



Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina

MODELO COMPUTACIONAL PARA LA
SIMULACION DEL PROCESO DE
OSTEOGÉNESIS Y CURACIÓN ÓSEA
DESPUES DE LA FRACTURA

Andrés Julián Arias Moreno

Directores:

Ing. Andrés Tovar Pérez Ph.D.,

Ing. Diego Alexander Garzón Alvarado Ph.D.

Profesores Asociados, Departamento de Ingeniería
Mecánica y Mecatrónica
Facultad de Ingeniería

Bogotá D.C., 31 de enero de 2011

Nota de aceptación

Firma del jurado

Firma del jurado

Bogotá D.C., 31 de enero de 2011

Agradecimientos

A Dios, a María Auxiliadora, San Juan Bosco y Santo Domingo Savio
Por la sabiduría, la voluntad y la bendición de darme las capacidades para
culminar este proceso y todos los que vienen.

A Diego Alexander Garzón–Alvarado y Andrés Tovar Pérez, Directores,
Por su constante apoyo, guía, dirección, consejo y paciencia.

A Nancy Stella Landinez Parra y Carlos Julio Cortés Rodríguez, Jura-
dos,
Por su valoración y apreciación objetiva como evaluadores de esta investi-
gación.

A Lorenza Henao, mi esposa y compañera en esta aventura denominada
vida, con maestría y futuro juntos.

A Alba Patricia Arias, Fabio Marcelo Peña, Jose Germán Hoyos, Hector
Andrés Tinoco, Belarmino Segura y Juan David Correa de la Universidad
Autónoma de Manizales, por su constante apoyo intelectual y emocional.

A mi mamá y mi hermano, que siempre han estado a la expectativa de
mi labor.

A Emmy y Melqui –los sabios de Caldas–. Sin ellos no hubiese sido posi-
ble llegar tan lejos.
A Marcelo Henao por toda la información que me ayudó a conseguir.

Y a todos los amigos, compañeros y demás que aportaron su granito de
arena para obtener este resultado.

Contenido

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1. Hueso | 1 |
| 1.1.1. Composición y estructura | 1 |
| 1.1.2. Biomecánica del hueso | 4 |
| 1.1.3. Remodelación ósea | 8 |
| 1.1.4. Imaginología para la densidad ósea y la reparación de fractura | 9 |
| 1.1.5. Predicción de fractura In Vivo | 10 |
| 1.2. Fractura Ósea | 11 |
| 1.2.1. Generalidades de la reparación de fractura | 12 |
| 1.3. Proceso fisiológico de la reparación de fractura | 21 |
| 1.3.1. Sumario | 24 |
| 1.3.2. Revisión y estado del arte | 28 |
| 1.3.3. Objetivo principal de la investigación | 31 |
| 1.3.4. Objetivos específicos | 31 |
| 2. AUTÓMATAS CELULARES HÍBRIDOS | 32 |
| 2.1. Definición | 32 |
| 2.2. Historia y Antecedentes | 34 |
| 3. MODELO COMPUTACIONAL: CONFIGURACIÓN INICIAL | 39 |
| 3.1. Parámetros mecánicos y biológicos en la reparación de fractura | 39 |
| 3.2. Aplicaciones del análisis de reparación de fractura | 42 |
| 3.2.1. Predicción de la geometría y la arquitectura en la reparación de fractura | 42 |
| 3.2.2. Predicción del tiempo de curación | 43 |
| 3.2.3. Parámetros de las células y tejidos a modelar | 43 |
| 3.3. Configuración de la Fractura inicial | 45 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.4. Configuración de la Hemóstasis | 47 |
| 3.5. Parámetros mecano–biológicos para el control de tamaño y geometría del callo óseo | 47 |
| 3.6. Parámetros mecano–biológicos para la diferenciación celular . | 49 |
| 3.7. Parámetros mecano–biológicos para la evolución de los tejidos | 49 |
| 3.8. Parámetros mecano–biológicos para determinar la duración de la curación de la fractura | 50 |
| 3.9. Modelo de reparación de fractura | 50 |
| 4. FASE DE CRECIMIENTO Y EVOLUCIÓN DE TEJIDOS EN EL CALLO ÓSEO | 54 |
| 4.1. Introducción | 54 |
| 4.2. Resumen | 54 |
| 5. FASE DE REMODELACIÓN ÓSEA | 56 |
| 5.1. Introducción | 56 |
| 5.2. Resumen | 56 |
| 6. RECOMENDACIONES Y TRABAJO FUTURO | 57 |
| Bibliografía | 58 |

Lista de Figuras

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.1. Hueso Tejido o Nuevo | 2 |
| 1.2. Hueso Cortical Lamelar | 3 |
| 1.3. Hueso Trabecular | 3 |
| 2.1. Vecindades y fronteras de los Autómatas Celulares | 33 |
| 2.2. Juego de la vida | 35 |
| 2.3. Fractales de Wolfram | 36 |
| 2.4. Red biológica continua | 37 |
| 2.5. Crecimiento de tumores con Autómatas Celulares | 38 |
| 3.1. Modelo inicial de fractura | 46 |
| 3.2. Simulación de hemorragia | 47 |
| 3.3. Simulación de hemostasis | 48 |
| 3.4. Esquema del modelo para simulación de reparación de fractura ósea | 52 |

Lista de Tablas

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.1. Clasificación de los tipos de fractura | 13 |
| 1.1. Curación Secundaria de Fractura Ósea. | 25 |
| 1.2. Curación Primaria de Fractura Ósea. | 27 |
| 3.1. Parámetros de las células presentes en la reparación de fractura ósea | 44 |
| 3.2. Parámetros de las matrices celulares presentes en la reparación de fractura ósea | 44 |
| 3.3. Propiedades mecánicas de los tejidos presentes en la reparación de fractura | 45 |

Resumen

El propósito de este trabajo de investigación es simular el proceso de osteogénesis y la curación secundaria de fractura, de forma que el modelo desarrollado permita conocer y predecir la evolución del crecimiento óseo y los aspectos de la reparación tales como la geometría externa, la arquitectura interna y el tiempo de curación en respuesta al estímulo mecánico aplicado.

De acuerdo a estudios del tejido óseo, la reparación de fractura tiene alta dependencia de factores locales mecánicos y fisiológicos manifestados a nivel celular, lo que hace complejo predecir cual es el camino que va a seguir la fractura en su proceso de curación. Sin embargo, para cada tipo específico de fractura y la región anatómica afectada se determina un procedimiento específico de atención que permite conocer y controlar su proceso de sanación. Las predicciones de esta investigación están basadas precisamente sobre estos parámetros.

El modelo presentado simula el comportamiento de la reparación a nivel celular gracias a la implementación de los Autómatas Celulares, pequeñas maquinas matemáticamente configuradas para tomar decisiones de evolución en el tiempo de acuerdo a los estados propios y de sus inmediatos vecinos.

La simulación termina presentando una propuesta de geometría y arquitectura final de la unión ósea entre los segmentos, además de estimar el tiempo requerido en dicha reparación.

Abstract

The aim of this research work is to simulate osteogenesis process and secondary bone healing, in this way developed model allow knows and predicts bone growth evolution and reparation aspects like outer geometry, internal architecture and bone healing time in response to applied mechanical stimulus.

According to bone tissue studies, bone healing has a high dependence from mechanical and physiological factors evident at cellular level, becoming complex to predict which one way fracture follows in healing process. However, for each specific kind of fracture and affected anatomical part is determined a specific assistance procedure to make enable knows and take control over healing process. Predictions of this research are based right that in those parameters.

Presented model simulates healing behavior at cellular level thanks to use of Cellular Automaton, small machines configured by mathematical statements for take decisions of time-evolution according to own states and states of its neighborhood.

Simulation finish showing a geometry and final architecture proposals of bony join between segments in addition to estimate request repair time.

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN

1.1. Hueso

1.1.1. Composición y estructura

El hueso es un tejido conectivo especializado compuesto por una fase inorgánica (sales minerales en forma de cristales de hidroxiapatita) y una fase orgánica (colágeno tipo I y sustancia fundamental) en un medio húmedo donde habitan las células encargadas de conformar y transformar dicho tejido.

Dichas células son los Osteoblastos (células generadoras de hueso), los Osteoclastos (células absorbedoras del hueso) y los osteocitos (células que conforman el hueso y a su vez son mecanosensoras).

La característica ósea de ser conformada por dos fases le hace adquirir propiedades mecánicas excepcionales, pues mientras la fase inorgánica otorga rigidez y dureza su contraparte orgánica aporta elasticidad y flexibilidad. Gracias a esta condición, el hueso es un tejido vivo con comportamiento de material bifásico además de poseer capacidad de autorreparación.

Sus principales funciones están relacionadas con la arquitectura corporal, la protección de órganos esenciales y las demandas mecánicas del cuerpo —distribución y transmisión de cargas mecánicas propias de la postura corporal y la actividad física—.

Microscópicamente el hueso se presenta de dos formas: tejido o nuevo (Fig. 1.1) y lamelar (Fig. 1.2). El hueso nuevo se considera inmaduro o

primitivo y normalmente se encuentra en el hueso en crecimiento y en el callo óseo post fractura. Este hueso primario tiene apariencia de tejido basto en orientaciones no uniformes; posee más células por unidad de volumen que el hueso lamelar y su arreglo es aleatorio. Cuando este hueso es probado mecánicamente, posee comportamiento isotrópico.

El hueso lamelar es un hueso maduro y normal que resulta como producto del remodelamiento. Se encuentra en varias estructuras óseas tal como los paquetes trabeculares, osteonas y espacios intersticiales. Es un arreglo altamente organizado que otorga al hueso propiedad anisotrópica.

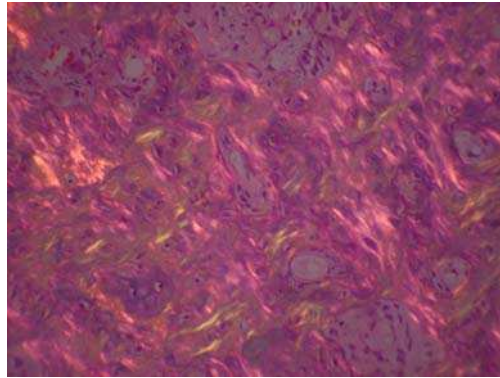


Figura 1.1. Hueso Tejido o Nuevo [36]

El hueso nuevo y el lamelar forman a nivel estructural hueso cortical —denso o compacto— y hueso trabecular —o esponjoso— (Figuras 1.2 y 1.3 respectivamente). La característica principal que les clasifica es la densidad que cada uno de estos tipos presenta. El componente cortical es altamente denso —masa ósea cuatro veces mayor que el trabecular— mientras que el trabecular posee un proceso mas rápido de renovación ósea —ocho veces mayor que el cortical— debido a que este proceso es superficial teniendo este último hueso mas área superficial que su contraparte, además de bastantes espacios intersticiales donde se ubica la medula ósea.

El hueso trabecular es una red tridimensional de ramificaciones óseas orientadas en dirección de las cargas mecánicas que soportan, especialmente esfuerzos de compresión. Se encuentra en la epífisis y la metáfisis de los huesos largos y en el interior de los huesos cuboides.

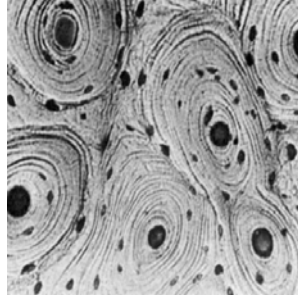


Figura 1.2. Hueso Cortical Lamelar [36]

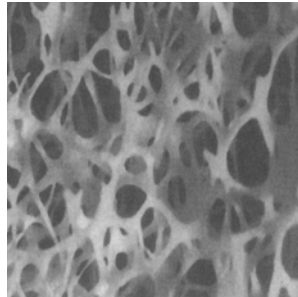


Figura 1.3. Hueso Trabecular [36]

Estructuralmente el hueso cortical esta conformado por la osteona o sistema haversiano, una formación de laminas concéntricas de hueso lamelar que rodean un canal central donde se ubican elementos vasculares y nerviosos. Se encuentra en la diáfisis de los huesos largos y envolviendo los huesos cuboides. Soporta cargas de flexión, torsión y compresión.

