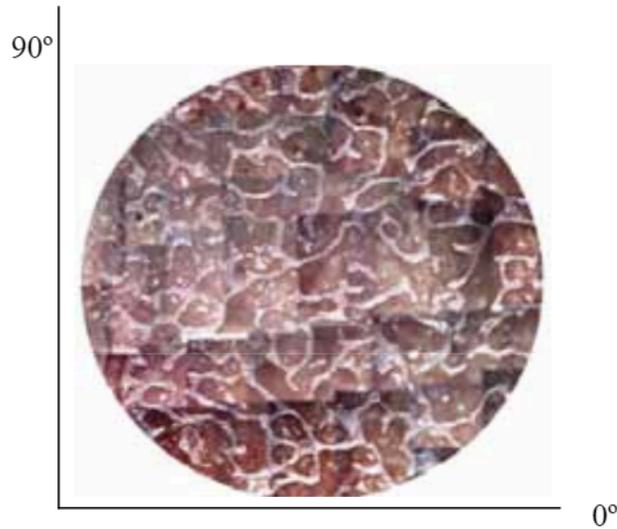


Figura 3.10 Tapa 1

En la tabla 3.3 se muestran las mediciones hechas sobre la tapa 2 que corresponde a la que se encuentra más lejos del hueso cortical. Los porcentajes más altos de hueso están a 30° y 90°. La orientación preferencial de hueco es a 60° debido a que hay mayor porcentaje de hueco.

Capítulo 3 Caracterización microestructural del hueso esponjoso

También se nota en la tabla 3.3 que en el número de trabéculas es más alto a 90° ya que hay una mayor cantidad de intersecciones con las líneas trazadas horizontalmente.

Tabla 3.3 Resultados de la tapa2

Angulo [°]	L (w) [mm]	Espacio Trabecular [mm]	Espacio de hueco [mm]	% Hueso	% Hueco	No. Trabéculas	No. Huecos	Tamaño prom. De Trabéculas [mm]	Tamaño prom. De Huecos [mm]	Intersección lineal [No. Trabéculas/mm]
0	141,49	50,47	91,02	35,67	64,32	174	190	0,29	0,34	1,22
30	138,20	54,81	83,39	39,65	60,34	178	184	0,30	0,34	1,28
60	125,56	40,68	84,88	32,40	67,59	174	182	0,23	0,44	1,38
90	147,62	60,09	87,53	40,71	59,28	213	210	0,28	0,38	1,44
120	146,07	56,71	89,36	38,82	61,17	192	175	0,29	0,38	1,31
150	142,23	50,95	91,28	35,82	64,17	182	189	0,27	0,34	1,27

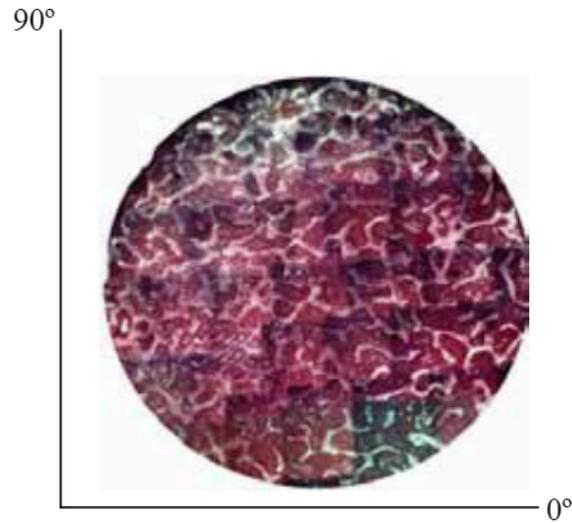


Figura 3.11 Tapa 2

Capítulo 3 Caracterización microestructural del hueso esponjoso

La tabla 3.4 correspondiente a la sección transversal 3 tiene una orientación preferencial a 150° ya que tiene un porcentaje de hueso de 43.1%. A 60° y 120° tiene una orientación preferencial de espacio hueco.

Tabla 3.4 Resultados transversal 3

Angulo [°]	L (w) [mm]	Espacio Trabecular [mm]	Espacio de hueco [mm]	% Hueso	% Hueco	No. Trabéculas	No. Huecos	Tamaño prom. De Trabéculas [mm]	Tamaño prom. De Huecos [mm]	Intersección lineal [No. Trabéculas/mm]
0	117,75	25,04	92,71	21,26	78,73	128	129	0,20	0,71	1,08
30	106,40	28,42	77,98	26,71	73,28	109	117	0,26	0,66	1,02
60	112,35	25,38	86,97	22,59	77,40	118	132	0,21	0,65	1,05
90	123,51	31,35	92,16	25,38	74,61	104	107	0,30	0,86	0,84
120	97,04	23,76	73,28	24,48	75,51	79	87	0,30	0,84	0,81
150	105,26	25,82	79,44	24,52	75,47	95	98	0,27	0,81	0,90

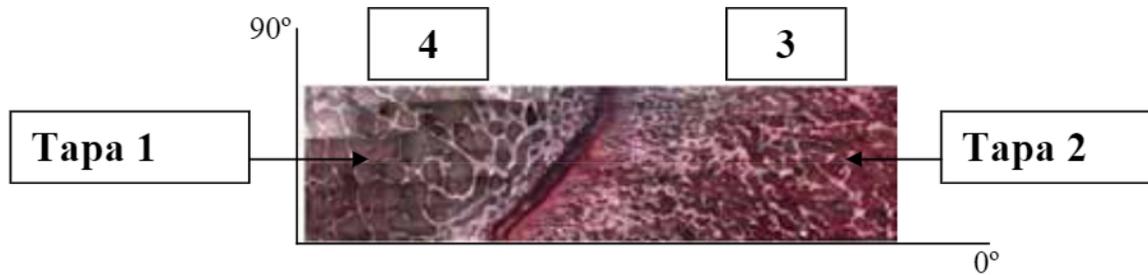


Figura 3.12 Parte transversal del hueso poroso

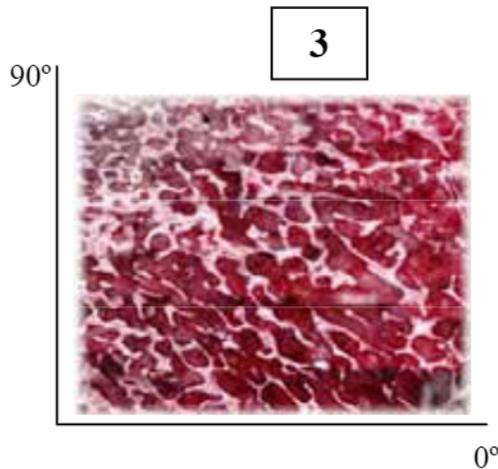


Figura 3.13 Parte transversal 3

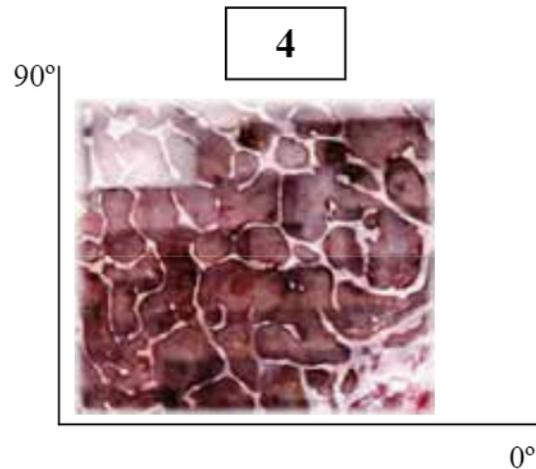


Figura 3.14 Parte transversal 4

Capítulo 3 Caracterización microestructural del hueso esponjoso

Se observa en la región transversal 4 una clara orientación preferencial a 30° y 90° ya que tiene el valor más alto de porcentaje de hueso. Se ve en la imagen que cada vez que se aproxima al cartílago se vuelve menos porosa. Además el tamaño promedio de huecos es mayor que en la transversal 3 por lo tanto las trabéculas están más separadas, entre sí.

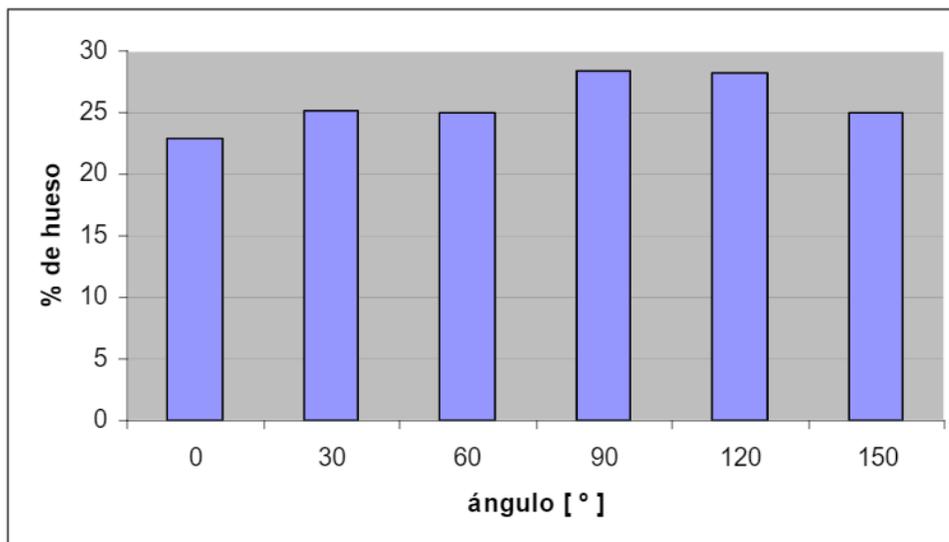
Se observa que tiene una orientación preferencial de hueco a 0° y 60° debido a que son los ángulos que tienen el porcentaje de hueco más alto.