A nivel celular, los osteoblastos y los osteocitos son formadores de hueso; son células mononucleares cuya diferencia radica en la ubicación que tienen, pues los osteoblastos están en las superficies del hueso mientras que los osteocitos están encerrados en la matriz mineralizada. Estas células se originan desde las células osteoprogenitoras y su tamaño en diámetro no supera los $20 \mu\text{m}$.

Los osteoblastos se pueden definir como las células que producen colágeno tipo I y osteocalcina cuando son estimulados con 1,25 dihidroxivitamina D.

Cuando los osteoblastos se han rodeado de matriz ósea mineralizada, se les denomina osteocitos. Son las células más numerosas del hueso y se

encuentran en las lacunas. Pueden manipular metabólicamente su entorno sin importar la actividad de la superficie ósea, proceso importante para el intercambio de calcio. Se comunican unos con otros gracias a ramificaciones existentes entre estos, las cuales sirven para el intercambio de minerales óseos con el fluido extracelular además de sensar y transducir las cargas mecánicas que soporta el hueso.

Los osteoclastos son las células resorcivas del hueso y se caracterizan por su gran tamaño (de 20 a 100 μm de diámetro) y por ser multinucleadas; se originan por la fusión de los monocitos, células hemopoyéticas provenientes de la medula ósea. Estas células producen ácidos y fosfatasas que son sustancias destinadas a la resorción ósea.

La unidad básica multicelular o BMU por sus siglas en inglés, responsable por la remodelación ósea, está compuesta por el osteoblasto y el osteoclasto. El primero realiza deposición de material óseo mientras que el segundo lo reabsorbe.

1.1.2. Biomecánica del hueso

El material óseo posee características de material bifásico, por lo que fácilmente soporta cargas súbitas y fuertes mientras mantiene su rigidez y dureza. Soporta cargas mecánicas tales como tensión, compresión, torsión, flexión y combinaciones de estas —la situación más común—.

El hueso posee algunas regiones características de material isotrópico mientras que en otras zonas presenta comportamiento de material ortotrópico o anisotrópico. Esta variación sucede por la formación ósea debida a la variedad, magnitud y dirección de las fuerzas que soporta este órgano a lo largo de su extensión anatómica.

El hueso es un material que soporta la compresión de forma hábil mientras que, por su carácter de material tipo vidrioso, es débil ante cargas de tensión. Cambia sus propiedades mecánicas a medida que envejece —un hueso joven presenta mayor ductilidad y capacidad de deformación que un hueso viejo—.

A su vez, este órgano es rígido ante las altas cargas y/o ante cargas de impacto por su componente cortical mientras que posee capacidad de alta

deformación y almacenamiento de energía de deformación por intervención del componente trabecular. Ante las cargas frecuentes o periódicas el hueso responde eficientemente, pues por sus características de material mecánico, sufre microgrietas por fatiga que son prontamente remodeladas por las células óseas; sin embargo, cuando el proceso de remodelamiento no es tan rápido como el avance de la fatiga, este alcanza el colapso.

El comportamiento mecánico del hueso también depende, como cualquier material de ingeniería, de sus propiedades geométricas y por la distribución de tejido óseo en la extensión de su volumen.

El hueso sufre hipertrofia en respuesta a la actividad física, mientras que con el desuso se atrofia. La densidad ósea disminuye con el envejecimiento, el desuso y algunas condiciones metabólicas. Mas aún, existen cambios en la geometría durante la reparación de fractura ósea, con el ejercicio, con la edad y con algunas intervenciones quirúrgicas. Todos suceden en respuesta adaptativa a su ambiente mecánico.

Un factor importante que define el comportamiento mecánico del hueso es su densidad aparente, la cual se define como la cantidad de masa ósea en una unidad de volumen. El hueso cortical posee densidad aproximada de 1.85 g/cm^3 mientras que la densidad del hueso trabecular es del orden de 0.30 g/cm^3 [28].

Hueso cortical. Aunque las propiedades mecánicas están determinadas por la dirección de las cargas soportadas, este tipo de hueso se considera un tejido con comportamiento de material transversalmente isotrópico. Su módulo de elasticidad se encuentra en el orden de 18 a 20 GPa [36].

El hueso cortical es un tejido mas fuerte en la compresión que en la tensión y sus valores de resistencia son mayores en carga longitudinal que en carga transversal. Cuando el tejido cortical se carga cerca de su valor de fluencia, tiende inmediatamente a fracturarse por su baja plasticidad.

Un material duro posee cierta habilidad para absorber altas energías por cargas mecánicas, pero cuando esta energía excede la capacidad de absorción de energía del hueso, este se fractura. El hueso cortical también presenta comportamiento viscoelástico.

El hueso cortical es bueno para soportar altas ratas de carga como las

generadas en actividad física intensa. Por otra parte, las propiedades de fatiga ante cargas cíclicas son importantes para analizar las fracturas por cargas y también para estudiar sus potenciales estímulos en el remodelamiento óseo, pues la observación principal al respecto indica que el hueso cortical puede fracturarse con niveles de carga cíclica más bajos que los presentados en la actividad cotidiana.

La vida útil del hueso cortical también depende de la temperatura, de forma tal que a mayor temperatura aumenta la capacidad del tejido para soportar las altas cargas demandadas; los valores de temperatura ósea pueden variar entre algunos grados por debajo de la temperatura ambiente hasta varios grados por encima de la temperatura media corporal.

El patrón de falla en el hueso cortical se da en tensión por desprendimiento de las capas que conforman un osteón mientras que en la compresión hay agrietamiento oblicuo.

Cuando el hueso cortical acumula daño por fatiga, se ha comprobado que falla de la misma forma que lo hace un material compuesto; el proceso empieza por la iniciación de microgrietas, seguido por la propagación o crecimiento de las grietas hasta alcanzar finalmente la fractura. Las lacunas, los canalículos y los canales haversianos actúan como concentradores de esfuerzo que inician las microgrietas, mas es apenas un proceso normal pues de esta manera puede estimularse el proceso de remodelamiento.

Bajo este proceso, el hueso cortical repara y/o elimina las grietas y reduce los esfuerzos de concentración donde estos se presentaban. Cuando la acumulación de daños es alta, el hueso cortical pierde vida útil y se fractura.

Hueso trabecular. Existe una gran variación de la densidad ósea en el hueso trabecular, entre otras razones por la edad del tejido y la ubicación anatómica de este. El hueso trabecular se describe mejor como una espuma porosa con interconexiones de trabéculas y es menos rígido que el hueso cortical. Su módulo de elasticidad es de 1 GPa [36].

Un importante factor que altera las propiedades del hueso trabecular es su arquitectura, la cual esta en función de la forma y la orientación del hueso donde se encuentre. La forma y conectividad de las trabéculas se observa en grupos de barras delgadas o láminas o mezclas de ambos. Así mismo, la orientación de las estructuras celulares básicas controladas por la direc-

ción de las cargas aplicadas al conjunto óseo determina la orientación de las trabéculas en acuerdo con la ley de Wolff.

La gran variedad de posibilidades en la arquitectura del hueso trabecular trae como efecto un comportamiento anisotrópico en este tipo de hueso con la excepción en algunos casos anatómicos donde la gran variedad de cargas soportadas generan una morfología con comportamiento isotrópico.

El hueso trabecular se fractura generalmente por esfuerzos de compresión. Este tipo de hueso soporta cargas mecánicas gracias a su alta capacidad de deformación, la cual le permite absorber bastante energía de deformación antes de fallar. Cuando el hueso ha alcanzado su límite de deformación — cercano al 50 %— empieza a fracturarse primero por algunas trabéculas hasta que finalmente las fallas se incrementan y el hueso se fractura totalmente. Su capacidad para soportar la deformación por compresión esta relacionado con la densidad aparente que este posea.

Este tejido fácilmente puede acomodar su densidad aparente de acuerdo a la carga mecánica que deba soportar en su ambiente ajustando su rigidez y dureza.

El comportamiento del hueso trabecular ante las cargas de tensión es diferente, pues este tejido es básicamente una estructura para soportar la compresión. Bajo cargas de tensión se presentan fallas de trabéculas individuales hasta llegar a la fractura cuando la mayoría de trabéculas han fallado.

La medula ósea contenida en los espacios intersticiales del hueso trabecular aporta un buen comportamiento de viscoelasticidad, absorbiendo mayor energía de deformación que el tejido mismo.

El hueso trabecular presenta disminución en su masa y cambios en su arquitectura al envejecer. Si bien la densidad aparente y la arquitectura no dan una buena idea del riesgo de fractura, la relación de cambio de la densidad si es tenida en cuenta para predecir este fenómeno. Con el envejecimiento, las trabéculas se adelgazan y el espacio entre estas aumenta.

A nivel de las fracturas en trabéculas individuales, se ha observado que estas se reparan formando un pequeño callo óseo similar a la reparación de fractura en huesos largos.

En cuanto a las fracturas por fatiga, estas se observan en pequeños grupos de trabéculas debido a fuertes cargas uniaxiales, las cuales generan grietas y/o torsiones en trabéculas individuales.

1.1.3. Remodelación ósea

La remodelación es el proceso de constante cambio y regeneración del hueso; es un proceso superficial y sucede en el periostio, endostio, trabéculas y canales haversianos. La remodelación se produce por la necesidad de mantener el buen estado del hueso de tal forma que este pueda responder ante las demandas mecánicas de su ambiente. Los osteocitos sienten la magnitud y dirección de las cargas mecánicas soportadas en el punto de su ubicación y transducen dichas cargas en señales que determinan la producción de hueso donde se necesite y la reabsorción donde no se requiera; Estas transformaciones se asocian con la ley de Wolff (1892), la cual afirma que el hueso puede cambiar su forma, tamaño y arquitectura en función de las demandas mecánicas soportadas.

Los osteocitos —células mecanosensoras— reciben estímulos mecánicos que son transducidos a la unidad multicelular básica —osteoblastos y osteoclastos, células óseas responsables del remodelamiento— para activar los procesos de generación y reabsorción de hueso respectivamente. El proceso completo del remodelamiento se explica paso a paso a continuación:

Estado inicial: en el hueso inicia la labor del osteocito sintiendo la señal mecánica. En la superficie del hueso —la cual es normalmente continua— descansan osteoblastos inactivos en una guarnición denominada revestimiento celular óseo; dichas células están en contacto químico directo con los osteocitos.

Activación: proceso por el cual se forman los osteoclastos durante tres días para iniciar la labor de resorción.

Resorción: en esta etapa inicia la disolución del hueso por parte de los osteoclastos los cuales barren la superficie del hueso liberada por los osteoblastos tapizadores, generando las cavidades denominadas lagunas de Howship —para el hueso cortical— o conos de resorción —para el hueso trabecular—. La velocidad de apertura de la cavidad es aproximadamente de 40 $\mu\text{m}/\text{día}$ y alcanza profundidades entre 60 y 100 μm . La resorción puede durar hasta

un mes [5, 33].

Reversión: Los osteoclastos desaparecen y aparecen los primeros osteoblastos, los cuales empiezan a dejar una fina capa denominada osteoide, con un límite bien definido llamado línea de cementación.

Formación: Los osteoblastos depositan matriz ósea a una velocidad de $10 \mu\text{m}/\text{día}$, durante un espacio de tiempo entre cinco y diez días. En una persona adulta el 25 % del hueso trabecular y el 5 % del hueso cortical se cambia o forma por año, en los niños este proceso es más rápido [5, 33].

Mineralización: proceso por el cual el material depositado por los osteoblastos se mineraliza sobre un frente visible en el microscopio; el 60 % del hueso se mineraliza en los primeros días y el resto puede tomar varios meses [5].

El resultado final es un osteón o sistema haversiano en el hueso cortical y un paquete trabecular en este tipo de hueso. El hueso trabecular cambia su estructura mediante el proceso de remodelamiento, por lo que su cambio recibe el nombre de mesomodelamiento o modelamiento a nivel de tejido.