Tabla 3.5 Resultados transversal 4

Angulo [°]	L (w) [mm]	Espacio Trabecular [mm]	Espacio de hueco [mm]	% Hueso	% Hueco	No. Trabéculas	No. Huecos	Tamaño prom. De Trabéculas [mm]	Tamaño prom. De Huecos [mm]	Intersección lineal [No. Trabéculas/mm]
0	117,75	25,04	92,71	21,26	78,73	128	129	0,20	0,71	1,08
30	106,40	28,42	77,98	26,71	73,28	109	117	0,26	0,66	1,02
60	112,35	25,38	86,97	22,59	77,40	118	132	0,21	0,65	1,05
90	123,51	31,35	92,16	25,38	74,61	104	107	0,30	0,86	0,84
120	97,04	23,76	73,28	24,48	75,51	79	87	0,30	0,84	0,81
150	105,26	25,82	79,44	24,52	75,47	95	98	0,27	0,81	0,90

En la Gráfica 3.1 se ve que tiene una orientación preferencial a 90° y 120°. Para estos ángulos hay un porcentaje de hueso mayor.

Graficas de orientación



Gráfica 3.1 Tapa1

Capítulo 3 Caracterización microestructural del hueso esponjoso

Se puede visualizar en la figura 3.15 y 3.16 la orientación preferencial de la tapa1.

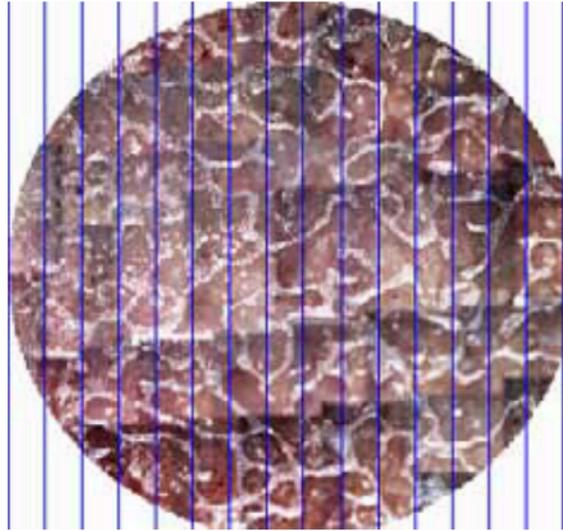


Figura 3.15 Tapa 1 a 90°

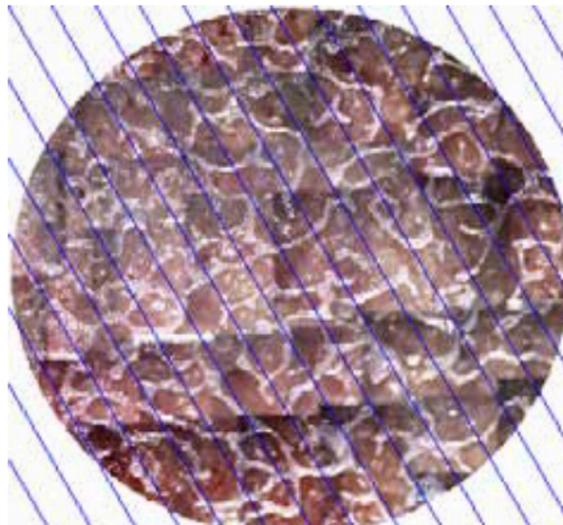


Figura 3.16 Tapa 1 a 120°

Se puede observar en la figura 3.17 la orientación preferencial de hueco de la tapa 1.

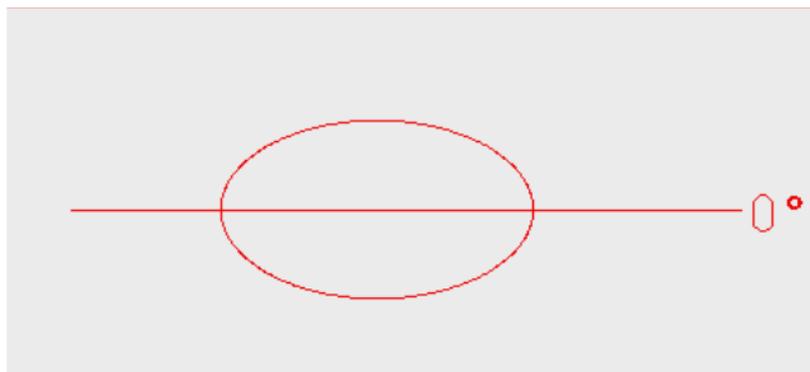
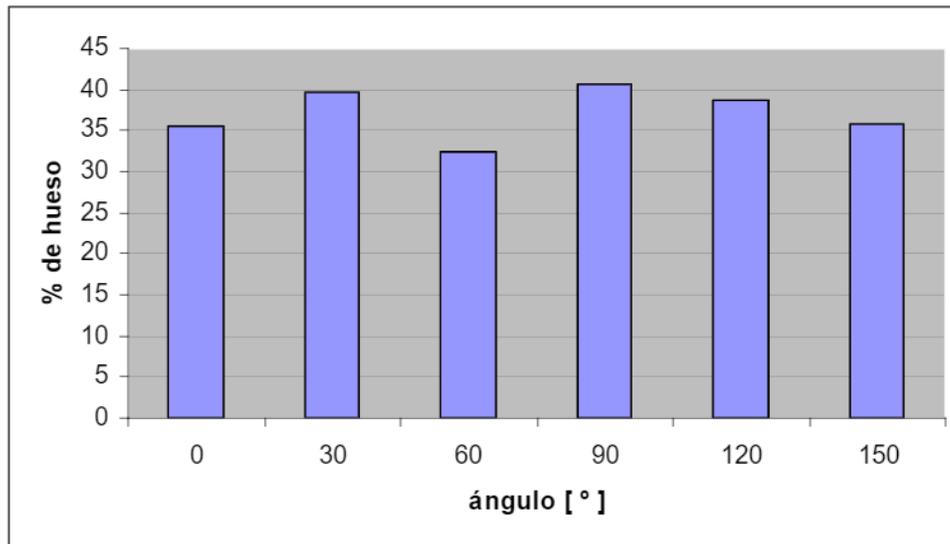


Figura 3.17 Tapa 1

En la gráfica 3.2 se puede observar que es bastante homogénea la estructura.



Gráfica 3.2 Tapa2

Se puede visualizar en la figura 3.18 y 3.19 la orientación preferencial de la tapa 2.

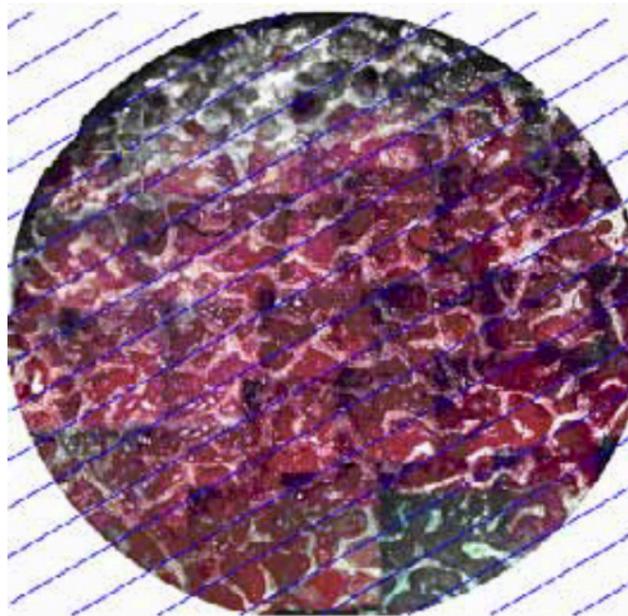


Figura 3.18 Tapa 2 a 30°

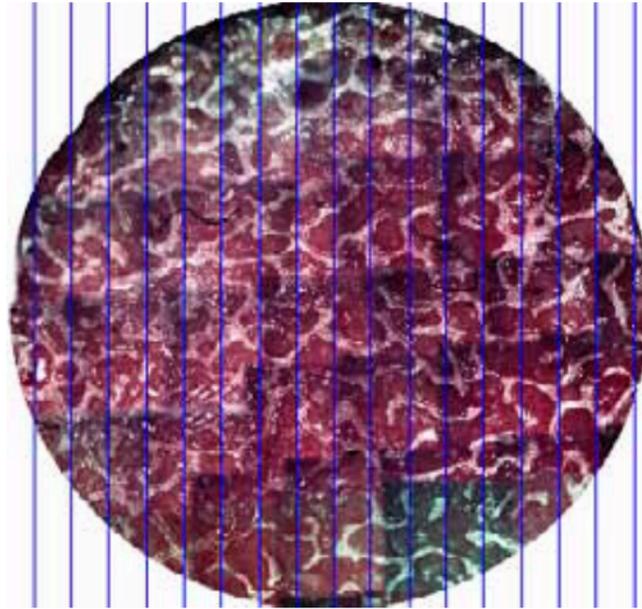


Figura 3.19 Tapa 2 a 90°

Se puede observar en la figura 3.20 la orientación preferencial de hueso de la tapa 2.