1.1.4. Imaginología para la densidad ósea y la reparación de fractura

Las radiografías son una buena técnica para medir la distribución y la variación de la densidad ósea así como la morfología de las fracturas; sin embargo existen otras técnicas que permiten detectar estos aspectos de maneras más confiables y exactas.

Entre las técnicas más difundidas se encuentra la Absorsimetría de fotón simple (SPA), la Absorsimetría de rayos X por fotón y energía dual (DEXA) y la Tomografía cuantitativa computarizada (QCT). Estas técnicas son a menudo empleadas para conocer la variación de la densidad ósea en la reparación de fractura [30].

1.1.5. Predicción de fractura In Vivo

Desde la óptica de la ingeniería, se requiere tener en cuenta en una estructura resistente a la falla tres aspectos importantes: 1) la geometría de la estructura, 2) las propiedades mecánicas del material componente de la estructura y 3) la ubicación y dirección de las cargas que la estructura soporta.

Con estos aspectos se puede conocer el comportamiento mecánico esperado de dicha estructura, así como se puede estimar un factor de seguridad para la misma. La condición inversa del factor de seguridad se denomina el factor de riesgo, la cual provee información acerca de la factibilidad de una fractura en la estructura bajo ciertas condiciones de carga.

El estudio del riesgo de fractura en el esqueleto humano ciertamente es muy complejo debido a que existe un grado de incertidumbre en cuanto a la dirección y magnitud de las cargas soportadas en la cotidianidad; a su vez la compleja geometría de los huesos —especialmente en las zonas de alto riesgo de fractura por cambios propios del envejecimiento— es un factor que interviene en la habilidad de un hueso para soportar dichas cargas. En la actividad diaria pueden presentarse fuertes cargas que el esqueleto no espera como las presentadas en caídas y accidentes, las cuales conducen a la fractura.

En conclusión, es difícil estimar un factor de riesgo dado por los esfuerzos que soporta el hueso en cargas normales o traumáticas.

1.2. Fractura Ósea

Las fracturas pueden suceder por diversos factores donde se destacan las lesiones por efectos genéticos, infecciones y cargas mecánicas; en esencia las lesiones son vistas desde el efecto provocado en las células óseas, la capacidad de generar matriz extracelular y la arquitectura y organización de sus componentes orgánicos e inorgánicos.

El hueso a nivel citoestructural requiere una constante comunicación celular y una permanente irrigación circulatoria para mantener su arquitectura y función. Los procesos de remodelamiento y de reparación requieren de esta relación celular para mantener una constante renovación y diferenciación del tejido presente en la organización ósea; cualquier lesión afecta estas redes y por ende afecta dichas funciones óseas.

Cada tipo de lesión, de acuerdo a su naturaleza, presenta aspectos predominantes para el proceso de reparación; sin embargo, el funcionamiento de fondo es el mismo en todas las lesiones.

Biomecánica de las fracturas. La fractura se clasifica de acuerdo a las características de la fuerza que la causó. Una fractura puede presentarse por fuerzas cíclicas de baja magnitud en un largo periodo de tiempo o por una fuerza de alta magnitud en una sola aplicación.

La susceptibilidad del hueso a fracturarse por cargas bajas está dada por la estructura cristalina del hueso y por la orientación del colágeno, el cual refleja las propiedades viscoelásticas de este.

El hueso cortical es vulnerable tanto a cargas fluctuantes de tensión como de compresión. En cada ciclo de carga una cantidad de energía de deformación se pierde en las microgrietas sobre las líneas de cemento, la fatiga se produce entonces por acumulación progresiva de microdaños. Eventualmente el hueso cortical se fractura por la propagación de grietas, sin embargo el hueso como tejido vivo emprende simultáneamente el proceso de reparación. El callo perióstico y la formación de nuevo hueso sobre las microgrietas puede detener la propagación reduciendo los niveles de esfuerzo en el extremo de la grieta.

Las fracturas presentadas por una simple aplicación de fuerza se clasifican de acuerdo a la magnitud y el área de distribución de la fuerza así como

la rata de acción de esta fuerza sobre el hueso. Cuando el trauma es directo, el tejido blando y la fragmentación de la fractura están relacionadas con la rata de carga; La energía del trauma esta relacionada con la velocidad de la carga.

Las fracturas causadas por cargas indirectas se producen por fuerzas aplicadas al hueso a una distancia del lugar de la fractura como por ejemplo las fracturas causadas por fuertes contracciones musculares a través de las articulaciones.

Sin importar el lugar de aplicación de las fuerzas, estas pueden generar esfuerzos tensiles, compresivos, cizallantes o una mezcla de estos. Los patrones de falla de los huesos largos siguen unas reglas básicas; en general, la combinación de las fuerzas de hueso y las propiedades anisométricas — particularmente en los tres planos de esfuerzos— determinan cuando, cómo y en qué dirección ocurre la fractura.

Los nueve grupos de fractura, clasificados por el grado de fragmentación y la etiología, se presentan en la tabla 1.1.

La susceptibilidad de un hueso a fracturarse se relaciona con su módulo de elasticidad, sus propiedades de material —isotrópico, ortotrópico o anisotrópico— y con su capacidad para absorber energía de deformación.

1.2.1. Generalidades de la reparación de fractura

La reparación de fractura es de dos tipos: la curación primaria de fractura (directa) y la curación secundaria de fractura (indirecta y espontánea).

La curación secundaria se caracteriza por la curación en ausencia de fijación rígida en el sitio de la fractura y es el método más común de curación ósea. La curación primaria requiere estabilización rígida con o sin compresión sobre los extremos óseos fracturados y a diferencia de la curación secundaria, este tipo suprime la formación de un callo en el hueso cortical o trabecular. Debido a que la mayoría de fracturas no son tratadas o se tratan con métodos que permiten algún grado de movimiento (fijación por yeso, cabestrillo y la fijación externa o intramedular) es poco común encontrar este tipo de curación.

Tabla 1.1. Clasificación de los tipos de fractura

| | | | |
|---------------------------|--------------------------------|----------------------|------------------|
| Patrón de Fractura | Grupo A | | |
| | Fractura tipo Simple | | |
| | A1 | A2 | A3 |
| | Espiral | Oblicua | Transversa |
| Mecanismo | Torsión | Flexión de 3 puntos | Flexión pura |
| Patrón de Fractura | Grupo B | | |
| | Fractura tipo Mariposa | | |
| | B1 | B2 | B3 |
| | Mariposa por torsión | Mariposa Uno | Varias flexiones |
| Mecanismo | Torsión y Flexión | Flexión y Compresión | |
| | | Baja velocidad | Alta velocidad |
| Patrón de Fractura | Grupo C | | |
| | Fractura tipo Conminuta | | |
| | C1 | C2 | C3 |
| | Conminuta por Torsión | Fractura segmental | Molido |
| Mecanismo | Torsión a alta velocidad | Flexión a 4 puntos | Aplastamiento |

Biología de la reparación de fractura. En el momento del impacto, la energía absorbida por el hueso conduce a la falla mecánica y estructural. Adicionalmente, la falla ósea genera una interrupción de la circulación sanguínea en el hueso a la altura de la fractura. El proceso biológico de la reparación de fractura es la regeneración de tejido. El tejido lesionado es reemplazado por una cicatriz ósea.

Este proceso regenerativo consta de tres fases: (1) inflamación, (2) Reparación —subdividido en fase de callo blando y fase de callo duro— y (3) remodelamiento.

Fase de Inflamación. Comienza inmediatamente después de generada la fractura con la aparición del hematoma y un coágulo de fibrina con plaquetas, neutrófilos polimorfonucleares y monocitos o macrófagos en el lugar de la fractura. Este hematoma comienza por la acción de las plaquetas que se adhieren a las fibras de colágeno libres sobre la superficie ósea fracturada así como en los tejidos blandos adyacentes. Se observan hemorragias y células muertas donde los vasos sanguíneos se rompen. Las plaquetas libres se unen entre sí formando una pared celular que busca detener la hemorragia. El fibrinógeno que está en la sangre se metaboliza formando redes insolubles de fibrina, las que finalmente se polimerizan y entrelazan con el objeto de retener proteínas, agua, sales y células sanguíneas. En los extremos de los fragmentos fracturados se genera un proceso de necrosis con la emisión de enzimas lisosomales y otros productos provenientes de la muerte celular. Luego aparecen prontamente fibroblastos, células mesenquimales y células osteoprogenitoras provenientes en algunos casos de células endoteliales transformadas en el canal medular y/o en el periostio y/o por inducción osteogénica de las células provenientes del interior de los músculos y el tejido blando cercano.

Los vasos sanguíneos del callo perióstico son totalmente nuevos y se originan desde los tejidos blandos extraesqueléticos y del canal medular; se requiere oxígeno para mantener la angiogénesis en estos tejidos en sanación. Esta angiogénesis se controla por los macrófagos los cuales producen angiogénicos bajo condiciones hipóxicas.

Fase de Reparación, Callo blando. Las etapas del callo blando y callo duro son algo arbitrarias debido a que en diferentes regiones anatómicas con determinadas fracturas se presentan diversas tasas de reparación. En cuando a la histología de una fractura típica y sus regiones componentes el aspecto

periférico de callo externo muestra solo formación de cartílago, mientras que en las zonas próximas a los extremos óseos se nota formación de hueso. Sin embargo es conveniente definir la etapa del callo blando como el inicio formal de la reparación cuando disminuyen el dolor y la hinchazón hasta que los fragmentos óseos se unen por tejido fibroso o cartilaginoso y no tengan libertad de movimiento. Al final de esta etapa se logra una estabilidad suficiente para prevenir un acortamiento o una flexión en el sitio de la fractura.

En este periodo se presenta un notable incremento vascular en el lugar de la fractura.

Fase de Reparación, Callo duro. El proceso de reparación continúa en esta etapa donde el callo blando se convierte de tejido cartilaginoso a hueso tejido. La restauración de las propiedades mecánicas óseas —rigidez y resistencia— parecen estar relacionadas con la cantidad de hueso tejido que conecta los fragmentos óseos fracturados y no tanto con la totalidad de la extensión del callo.

La típica fractura de hueso largo exhibe formación ósea endocondral (en los sectores interno y externo) y membranosa (en el callo perióstico). Cuando se tiene una fijación interna rígida se presenta un tercer tipo de formación ósea —sin la formación de callo— denominado hueso primario. Este tipo de formación ósea se presenta en la zona de adherencia por efecto de remodelamiento, similar en todos los aspectos al fenómeno de sustitución progresiva observado en la osteonecrosis y los injertos de hueso cortical.

Fase de Remodelamiento óseo. Durante el remodelamiento, la última etapa de la reparación ósea, el hueso tejido poco a poco se convierte en hueso lamelar y se reconstituye el canal medular. Esta es la etapa más demorada de todo el proceso de reparación de fractura y puede llegar a no completarse en años. Las deformaciones óseas permanecen si el hueso es adulto pero pueden corregirse adecuadamente con una metafisis en crecimiento propio de un hueso joven. Posteriormente el hueso se remodela respondiendo a sus cargas mecánicas de acuerdo a la ley de Wolff.

Respuesta vascular. La respuesta vascular de una fractura varía con el tiempo. Inicialmente el flujo de sangre disminuye debido a la ruptura de los vasos sanguíneos. Luego desde las primeras horas y hasta unos cuantos días después, el flujo sanguíneo aumenta hasta alcanzar su pico a las dos semanas; entonces el flujo sanguíneo retorna gradualmente a la normalidad hacia

las doce semanas. Al manipular la fractura reduciendo su espacio e inmovilizándolo, se puede alcanzarse un buen efecto en pro de la revascularización.