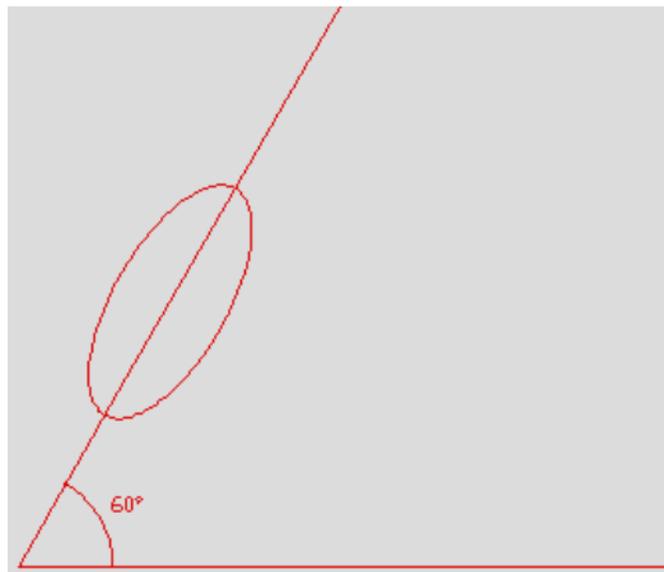
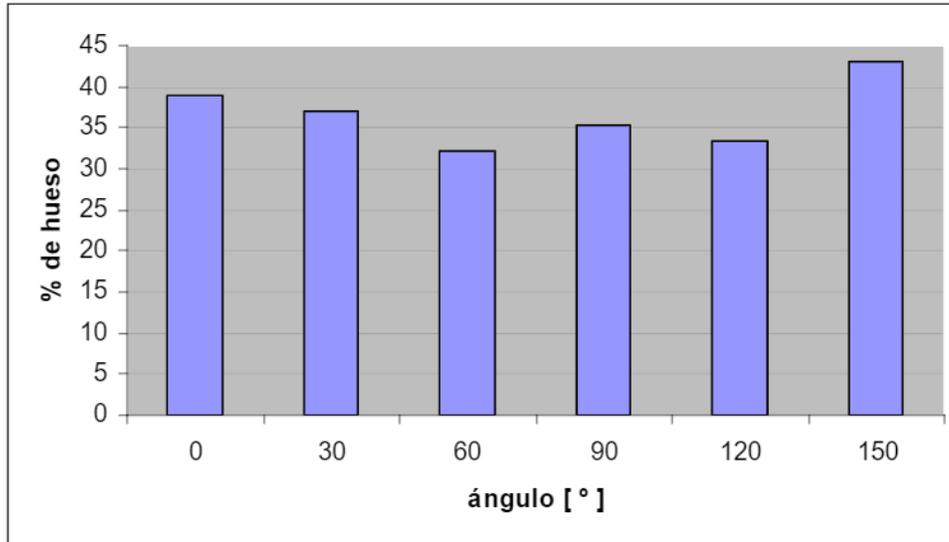


Figura 3.20 Tapa 2

Capítulo 3 Caracterización microestructural del hueso esponjoso

En la gráfica 3.3 se ve una orientación preferencial a 150° y 0° ya que son los valores más altos de porcentaje de hueso.



Gráfica 3.3 Transversal 3

Se puede observar en la figura 3.21 y 3.22 los ángulos de orientación preferencial de la transversal 3.

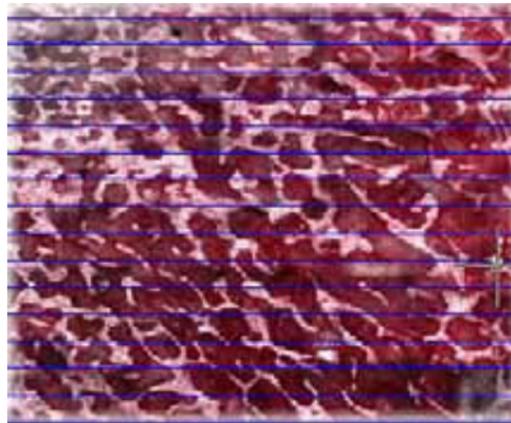


Figura 3.21 Sección transversal 3 a 0°

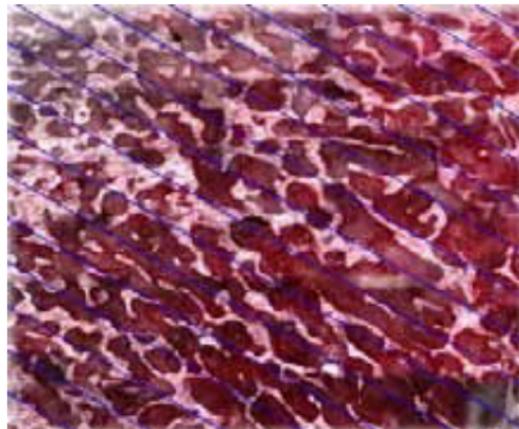


Figura 3.22 Sección transversal 3 a 150°

Capítulo 3 Caracterización microestructural del hueso esponjoso

Se puede observar en la figura 3.23 y 3.24 la orientación preferencial de hueco de la transversal 3.

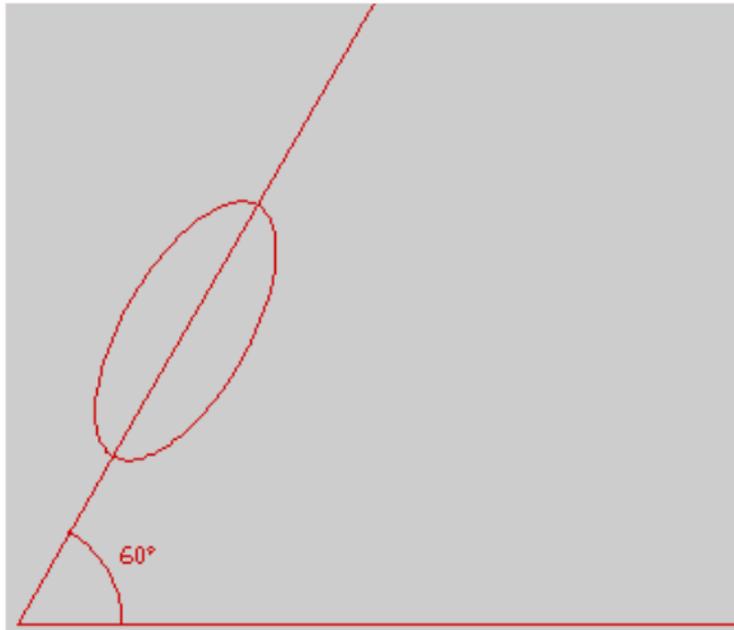


Figura 3.23 Sección transversal 4

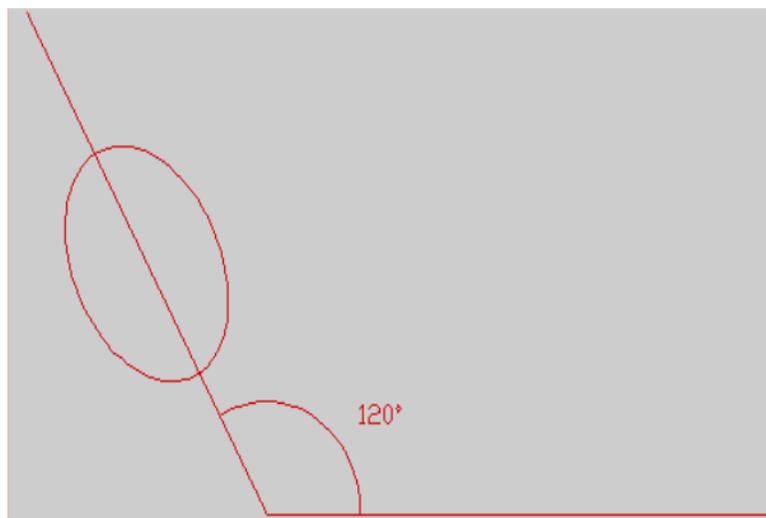
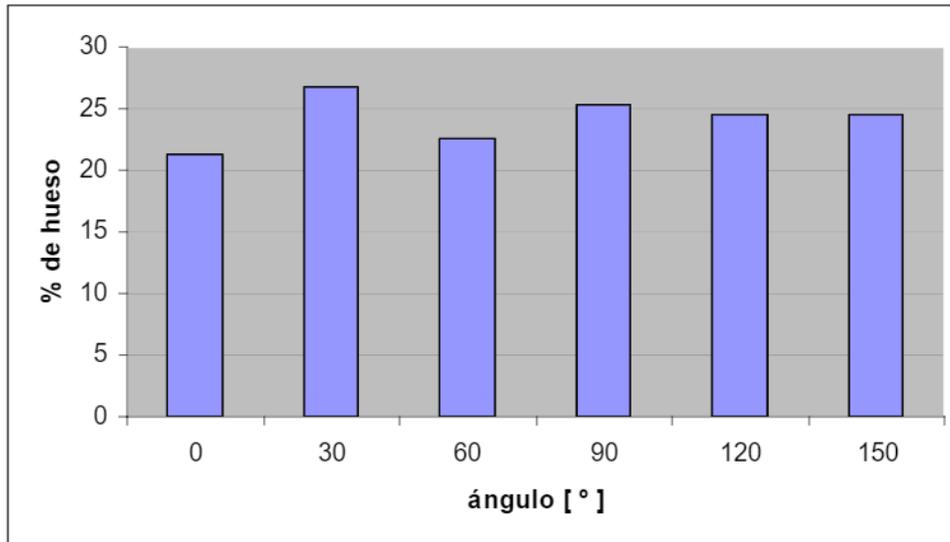


Figura 3.24 Sección transversal 4

Capítulo 3 Caracterización microestructural del hueso esponjoso

En la gráfica 3.4 observa que tiene una orientación preferencial entre 30° y 90° ya que son los valores más altos.