La fijación interna puede irrumpir los vasos sanguíneos, especialmente la microvasculatura, al instalar un fijador interno ajustado tipo vara a través del canal medular. A su vez se presentan cambios en el tejido local por causa del oxígeno; la tensión del oxígeno es muy baja en el hematoma de la fractura, baja en el cartílago y hueso recién formados y alta en el tejido fibroso. El oxígeno se mantiene en nivel bajo en el callo óseo hasta que la herida sana. A pesar del crecimiento vascular, la proliferación celular es tal que las células se encuentran en estado de hipoxia, lo que favorece la formación de hueso.

Respuesta celular y bioquímica de la reparación de fractura. Se identifican cuatro etapas bioquímicas en la reparación de la fractura: mesenquimal, condroide, condroide-osteoides y osteogénica.

En la etapa mesenquimal predominan los fibroblastos, condroblastos y macrófagos. El primer condrocito aparece adjunto al hueso cortical originado por la diferenciación de las células mesenquimales de la capa del periostio. Se detecta incremento en la síntesis del colágeno tipo I y se percibe aparición de colágeno tipo II; también se encuentran colágenos tipo III y IV en las áreas de formación de tejido fibroso y vasos sanguíneos. Hay gran cantidad de agua y lípidos.

En la etapa condroide predominan colágenos tipo II en áreas de producción de cartílago maduro y colágeno tipo IX para controlar sus volúmenes. Las concentraciones de Hexosamina, hidroxiprolina e hidroxilisina alcanzan un pico alto.

En la etapa condroide-osteoides predominan algunas redes calcificadas como esponjosas primarias junto con colágenos tipo I y II. El colágeno tipo X se encuentra junto con la proliferación de condrocitos en la matriz extracelular en calcificación.

Finalmente, en la etapa osteogénica el hueso primario se convierte en secundario bajo con proliferación de colágeno tipo I.

Durante la transformación del callo óseo y la formación de hueso endocondral abundan los proteoglicanos en la matriz extracelular. Después de la tercera semana del proceso la cantidad de estos disminuye y da inicio al

proceso de mineralización del callo.

La localización histoquímica del calcio en la fractura sugiere que las mitocondrias son importantes para la calcificación de la matriz del callo cartilaginoso de la fractura. Estos organelos intracelulares son reservorios de calcio en los condrocitos del callo, el cual se va perdiendo progresivamente. El área inicial de la calcificación en el callo de la fractura puede ser en el interior o en la superficie de las vesículas de la matriz, las fibrilas de colágeno o los proteoglicanos dispersos o agrupados.

Factores de crecimiento óseo. La regulación del volumen del hueso es mantenida a través de un continuo balance entre la formación y la resorción ósea. Se postulan para ello dos mecanismos reguladores complementarios: un control sistémico por la regulación de las hormonas de fosfato y calcio las cuales involucran factores de crecimiento que incrementan la proliferación celular y la actividad biosintética. Se cree que estos factores también juegan un rol importante en la regeneración del hueso después de la lesión ósea.

Propiedades biomecánicas del callo óseo. Estas propiedades dependen de las propiedades del material componente del callo. Previo a la aparición del callo blando la fractura tiene una estabilidad intrínseca y fuerte, pero cuando este aparece, su tamaño externo no es un buen indicador mecánico.

Gracias a diversos estudios, se ha determinado que en el proceso de osificación la cantidad de calcio por unidad de volumen se cuadruplica mientras que la hidroxiprolina (un buen indicador de la cantidad de colágeno) se duplica. La restauración de la rigidez y la resistencia óseas están relacionadas más con la cantidad de hueso nuevo que conecta los fragmentos lesionados y menos con la cantidad total de hueso nuevo en el callo.

Se identifican cuatro etapas biomecánicas en la reparación de la fractura, a saber:

Etapa 1: el hueso falla a través del sitio original de fractura con una baja rigidez, tiene patrón de apariencia gomosa.

Etapa 2: El hueso falla a través del lugar original de fractura con alta rigidez, presentando patrón de tejido duro.

Etapa 3: El hueso falla parcialmente a través del lugar original de la

fractura y parcialmente a través del hueso intacto con alta rigidez y patrón de tejido duro.

Etapa 4: El lugar de falla no está relacionado con el lugar original de fractura y ocurre con patrón de alta rigidez.

La diferenciación y mineralización entre las etapas del callo óseo tiene una profunda influencia en la dureza, comportamiento compresivo y esfuerzo de tensión, también correlacionado con el incremento progresivo en el torque promedio y la capacidad de absorción de energía. La dureza es proporcional a la cantidad de calcio mientras que la resistencia tensil de la fractura durante la formación del callo esta relacionada con la relación de área callo óseo/hueso cortical.

Durante la reparación de fractura el callo óseo siempre es susceptible a los factores mecánicos, directamente relacionados con la cantidad de movimiento interfragmentario. En cualquier forma de fijación de fractura, los fragmentos óseos experimentarán movimientos relativos entre ellos bajo condiciones de carga, determinando con ello el patrón morfológico de la reparación. Se cree que la tensión interfragmentaria resultante de estos movimientos gobierna el tipo de tejido que se forma entre los fragmentos.

A medida que sana la fractura decrece el movimiento interfragmentario. Los diferentes tejidos presentes en el proceso pueden sostener diversas cargas tensiles, el tejido granulado puede tolerar hasta el 100 % del esfuerzo, el tejido fibroso y cartilaginoso tolera mucho menos tensión mientras que el hueso compacto solo resiste el 2 %. El esfuerzo interfragmentario es inversamente proporcional al tamaño del espacio de la fractura; cuando este espacio interfragmentos es pequeño los movimientos interfragmentarios incrementan el esfuerzo hasta el punto de lograr que el tejido granulado no se forme. Para evitar esta situación, las pequeñas secciones óseas cercanas al espacio de la fractura pueden sufrir resorción, de esta forma aumentan el espacio interfragmentario y disminuyen el esfuerzo a soportar.

La naturaleza de la respuesta celular esta directamente correlacionada con el grado de estabilidad ósea en el lugar de la fractura durante la reparación. Cuando hay estabilidad mecánica y los extremos óseos están muy cercanos entre sí, se formarán cartílagos muy pequeños y eventualmente se forma una delgada capa de callo duro por proceso de remodelamiento haversiano directo. Cuando se presentan condiciones mecánicas más inestables el

callo óseo no puede unir los extremos óseo de forma prematura; inicialmente se forma exuberante callo cartilaginoso y luego, si se alcanza suficiente estabilidad, este se transforma en hueso por osificación endocondral.

Durante la calcificación del callo blando, si no hay suficiente inmovilización y el tamaño del espacio entre extremos lesionados es grande puede no haber unión de las partes debido a la permanencia de tejido fibroso o por alguna falla en el callo fibrocartilaginoso en el espacio interfragmentario para transformarse en callo osteogénico.

Factores que influyen en la reparación de fractura. Una gran variedad de factores locales, sistémicos y ambientales afectan la reparación de fractura. Los factores locales involucran un amplio sostén de lesión por el hueso o los tejidos blandos cercanos, la interrupción del suministro local de sangre, la imposición de tejido blando entre los fragmentos de la fractura, la inadecuada inmovilización o reducción de la lesión, la presencia de infección o tejido maligno en el lugar de la fractura y la muerte del hueso causada por avascularidad, radiación, tejido óseo quemado por efectos químicos o térmicos o por infección.

En los factores sistémicos se enumeran aspectos como la edad, la actividad hormonal, la actividad funcional, las funciones nerviosas y el nivel nutricional del paciente.

Los factores mecánicos también pueden influir negativamente; si la compresión a través de la fractura es muy alta, provoca necrosis celular. Los esfuerzos inadecuados entre los fragmentos interrumpen la generación de la reparación osteogénica.

La compresión cíclica, como la existente en la inmovilización con yeso puede tener efecto benéfico sobre la reparación introduciendo carga de la forma apropiada en el tiempo apropiado.

Cuando las uniones óseas no progresan al ritmo esperado se dice que el paciente tiene unión demorada o no unión, dependiendo de la edad de la fractura y otros factores como el sitio y la severidad de la fractura. En la unión demorada (de tres a nueve meses) puede ocurrir una reparación espontánea y solo algunos pacientes requieren intervención quirúrgica. En general las fracturas demoradas sanan con la aplicación precisa de factores biomecánicos. Una fractura se considera de no unión cuando se observa un

no progreso entre seis a ocho meses desde el momento de la fractura, por lo que se hace necesario intervenir quirúrgicamente.

A nivel patológico, una fractura de no unión esta unida por tejido blando. Se debe diferenciar de una pseudoartrósis sinovial en la cual un fluido ocupa el vacío existente. En la no unión, la reparación se interrumpe en la segunda etapa y el vacío usualmente contiene cartílago, tejido fibroso o los dos.

Este tejido intermedio refleja el ambiente mecánico y los factores nutricionales experimentados en la primera etapa de la reparación, aspectos que permiten conocer la medida terapéutica a tomar para producir la reparación. Las uniones atróficas fibrosas son más difíciles de tratar y requieren injerto de hueso, mientras que las no uniones hipertróficas con fibrocartílago predominante requieren estabilización.

El objeto en la no unión es estimular el reinicio del proceso de regeneración ósea. Estas no uniones se dividen en dos grupos: los que tiene buen flujo sanguíneo y son hipertróficos y los que tienen pobre suministro sanguíneo con tendencia atrófica.

En la estabilización de la no uniones hipertróficas se usa la fijación intramedular con respuestas satisfactorias entre el 92 % y el 95 % de los casos de huesos largos como fémur y tibia. El injerto de hueso es necesario en los casos hipertróficos solo cuando se generan vacíos después de la corrección de una deformidad.

1.3. Proceso fisiológico de la reparación de fractura

Para realizar un modelo preliminar que simule la reparación de fractura, es preciso conocer con detalle su fisiología; el resultado final en la curación de fractura es una regeneración de la anatomía del hueso y el completo retorno de su función. En general este proceso se completa entre 6 y 8 semanas después de la lesión inicial [28].

La reparación de fractura presenta tres fases superpuestas entre sí las cuales forman un proceso continuo de curación, cada una de las cuales se caracteriza por la presencia de diferentes características celulares y componentes de la matriz extracelular. En orden cronológico, los eventos muestran una fase inflamatoria; luego una fase reparativa que incluye osificación intramembranosa, condrogénesis y osificación endocondral; y finalmente una fase de remodelamiento.

Fase inflamatoria. Una lesión que fractura el hueso arruina células, vasos sanguíneos, matriz ósea y los tejidos blandos adyacentes incluyendo músculos y nervios.

Inmediatamente después de la fractura se provoca una respuesta inflamatoria cuyo pico se encuentra a las 48 horas y desaparece casi completamente 1 semana después de la lesión [28] mientras que el proceso de coagulación inicia 8 horas después de la lesión [21].

Esta inflamación ayuda a inmovilizar la fractura gracias a que el dolor incita a proteger la lesión y la hinchazón disminuye hidrostáticamente el movimiento de la fractura. En la región de la fractura el daño vascular permite la presencia de plaquetas, las cuales liberan factores de crecimiento y activan otras señales químicas. Adicionalmente estas plaquetas forman hemóstasis¹ y angiogénesis². El temprano entorno de la fractura se caracteriza por ser un ambiente ácido e hipóxico, ideal para la actividad de los macrófagos y leucocitos.

La hemóstasis implica la formación de fibrina a través de la interacción de

¹Estancamiento de la sangre o contención de una hemorragia de forma espontánea o por medios terapéuticos.

²Formación de vasos sanguíneos.

mas de una docena de proteínas en una cascada de reacciones proteolíticas, cada una involucrando la activación de una nueva y generando proteasas activas hasta alcanzar la coagulación por fibrina. Existen dos vías de coagulación que finalmente convergen: la intrínseca y la extrínseca [40]. La vía extrínseca monitorea la formación de protombina, liberada por la acción de la tromboplastina dentro de la sangre durante el daño celular. La vía intrínseca se activa por la formación de factor XII (Factor Hagerman) sobre el colágeno libre en las superficies abiertas del tejido lesionado. Esta vía está caracterizada por los mecanismos relacionados con la acción de las plaquetas, las cuales al entrar en contacto con el colágeno libre acelera la activación de los factores XI (Tromboplastina) y XII. Tanto la vía extrínseca como la intrínseca convergen en la formación de factor X (Factor Stuart–Prower). La protombina (factor II) se convierte en trombina por la acción del factor X en presencia de factor V (Procalicreína), iones Ca^{2+} y fosfolípidos. Esta trombina cataliza la conversión del fibrinógeno (factor I) a fibrina. En resumen, la coagulación de la sangre se resume en tres pasos: 1) Se activa la protrombina por medio de las vías intrínseca y extrínseca; 2) Conversión de protrombina en trombina; y 3) Conversión de fibrinógeno en fibrina por la catalización de los complejos de trombina, durante la cual la fibrina inicial se enreda para formar un coágulo ajustado en presencia de factor XIII (Pretransglutaminidasa o factor Laili–Lorand). La fibronina de la sangre se polimeriza en sustancia insoluble para convertirse en fibrina y retener en su red proteínas, sales, agua y células sanguíneas. La sangre circundante se coagula y el hematoma se acumula dentro del canal medular entre los extremos de la fractura y bajo el periostio elevado y el músculo. Su formación sirve como tapón hemostático que cierra hemorragias y cuya red de fibrinas se presenta libre circulación celular a la vez que suministra moléculas que activan los procesos curativos de estas. Finalmente se forma un granuloma³ reparador comúnmente conocido como callo externo.

Fase reparativa. Ocurre en los primeros días, antes de terminar la fase inflamatoria, y dura varias semanas. Su resultado es desarrollar un tejido calloso reparador dentro y alrededor del lugar de la fractura, el cual será eventualmente reemplazado por hueso. El callo mejora la estabilidad mecánica del lugar lesionado soportando lateralmente las cargas.

Los osteocitos localizados en los extremos libres del hueso fracturado dejan de recibir alimento y se mueren, a su vez que dichos extremos sufren

³Masa de tejido de granulación que surge como reacción a una patología previa.

osteonecrosis. Las lacunas donde se encontraban estos osteocitos aparecen vacías.

Aparecen algunas células, provenientes del tejido lesionado y otras del tejido adyacente y los vasos sanguíneos próximos, las cuales se diferencian en fibroblastos, condroblastos y osteoblastos. Durante esta etapa inicial el callo puede formarse de tejido conectivo fibroso, vasos sanguíneos, cartílago, hueso tejido y osteoide; sin embargo, la composición y rata de crecimiento del callo pueden variar dependiendo de la ubicación de la lesión en el hueso.

A medida que avanza la reparación el pH cambia gradualmente de ácido a neutro y luego pasa a ser ligeramente alcalino, condición favorable para la fosfatasa en su acción de la mineralización del callo, fenómeno observado principalmente en las capas del periostio.

La fase reparativa centra su función en la osificación intramembranosa, la condrogénesis y la osificación endocondral. La osificación intramembranosa comienza dentro de los primeros días después de la fractura, pero su actividad proliferativa se detiene antes de la segunda semana [28].

La evidencia histológica muestra inicialmente actividad osteoblástica sobre el hueso tejido opuesto a la corteza interna, a unos cuantos milímetros del lugar de la fractura. La formación de hueso en esta área ocurre por la actividad de los osteoblastos diferenciados sin la formación de cartílago como paso intermedio. La región de este tipo de formación ocurre en el callo externo, a menudo referido como callo duro.

Mientras la osificación intramembranosa toma lugar, ocurre la condrogénesis en la periferia del callo donde hay baja tensión de oxígeno. Allí se observan células mesenquimales no diferenciadas que vienen desde el periostio y el tejido blando adyacente en la granulación del tejido sobre el lugar de la fractura. Estas células crecen, empiezan a tomar apariencia de cartílago y comienzan a sintetizar una gran matriz basofílica avascular como la observada en la zona proliferativa de la placa epifisiaria en el crecimiento. Esta región de tejido fibroso y nuevo cartílago es referida como callo blando y eventualmente el cartílago reemplazará a todo el tejido fibroso.

Hacia la mitad de la segunda semana de la curación de fractura hay abundante cartílago sobre el lugar de la fractura y comienza la calcificación por medio endocondral, tal como se observa en la placa epifisiaria de cre-

imiento. Los condrocitos hipertróficos secretan proteoglicanos neutrales que degradan a los glicosaminoglicanos, efecto importante para permitir la mineralización; este proceso toma tres semanas [21].

Estas células, junto con los osteoblastos, liberan vesículas con contenido de fosfatos de calcio dentro de la matriz y toma lugar el proceso de mineralización. El callo se calcifica haciéndose más rígido y el sitio de la fractura se considera internamente inmovilizado.

Los vasos capilares del hueso adyacente invaden el cartílago calcificado, cuya apariencia esponjosa esta constituida por cartílago y hueso tejido, incrementando la tensión de oxígeno y seguido de la invasión de osteoblastos. Eventualmente el callo se compone solo por hueso tejido que conecta los dos extremos de la fractura y se dá comienzo al proceso de remodelamiento. El proceso toma entre tres y cuatro meses [21].

Fase de remodelamiento. Esta fase final comienza con el reemplazo del hueso tejido por hueso lamelar y la resorción del exceso de callo. Aunque esta fase representa la actividad normal del remodelamiento óseo, este puede ser acelerado en el lugar de la fractura durante varios años.

El remodelamiento de reparación de fractura después de que todo el hueso tejido es reemplazado consiste en la resorción osteoclástica de las trabéculas mal localizadas y la formación de hueso a lo largo de las líneas de esfuerzo mecánico. El resultado de esta fase es una modificación gradual de la región de fractura bajo la influencia de cargas mecánicas hasta alcanzar una estabilidad óptima, donde la corteza ósea es típicamente similar a la arquitectura que tenia el hueso antes de ocurrir la fractura. El proceso toma lugar desde la tercera semana de ocurrida la fractura y puede tardar algunos años [21] pero a menudo se cierra el ciclo entre la sexta y octava semana [28].

Para claridad y a manera de resumen se presentan a continuación cuadros comparativos de las fases de reparación para los dos casos de curación de fractura, tablas 1.1. y 1.2.

1.3.1. Sumario

Cada método de fijación de fractura, interna o externa, tiene ventajas y desventajas. No hay un método universal o general para atender todos los

Tabla 1.1. Curación Secundaria de Fractura Ósea.

| CURACION SECUNDARIA DE FRACTURA OSEA | | | | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Caracterizada por la curación espontánea de fractura en la ausencia de fijación rígida en el sitio de la fractura. Método más común de curación ósea. | | | | |
| FASE | DURACIÓN | TEJIDOS PRESENTES | CÉLULAS PRESENTES | FISIOLOGÍA |
| FASE INFLAMATORIA | Coágulo empieza a las 8h. Inflamación tiene pico a 48h. Desaparece en 1 semana. | Sangre | Plaquetas | Hemorragia y hematoma. Respuesta inflamatoria. La reacción inflamatoria inmoviliza la fractura en dos formas: el dolor incita a no mover y proteger y la hinchazón disminuye hidrostáticamente el movimiento de los fragmentos. |
| | | Sangre Coagulada | Plaquetas, Macrófagos y Leucocitos | Daño vascular endotelial activa una cascada complementaria: Plaquetas liberan gránulos alfa -factor de crecimiento- y señales químicas. Coagulan y provocan hemostasis y angiogénesis. Ambiente ácido e hipóxico, adecuado para la actividad de Macrófagos y Leucocitos. |
| | | Hematoma que genera callo externo | Migración celular | Sangre circundante se coagula. El hematoma se acumula dentro del canal medular entre los extremos fracturados y bajo el periostio elevado y el músculo circundante. Su formación sirve como tapón hemostático que limita hemorragias, además de favorecer una red de fibrinas que provee caminos para la migración y activación celular. Todo este proceso genera un granuloma reparador conocido como callo externo. |
| FASE REPARATIVA | Inicio en los primeros días antes de terminar la fase inflamatoria, dura varias semanas | Callo formado por Tejido conectivo fibroso, vasos sanguíneos, cartílago, hueso tejido y osteoide. La composición y la rata de crecimiento de este tejido reparador varia dependiendo de la ubicación de la fractura en el hueso. | Osteocitos en los extremos de la fractura sufren necrosis. Células endoteliales, Fibroblastos, Condrioblastos, Condriocitos, Osteoblastos y Macrófagos se originan del tejido lesionado o por vasos sanguíneos y tejidos adyacentes. | Se presenta Osificación intramembranosa, condrogénesis y osificación endocondral. Se desarrolla tejido calloso reparativo dentro y alrededor del lugar de la fractura, eventualmente reemplazado por hueso. El callo mejora la estabilidad mecánica del lugar de fractura soportando lateralmente las cargas. A medida que avanza la curación el pH se convierte gradualmente a neutral y luego a alcalino, favorable para la fosfatasa y su rol de mineralización observado en el hueso formado en la capa del periostio. |
| | Comienza en los primeros días de fractura. La actividad proliferativa se detiene antes de completar la segunda semana. | Hueso tejido por osificación intramembranosa. | Osteoblastos | Actividad osteoblástica sobre el hueso tejido opuesto a la corteza interna a unos cuantos milímetros del lugar de la fractura. La formación de hueso en esta área ocurre por diferenciación de Osteoblastos sin la formación de cartílago como paso intermedio. este tipo de formación ósea ocurre en el callo externo referido como callo duro. |

| FASE | DURACIÓN | TEJIDOS PRESENTES | CÉLULAS PRESENTES | FISIOLOGÍA |
|------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| FASE REPARATIVA | Simultáneamente con la osificación intramembranosa | Tejido fibroso y nuevo cartilago (callo blando). Eventualmente el cartilago reemplaza todo el tejido fibroso. | Células mesenquimales y otras no diferenciadas, Condrocitos. | Mientras ocurre la osificación intramembranosa, ocurre condrogénesis en la periferia del callo, donde hay baja tensión de oxígeno. Se observan células mesenquimales y no diferenciadas en la granulación del tejido sobre el lugar de fractura. Estas células crecen y toman apariencia de cartilago y comienzan a sintetizar una gran matriz basofílica avascular tal como la presente en la zona proliferativa de los platillos de crecimiento. |
| | Inicia en la mitad de la segunda semana, toma tres semanas | Abundante cartilago sobre el lugar de fractura y comienza calcificación endocondral | Condrocitos hipertrofos | Hacia la mitad de la segunda semana durante la curación de fractura, hay abundante cartilago sobre el lugar de la fractura y comienza la calcificación por osificación endocondral tal como se observa en los platillos de crecimiento. Los Condrocitos secretan proteoglicanasas que degradan glucosaminoglicanos, los cuales inhiben la mineralización. |
| | A partir del anterior, puede tomar tres o cuatro meses. | Cartilago y hueso tejido conforman el callo óseo | Condroblastos, Condrocitos, Fibroblastos, Macrófagos, Osteoblastos, Osteoclastos y Células endoteliales. | Los Condrocitos y luego los Osteoblastos liberan vesículas con complejos de fosfato de calcio dentro de la matriz. Gana lugar el proceso de mineralización y el callo se calcifica haciéndose mas rígido considerando "inmovilizado".el lugar de fractura. Los vasos capilares del hueso adyacente invaden el cartilago calcificado, incrementando el oxígeno seguido de la invasión de Osteoblastos en la matriz esponjosa compuesta por cartilago y hueso tejido. Eventualmente el callo se compone solo por hueso tejido que conecta los dos extremos de la fractura y da comienzo el proceso de remodelamiento. |
| FASE DE REMODELAMIENTO | Desde la tercera semana y hasta algunos años. A menudo se cierra el ciclo entre la 6 y la 8 semana. | Hueso tejido y Hueso lamelar. | BMU | Fase final. Comienza con el reemplazo del hueso tejido por hueso lamelar y la resorción del exceso de callo. Aunque se presenta la actividad normal de remodelamiento del hueso, este puede ser acelerado en el lugar de la fractura por varios años. El remodelamiento de reparación de fractura después de que todo el hueso tejido es reemplazado consiste en la resorción osteoclástica de las trabéculas mal localizadas y la formación de hueso a lo largo de las líneas de esfuerzo. El resultado de esta fase es una modificación gradual de la región de fractura bajo la influencia de cargas mecánicas hasta alcanzar una estabilidad optima, donde la corteza ósea es típicamente similar a la arquitectura que tenia antes de ocurrir la fractura. |