Gráfica 3.4 Transversal 4

Se puede visualizar en la figura 3.25 y 3.26 la orientación preferencial de la transversal 4.

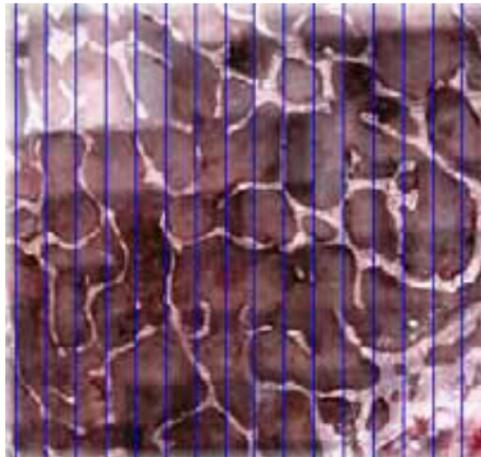


Figura 3.25 Sección transversal 4 a 90°

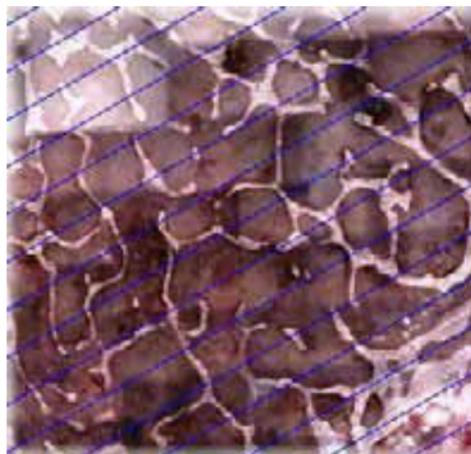


Figura 3.26 Sección transversal 4 a 30°

Capítulo 3 Caracterización microestructural del hueso esponjoso

Se puede observar en la figura 3.27 y 3.28 la orientación preferencial de hueco de la transversal 4.