Tabla 1.2. Curación Primaria de Fractura Ósea.

| CURACIÓN PRIMARIA DE FRACTURA OSEA | | | | | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|-------------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>La curación primaria ósea requiere estabilización rígida con o sin compresión sobre los extremos óseos fracturados. A diferencia de la curación secundaria, esta estabilización rígida suprime la formación de un callo en el hueso cortical o trabecular. Debido a que la mayoría de fracturas no son tratadas o se tratan en forma que resulta con algún grado de movimiento (tal como la inmovilización en yeso o con cabestrillo y la fijación externa o intramedular) es poco común encontrar curación primaria. Aunque se considera que este tipo de curación repara la fractura de muchas formas, no muestra ser ventajosa respecto a la curación secundaria. Las fases intermedias son débiles y no ocurren en ambientes anaeróbicos.</p> | | | | | |
| TIPO | ETAPA | DURACIÓN | TEJIDOS PRESENTES | CÉLULAS PRESENTES | FISIOLOGÍA |
| CURACIÓN CON ESPACIO | Relleno óseo | Varias semanas | Hueso lamelar y/o fibrado | Osteoblastos | El espacio interfragmentario se llena por formación directa de hueso. Un andamio de hueso se deposita seguido por la formación de hueso lamelar y/o fibrado paralelo como soporte. La orientación del hueso nuevo formado en esta etapa es transversal a la orientación original del hueso lamelar. No hay tejido conectivo o cartilago antecedendo a la formación de hueso. |
| | Remodelamiento óseo | Posterior a la etapa anterior | Hueso lamelar | BMU | El remodelamiento longitudinal haversiano reconstruye los extremos necróticos de la fractura y el hueso recién formado de forma tal que el lugar de la fractura se ocupa con osteones en orientación original. El resultado final de la curación con espacio normal es la reaparición de la estructura ósea tal y como se encontraba antes de la fractura. |
| CURACIÓN EN CONTACTO | Única | Varias semanas | Hueso lamelar | BMU | Este método ocurre donde los fragmentos están en aposición directa. Los osteones están habilitados para crecer a través del lugar de la fractura, paralelos al eje longitudinal del hueso sin ser precedido por el proceso de formación transversal de hueso entre los extremos fracturados. Bajo estas condiciones, los Osteoclastos de un extremo de la fractura se someten a una reacción de resorción formando conos que cruzan la línea de fractura. Esta cavidad resorciva en desarrollo permite la penetración de lazos capilares y eventualmente el establecimiento de nuevos sistemas haversianos. Estos vasos sanguíneos son luego acompañados por células endoteliales y osteoprogenitoras que generan en Osteoblastos llevando a la producción de osteones a través de la línea de fractura. El resultado de la curación en contacto eventualmente también lleva a la regeneración de la arquitectura normal ósea. |

tipos de fractura y cada una de estas debe tratarse de acuerdo al tipo de fractura y el lugar anatómico de la lesión. El tipo de fijación y su respectivo tratamiento depende de cada fractura en particular y de las condiciones del paciente. Con el conocimiento de la función biomecánica y la respuesta biológica esperada se optimiza la efectividad de la reparación de fractura.

La unión de fractura ósea puede seguir una de muchas rutas hacia la etapa final. Varios factores clínicos como la expectativa del paciente, la adaptación frente al tratamiento, el grado de tolerancia, la experticia del especialista y otras consideraciones socioeconómicas influyen en la selección del método de fijación.

La fijación por platinas compresivas tiene ciertas desventajas como la cobertura de fuerzas, la osteopenia del hueso y la refractura en el momento de retirar las platinas; sin embargo, sus ventajas son mayores a estos inconvenientes. El rediseño geométrico de las platinas o el cambio de material parecer ser inefectivo. La fijación intramedular intenta promover la compresión axial de los extremos del hueso sobre sus partes lesionadas. Muchos de los beneficios de la fijación externa, como la dinamización y la resistencia de la fijación requieren el mejoramiento de las técnicas quirúrgicas y el entendimiento de la fisiología postoperativa.

El equilibrio entre las propiedades biomecánicas y el comportamiento biológico de los diversos métodos de reparación de fractura es importante para conocer el mejor tratamiento a seguir y su comportamiento esperado. Así mismo, el reconocimiento de los elementos celulares influye en la satisfactoria reparación.

1.3.2. Revisión y estado del arte

En los últimos años se ha desarrollado una amplia variedad de algoritmos computacionales para explicar y predecir los mecanismos de adaptación funcional de la estructura ósea. El objetivo fundamental de estos algoritmos es disminuir la dependencia de estudios clínicos y experimentación en animales que son económica y socialmente costosos, además de obtener una mayor variedad de estudios con resultados precisos y acertados con la realidad biológica.

En cuanto al estudio del sistema vivo, el hueso tiene la capacidad de

autocurarse en un proceso de reparación de fractura, generando para ello tejidos intermedios (cartílago, tejido conectivo fibroso y hueso nuevo o tejido) antes de obtener la formación final ósea. Este proceso de reparación de fractura está afectado por la demanda mecánica en el lugar de la fractura y por la configuración geométrica de esta.

En el análisis de la osteogénesis para la reparación de fractura se han realizado innumerables investigaciones en las cuales, por un lado se ha hecho seguimiento al proceso de unión ósea sin intervención externa analizando solamente la actividad celular osteoprogenitora mientras que en otros estudios se han implementado intervenciones externas como la estimulación por ultrasonido, por injertos, por inserción de proteínas y metabolizantes para la formación y crecimiento óseos y finalmente por estímulo mecánico externo. Beaupré [7], Blenman [8] y Carter [12] consideran el análisis por elementos finitos de un callo óseo en proceso de curación a lo largo de las diversas etapas de la reparación, donde se sugiere intervención hidrostática en la diferenciación y la revascularización. Prendergast [32] estudia la influencia de la velocidad de los fluidos circundantes sobre la diferenciación y generación de los tejidos. Posteriormente Carter [13] realiza un modelo más detallado con seis formas diferentes de regeneración de tejido.

Algunas investigaciones han implementado procedimientos quirúrgicos y proteínicos que buscan acelerar el proceso de formación ósea y la posterior unión de los segmentos fracturados, logrando reducir el tiempo de reparación ósea entre 20 % y 50 % [15].

Estas investigaciones están encaminadas a mejorar los procedimientos tradicionales de atención a fracturas, pues las técnicas actuales se basan en las respuestas óseas obtenidas de acuerdo a la presencia o ausencia de algún componente del procedimiento rutinario y cuyos resultados son aún eventos de ensayo y error.

De investigaciones previas y similares a este ejercicio, se sabe que las cargas mecánicas tienen una influencia directa sobre la diferenciación de las células osteoprogenitoras generando, en consecuencia, los diversos tejidos existentes en el proceso de la reparación.

A pesar de contar con diversas técnicas para realizar el seguimiento clínico de la osteogénesis en la reparación de fractura, por ejemplo los rayos X, los procedimientos tradicionales para unir huesos aún son tema de dis-

cusión y su aplicación es sometida a intenso estudio para establecer procedimientos que garanticen una completa y adecuada curación. De acuerdo a informes clínicos recientes, el 90% de los casos de fractura alcanza una reparación ósea satisfactoria mientras que un 10% no consolida una unión de los segmentos óseos involucrados por causas que bien pueden analizarse. Sin embargo, es frecuente la necesidad de realizar intervenciones posteriores para corregir defectos generados en el proceso.

Adicionalmente, diversas técnicas se han implementado para provocar osteogénesis en la reparación de fractura buscando como fin principal conocer y controlar la(s) carga(s) necesaria(s) para estimular el crecimiento del callo óseo en sentido tal que responda a esta demanda mecánica. Estas técnicas no han sido analizadas más allá de la aplicación del procedimiento y la observación de la evolución en el paciente. Por este motivo existe alta incertidumbre en los resultados de la reparación ósea en la fractura, pues las técnicas usadas se basan en la unión y estímulo de los segmentos óseos afectados sin conocer como y en cuanto tiempo se obtiene una buena unión ósea.

Algunos modelos implementados han utilizado herramientas tales como la lógica difusa para la toma de decisiones en medio de una red neuronal [14]. En este trabajo se establecen una serie de reglas que resumen la actividad tisular en función de los estímulos mecánicos y un factor osteogénico. Otro modelo implementado presenta una solución que utiliza análisis de ADN para estudiar a nivel molecular los procesos bioquímicos que produce la reparación [26]. También se han desarrollado esquemas que, mediante la intervención de enzimas y proteínas, investigan la posible reducción del tiempo de curación, en otras palabras, acelerar el proceso de reparación [35].

La pregunta de investigación que surge es: ¿Es posible predecir la arquitectura, la geometría final y tiempo de curación de la reparación de fractura ósea?

De acuerdo a lo expresado por Isaksson [27], predecir estas características no es tarea fácil y depende más bien de los criterios que tenga cada modelo para su configuración. Las simulaciones de reparación de fractura tienen en cuenta por lo general la distribución y evolución de los tejidos presentes en el proceso; sin embargo, dejan de lado aspectos como la angiogénesis o la bioquímica. De esta forma, cada modelo presente en la investigación de la reparación de fractura tiene sus ventajas y desventajas que pueden llegar a ser útiles y potenciales para el estudio a fondo de los fenómenos involucrados

en dicha reparación ósea.

El propósito de este trabajo es simular el proceso de osteogénesis en la reparación de fractura, de tal manera que permita conocer la evolución del crecimiento óseo y predecir aspectos de la reparación tales como la geometría externa, la arquitectura interna y el tiempo de curación de acuerdo al estímulo mecánico aplicado en el proceso.

1.3.3. Objetivo principal de la investigación

Simular el proceso de osteogénesis en la reparación de fractura de acuerdo a parámetros de estímulo mecánico.

1.3.4. Objetivos específicos

Diseñar un algoritmo que permita modelar y simular el proceso de reparación ósea después de la fractura en dos dimensiones incorporando parámetros de amplitud y frecuencia de carga mecánica.

Predecir la arquitectura ósea final y el tiempo de curación.

Capítulo 2

AUTÓMATAS CELULARES HÍBRIDOS

2.1. Definición

Los Autómatas Celulares (AC) son pequeñas máquinas establecidas en un dominio discreto finito denominado malla, en la cual cada automata posee un estado de un grupo de estados elementales y que a través de la interacción entre sí y sus vecinos y el cumplimiento de unas reglas individuales de evolución, tiene la capacidad de tomar decisiones y mantener o cambiar su estado en el instante posterior al de la iteración presente.

En conjunto, los autómatas conforman un sistema dinámico con la capacidad de representar sistemas complejos basándose para ello en el establecimiento de unas reglas simples de evolución local. Esto significa que para su evolución, los autómatas solo conocen únicamente su propio estado y el de sus vecinos inmediatos. Cada estado del autómata estará definido por una regla de evolución local.

La evolución de un autómata celular, que representa el papel de una célula y/o tejido en un lugar determinado de su dominio sobre el contexto de la reparación de fractura y más específicamente en el proceso de osificación, se determina por las condiciones mecánicas y biológicas propias de sí mismo y de su entorno.

El dominio o malla del autómata celular está compuesto por un conjunto de posiciones con formas geométricas definidas. Los distintos tipos de redes

pueden ser de posiciones cuadradas, triangulares o poligonales.

Dentro de la malla, los autómatas en su posición local utilizan un tipo de vecindad de un grupo de vecindades para relacionarse con su entorno y conocer el estado de sus vecinos inmediatos. Los tipos de vecindades varían de acuerdo al número de autómatas vecinos que tenga en cuenta el autómata central (Figura 2.1, superior). Las vecindades comunes son:

Vecindad vacía: 0 vecinos. No tiene en cuenta a ningún vecino y solo revisa su propio estado.

Vecindad Von Neumann: 4 vecinos. Tiene en cuenta solamente a cuatro vecinos ubicados en dirección ortogonal al autómata central.

Vecindad Moore: 8 vecinos. En una malla cuadrada, la vecindad Moore tiene en cuenta a los vecinos que se encuentran en posiciones ortogonales y diagonales inmediatas al autómata central.

Vecindad Von Neumann expandida: 12 vecinos. Incluye los ocho vecinos inmediatos del autómata junto con los cuatro vecinos ortogonales de segundo nivel.

Vecindad Moore expandida: 24 vecinos. Esta vecindad incluye a todos los vecinos del autómata tanto del primer como del segundo nivel de cercanía.

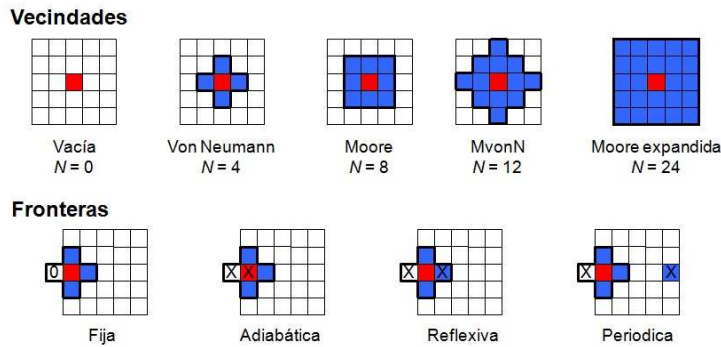


Figura 2.1. Vecindades y fronteras de los Autómatas Celulares [2]

En cuanto a las fronteras del dominio se refiere, se presentan cuatro dis-

tintas configuraciones (Figura 2.1, inferior), a saber:

Frontera Fija: esta configuración determina que existen un valor nulo al exterior de la red regular.

Frontera Adiabática: la frontera adiabática asigna a la posición exterior inmediata del autómata el mismo estado que este posea.

Frontera Reflexiva: esta configuración asigna al vecino exterior inmediato del autómata el mismo estado que posee el vecino inmediato de la dirección opuesta que sí está dentro de la red.

Frontera Periódica: al vecino exterior inmediato del autómata le es asignado el estado del autómata ubicado sobre su misma fila y en el extremo opuesto de la red. Este tipo de frontera es la representación de una conexión tridimensional en el plano.

2.2. Historia y Antecedentes

El paradigma de los autómatas celulares (CA) fue desarrollado por primera vez en la década de 1940 por Stanislaw Ulam para describir gráficamente el crecimiento de cristales, replicando formas periódicas a través de una red regular uniforme. Durante los mismos años, el profesor John Von Neumann utilizó la misma herramienta para estudiar sistemas capaces de autoreproducirse.

En la década de 1970, John Conway crea el juego de la vida. Este modelo creado utiliza la capacidad dinámica de los CA's para desplazarse y autoreplicarse a través de la implementación de unas reglas simples de evolución, (Figura 2.2).

El año de 1983, Stephen Wolfram [37] publica el libro denominado *A new kind of science* donde presenta el desarrollo de diversas reglas que, con la aplicación de unas reglas simples de evolución, generan una serie de formas regulares e irregulares que se autoreplican (Figura 2.3).

En el año de 1993, Ermentrout et al [22] utiliza por primera vez los CA's en la generación de redes biológicas tales como el sistema neuronal y el sis-

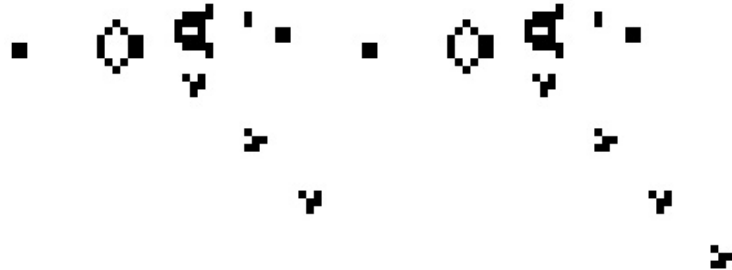


Figura 2.2. Juego de la vida [2]

tema circulatorio, tomando el modelo como un proceso continuo. (Figura 2.4).

A partir de esta posibilidad de aplicación de los CA's, este paradigma empezó a aplicarse para la simulación de sistemas continuos y discretos en diversas disciplinas. En 2004, Deutch et al. [1] desarrolló los primeros modelos de crecimiento de tumores. (Figura 2.5).

La implementación de los Autómatas Celulares al modelo de osteogénesis y reparación de fractura desarrollado en esta investigación se presenta en el cuerpo de los artículos centrales del presente documento.

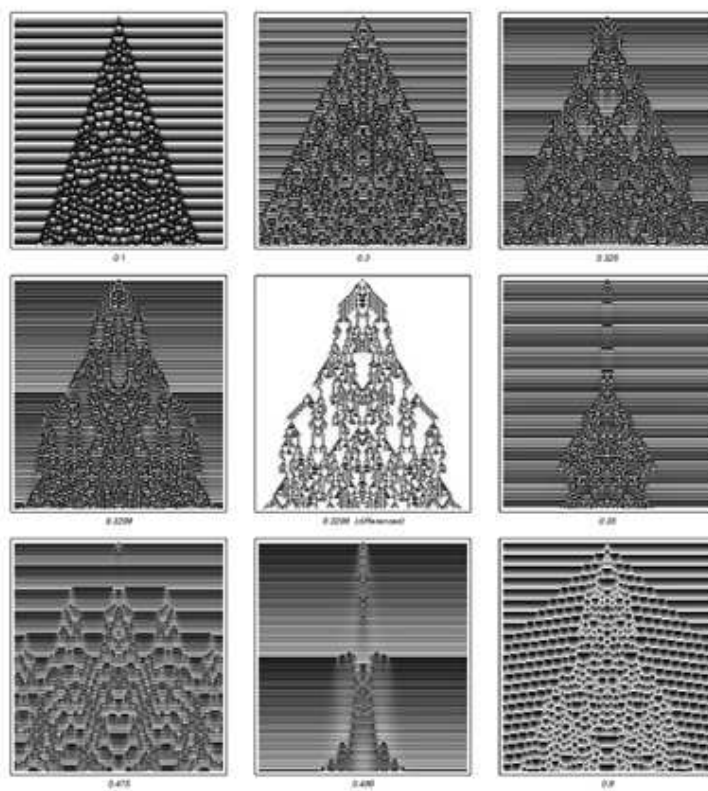


Figura 2.3. Fractales de Wolfram [37]

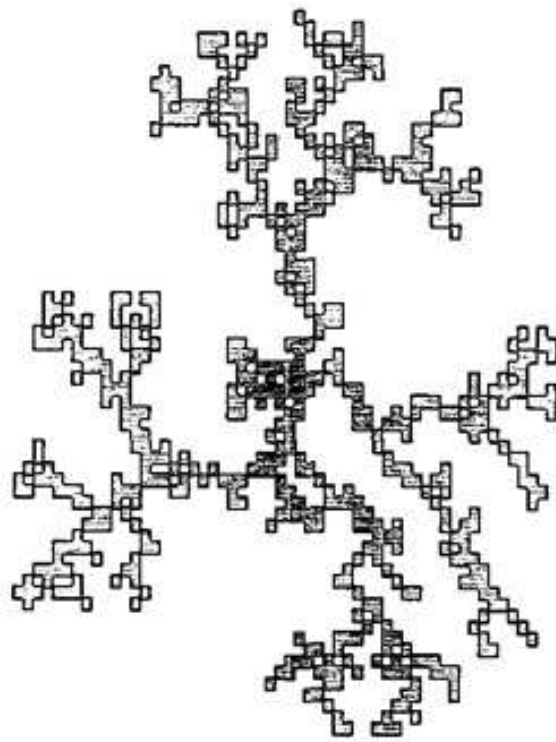


Figura 2.4. Red biológica continua [22]

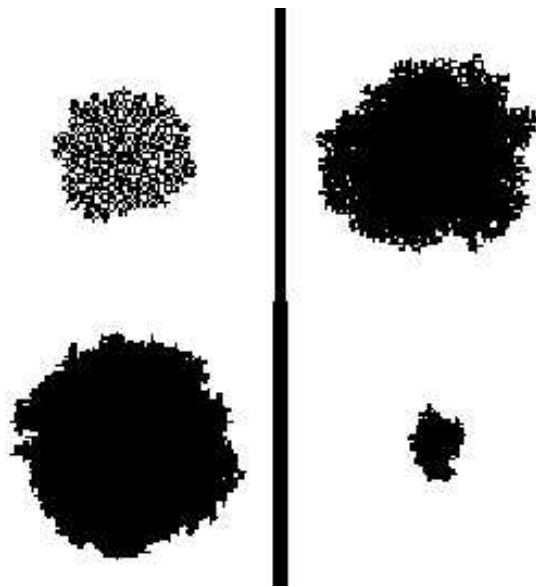


Figura 2.5. Crecimiento de tumores con Autómatas Celulares [1]

Capítulo 3

MODELO COMPUTACIONAL: CONFIGURACIÓN INICIAL

3.1. Parámetros mecánicos y biológicos en la reparación de fractura

La diferenciación de un autómatas celular, que representa el papel de una célula y/o tejido en un lugar determinado de su dominio sobre el contexto de la reparación de fractura y más específicamente en el proceso de osificación, se determina por las condiciones mecánicas y biológicas propias de sí mismo y de su entorno.

Las células a tenerse en cuenta para el proceso de la reparación de fractura son:

Plaquetas: forman la hemóstasis en el lugar de fractura, además de liberar agentes que activan los procesos de las otras células.

Células mesenquimales y no diferenciadas: asisten al llamado de las plaquetas y se diferencian en las diversas células que son necesarias para el proceso de curación. Se les conoce también como monocitos y los pericitos. Generan diversos procesos y grupos celulares.

Macrófagos Y Leucocitos: son las células encargadas de eliminar los residuos

necróticos tanto celulares como titulares, a excepción hecha de las células de resorción.

Fibroblastos: forman el tejido conectivo fibroso.

Condrioblastos: células que conforman la matriz cartilaginosa al convertirse en condrocitos hipertróficos.

Osteoblastos: forman nuevas capas de tejido óseo sobre la matriz extracelular compuesta por membranas, tejido conectivo y/o cartílago.

Condrocitos y Osteocitos: células encargadas de sensar el ambiente mecánico que transducen en señales de activación para las demás células óseas.

Osteoclastos: células encargadas de la resorción ósea.

Clínicamente se ha encontrado que el tipo de osificación está determinado por la vascularización que presente el tejido conectivo presente, lo que estimula una alta o baja osteogenia; en presencia de una rica vascularización se presenta la osificación intramembranosa mientras que en el caso de una pobre vascularización se impone la condrogénesis con posterior osificación endocondral.

En cuanto al ambiente mecánico que se encuentra en el callo de reparación de la fractura, este se clasifica en cuatro grupos de acuerdo a la intensidad de las cargas presentes: cargas mecánicas bajas, carga mecánica fisiológica, carga mecánica alta y carga mecánica patológica.

La carga mecánica baja es muestra de una demanda mecánica despreciable o ausente, lo que determina la eliminación de material óseo por el proceso de remodelamiento. Una carga mecánica fisiológica es la carga que provoca el remodelamiento en los huesos debida a actividades normales cotidianas; una carga mecánica alta es señal de actividad física fuerte mientras que una carga patológica esta dada por cargas extremadamente altas que pueden terminar en daños óseos.

De acuerdo al conocimiento médico adquirido en los casos de reparación de fractura, y a los factores mecánicos y biológicos que favorecen una u otra situación, se pueden establecer algunas reglas de funcionamiento de los autómatas para el sistema biológico óseo en reparación de fractura:

- Una vez ha sucedido la fractura, se presenta una **hemorragia** con forma definida de acuerdo al tipo de fractura. La sangre ocupa el espacio vacío interfragmentario e inicia su proceso de **hemóstasis**. Se

configuran los elementos con colágeno libre para retener las plaquetas e iniciar la coagulación.