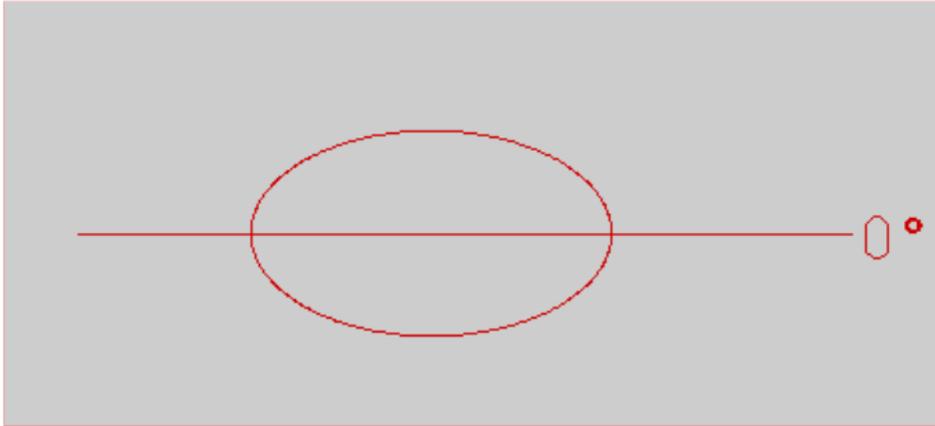


Figura 3.27 Sección transversal 4

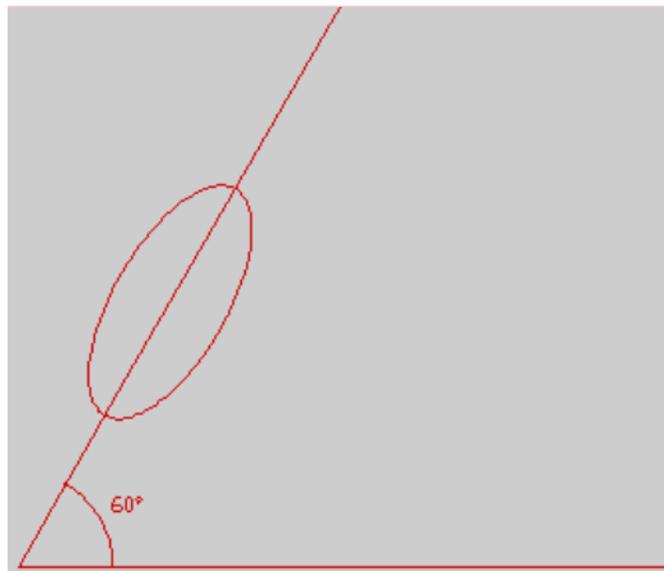


Figura 3.28 Sección transversal 4

Capítulo 4 Conclusiones

Para la caracterización microestructural del hueso esponjoso se requiere de mediciones en un conjunto de muestras para obtener representatividad en los datos. El objetivo del trabajo se limita únicamente a establecer un método de medición de la estructura trabécular y ver su orientación preferencial, lo cual se consiguió. Además esta metodología permitirá determinar parámetros geométricos con los que generaran modelos más apegados a la realidad en trabajos futuros.

Después de los resultados obtenidos, podemos decir que, el método utilizado es ventajoso para determinar la orientación preferencial del hueso trabécular, ya que es eficiente, sencillo y se puede implementar en paquetería lo que lo haría aun más rapido.

La fracción de área que se determinó en el programa Axion Vision ® muestra que, hay un mayor porcentaje de hueco en la tapa 2 que en la tapa 1 debido a que el espacio de hueco es más grande y tiene un menor porcentaje de espacio hueso. En la sección transversal es menos poroso.

La tapa superior tiene una orientación preferencial a 90° y 120° , mientras que en la tapa inferior a 30° y 90° . En la transversal 3, se observó una orientación preferencial a 150° , en cambio, en la transversal 4, es 30° su orientación preferencial.

En la tapa superior se tiene una orientación preferencial de hueco a 0° , en la tapa 2 a 60° tiene un porcentaje de hueco de 67%, para la transversal 3 se tiene una dirección preferencial de 60° y 120° , para la transversal 4 a 0° y 60° .

En la sección transversal, se observa un crecimiento de las trabéculas en dirección perpendicular al cartílago. También se pudo observar que de la zona cortical hacia el cartílago, hay un aumento de densidad y del cartílago hacia la zona central, hay una disminución de la misma.

En la transversal 3 y en la tapa 2, es muy alto el número de trabéculas por unidad de longitud, ya que estas ocupan la misma zona. De la misma manera, la transversal 4 y la tapa 1 presentan pocas trabéculas por unidad de longitud. Cabe destacar que se encontró un número menor de trabéculas por unidad de longitud en la transversal 4 que en las demás secciones, lo cual nos indica que esta es la que tiene una mayor porosidad.

Bibliografía

1. Cowin J.D, Bone Structure and Mechanics, Princeton University Press, EUA, 2002.
2. Finn Geneser, Histología, Medica Panamericana S.A, 2000.
3. Fung Yuan Cheng, Biomecánica: propiedades mecánicas de tejidos vivos, Ed Springer, 2ª ed, EUA, 1993.
4. Gibson L.J, The mechanical behaviour of cancellous bone, J Biomechanics, 1985.
5. Hayes Wilson C, 20 años de perspectiva sobre las propiedades mecánicas del hueso trabécular, Ingeniería Biomecánica, 1993.
6. <http://escuela.med.puc.cl/publ/Histologia/paginas/co28299.html>, Escuela de Medicina, Histología general, Enero, 2008.
7. <http://images.google.com.mx/images?hl=es&q=hueso+esponjoso&btnG=Buscar+im%C3%A1genes&gbv=2>, Universidad Mayor Facultad de Odontología, hueso esponjoso, Septiembre, 2008.
8. <http://www.greenfacts.org/es/glosario/ghi/hueso.htm>, Green Facts, Noviembre, 2008.
9. http://edocs.tu-berlin.de/diss/2004/kassi_jeanpierre.pdf, Kassi J.P, Musculoskeletal Loading and Pre-clinical Analysis of Primary Stability after Cementless Total Hip Arthroplasty in vitro, 2004, Enero, 2008.
10. <http://www.radiologyinfo.org/sp/>, Radiology Info (La fuente de información sobre radiología para pacientes), Densitometría ósea, 2009, Enero, 2009.
11. Kinney John H, An orientation distribution function for trabecular bone, Elsevier Science, 2005.
12. Kuo Arthur D y Carter Dennis R, Computational Methods for Analyzing the structure of cancellous bone planar sections, Orthopaedic Research Society, 1989.
13. Nicholson P.H.F, Structural and material mechanical properties of human vertebral cancellous bone, Elsevier Science, 1996.
14. Ross Michael H, Histología Texto Atlas color, Panamericana, 1992.
15. Serrano S, Aubia J Mariñoso ML, Patología ósea metabólica, Barcelona Doyma: 1990.
16. Vigorita V.J, Orthopaedic Parthology, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999.