- El **hematoma** ocupa la parte interior de la hemóstasis mientras esta se forma y evoluciona en tejido conectivo.
- Para obtener **osificación intramembranosa** es necesario encontrar *tejido conectivo, una demanda mecánica fisiológica o alta y un estímulo osteogénico alto*.
- Para efectos de **condrogénesis** se requiere un *tejido conectivo* previo, una *demanda mecánica alta y bajo estímulo osteogénico*.
- Para llegar a una **osificación endocondral** es preciso tener *cartílago*, una *demanda mecánica fisiológica o alta* y una *osteogenia alta*.
- La **proliferación de hueso** finaliza cuando tenemos *hueso sin estímulo osteogénico*.
- La **proliferación de cartílago** se detiene cuando este presenta una *demanda mecánica baja o nula*.
- La **atrofia de cartílago** o **resorción de hueso** sucede por *cargas mecánicas bajas o nulas*.
- Finalmente, la *carga mecánica patológica destruye* el tejido.

Estas reglas determinan la evolución de cada autómatas en el espacio de dominio correspondiente en el modelo al hueso fracturado, sus contornos y el espacio interfragmentario.

3.2. Aplicaciones del análisis de reparación de fractura

El estudio del proceso de reparación de fractura busca evaluar los procedimientos actualmente aplicados para atender la reparación de fractura. Para ello es importante conocer la reacción del sistema biológico óseo frente a los factores mecánicos y biológicos presentes en los diversos casos de fractura.

Dentro de los aspectos a tener en cuenta se encuentran la geometría y arquitectura del proceso además de poder estimar el tiempo de curación.

3.2.1. Predicción de la geometría y la arquitectura en la reparación de fractura

Recientes investigaciones han determinado que el tamaño del callo óseo tiene una relación directa con el grado de movimiento de la zona lesionada. Por ejemplo, un miembro que soporte considerables cargas mecánicas involucradas con la estabilidad del sistema, presentará un mayor tamaño de callo al ser demandado dinámicamente. De igual forma se asocia el crecimiento del tamaño del callo óseo en su diámetro y no en su longitud. La investigación propuesta en [20] afirma que la demanda mecánica es la responsable directa de la geometría y tamaño del callo óseo formado.

Las deformaciones mecánicas cíclicas que se encuentran en el movimiento interfragmentario estimulan la proliferación de fibroblastos y osteoblastos así como la aparición de condrocitos hipertróficos. Esto se refleja en la geometría, tamaño y tejidos presentes en el callo.

Estas características tienen también una relación directa con la proliferación de células presentes. De acuerdo a la población y a los factores de crecimiento que liberan estas se puede predecir la formación y diferenciación de los diversos tejidos. se ha analizado el efecto que tiene la población de células sobre el tamaño y forma del callo y se ha concluido que es la saturación de células la que provoca la apertura de nuevo espacio para su proliferación y diferenciación. La magnitud de las cargas estimula la proliferación y la vascularización determina el tipo de célula que aparece en este proceso.

3.2.2. Predicción del tiempo de curación

El tiempo de curación es un aspecto complejo de predecir, pues de acuerdo al conocimiento y experticia médica, cada fractura tiene un comportamiento propio que lleva a diversas velocidades un proceso de curación de fractura.

También es preciso aclarar que esta velocidad o ritmo de reparación tiene una relación directa con el grado de vascularización del hueso fracturado. De esta manera se observa que el fémur, al tener una rica vascularización, sana más rápidamente de una fractura que la tibia, hueso con vascularización pobre.

Sin embargo, se sabe que en los procesos de osteogénesis por reparación de fractura, este proceso puede acelerarse por encima de lo normal para recuperar el tejido perdido prontamente. Se cree que las células están programadas en estos casos para acelerar sus procesos y acortar el tiempo de la interrupción ósea.

El tiempo de reparación de fractura está determinado por los ciclos presentes en todo el proceso. Inicialmente la fractura forma una inflamación con posterior hematoma, entonces aparecen las células madre que se posicionan y luego se diferencian en función de los estímulos mecánicos y quimico-biológicos. Estas células toman un tiempo para su maduración y solo hasta que se encuentran listas, inician sus procesos.

3.2.3. Parámetros de las células y tejidos a modelar

A continuación se presenta un cuadro de datos donde se resumen los valores más importantes de las células involucradas en el modelo de reparación de fractura ósea, tabla 3.1. Posteriormente se presentan los datos relacionados con las matrices celulares presentes, tabla 3.2. Dichos valores son usados para la configuración de los autómatas celulares empleados en el modelo desarrollado. Los valores presentados son los obtenidos por investigación y experiencia de diversos autores, entre otros, Wilsman, Bailon-Plaza, Van der Meulen, Prendergast, Colter, Huang, Friedl, Manabe, Aubin, Malaval y Gomez Benito. La recopilación ha sido condensada por Issakson [24].

Tabla 3.1. Parámetros de las células presentes en la reparación de fractura ósea para Células Madre Mesenquimales (MSC), Fibroblastos (FB), Condrocitos (CC) y Osteoblastos (OB) [24].

| Célula | Densidad Celular | | | Rata de Migración $\mu\text{m}/\text{min}$ | Rata de proliferación | | Diferenciación Tiempo de Maduración | Apoptosis células/mm |
|--------|------------------|------------------------|----------------------|-----------------------------------------------|-----------------------|----------|----------------------------------------|--------------------------|
| | Inicial | Máxima | | | Duplicado | Fracción | | |
| | Periostio | Células/ mm^3 | Tamaño μm | | Horas | Mitótica | | |
| MSC | $5 \cdot 10^5$ | 10^6 | 10 | 60 | 12-24 | 0.50 | | |
| FB | | 10^8 | 18 | 40 | 12-16 | 0.45 | | |
| CC | | $2 \cdot 10^5$ | 25 | bajo | 35 | 0.2 | 14-21 días | $4,5 \cdot \text{norma}$ |
| OB | | $2,7 \cdot 10^4$ | 20 | 10 | 20 | 0.35 | 8-10 días | 35 |

Tabla 3.2. Parámetros de las matrices celulares presentes en la reparación de fractura ósea para Tejido Conectivo Fibroso (TCF), Cartílago (C) y Hueso (H) [24].

| Matriz | Producción | | | Degradación $\text{mm}^3/\text{cél}$ |
|--------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------------------------|
| | $\text{mm}^3/\text{cél}$ | $\text{pg}/\text{cél h}$ | $\mu\text{m}/\text{dia}$ | |
| TCF | $5 \cdot 10^{-6}$ | 0.3 | | $5 \cdot 10^{-6}$ |
| C | $5 \cdot 10^{-6}$ | 3 | | $5 \cdot 10^{-6}$ |
| H | $3 \cdot 10^{-6}$ | | 15 | $3 \cdot 10^{-6}$ |

3.3. Configuración de la Fractura inicial

En general, las fracturas analizadas presentan diversas geometrías superficiales las cuales hacen deducir que no es ventajoso copiar milimétricamente cada una de estas siluetas para modelar la reparación. Es ideal y suficiente para el propósito de la investigación diseñar un modelo esquemático plano segmentado longitudinalmente para observar el crecimiento, la evolución y el remodelamiento final de la fractura.

Bajo este criterio, se ha desarrollado en MatLAB un modelo bidimensional de fractura de hueso largo, la cual muestra solamente la región lateral de la fractura, a partir de la sección por un plano sagital del hueso largo, figura 3.1.

El modelo inicial expuesto es la representación de la matriz base del modelo, el cual almacena un valor de densidad relativa de material, donde 0.0 equivale al vacío o espacio sin tejido alguno mientras que el valor de 1.0 equivale a hueso cortical maduro. La tabla 3.3 presenta las propiedades mecánicas de los tejidos presentes en la reparación de fractura.

Tabla 3.3. Propiedades mecánicas de los tejidos presentes en la reparación de fractura [24].

| | Hueso Cortical | Médula Ósea | Tejido Granulado | Tejido Fibroso | Cartilago | Hueso Inmaduro | Hueso Maduro |
|--------------------------------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------------------|
| Mod. Young (MPa) | 15750 | 2 | 1 | 2 | 10 | 1000 | 6000 |
| Permeabilidad (M^4/Ns) | $1 \cdot 10^{-17}$ | $1 \cdot 10^{-14}$ | $1 \cdot 10^{-14}$ | $1 \cdot 10^{-14}$ | $5 \cdot 10^{-15}$ | $1 \cdot 10^{-13}$ | $3,7 \cdot 10^{-13}$ |
| Rel. Poisson | 0.325 | 0.167 | 0.167 | 0.167 | 0.167 | 0.325 | 0.325 |
| Porosidad | 0.04 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.8 |

La matriz de densidades de tejido tiene dimensión 1750 x 750, donde un milímetro lineal está representado por cada 25 posiciones. El esquema presenta una diáfisis de hueso largo con diámetro exterior de 30 milímetros, diámetro interior de 12 milímetros y un espacio interfragmentario de 4 milímetros. De acuerdo a la observación clínica, la médula ósea se recoge unos cuantos milímetros al interior del canal medular. Por esta razón la médula aparece 3 milímetros por detrás de la superficie lesionada del hueso.

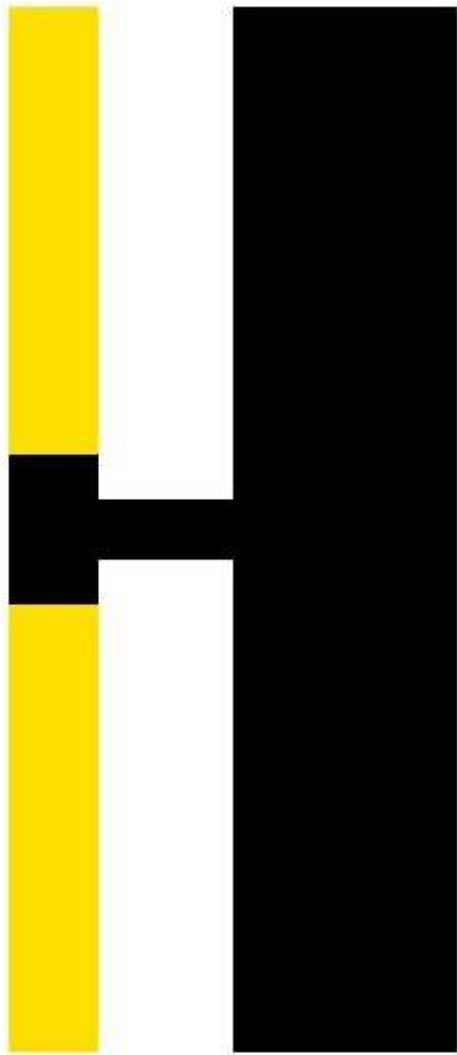


Figura 3.1. Modelo inicial de fractura. Elaborado en MatLAB 7.0

3.4. Configuración de la Hemóstasis

La hemóstasis es el proceso por el cual la sangre se coagula y forma un tapón que detiene la hemorragia y se metaboliza para dar lugar a una matriz de fibrinas que a su vez servirá de vía para la migración celular en el proceso de reparación ósea. En el momento de suceder la fractura, la mayor parte de sangre que fluye en el espacio interfragmentario proviene del canal medular. El tapón se forma en la región lateral del espacio interfragmentario, donde los factores sanguíneos se ligan con el colágeno libre de los tejidos blandos aledaños a la lesión y el colágeno libre de la superficie ósea lesionada. Las plaquetas se acumulan y forman una red que atrapa nuevas plaquetas hasta formar el coágulo desde el exterior y hacia la región medial de la diáfisis. La hemorragia dura tan solo unos segundos, mientras que el proceso de coagulación inicia hacia las ocho horas alcanzando un pico máximo de inflamación. El modelo de hemorragia y hemóstasis se ilustra en la figuras 3.2 y 3.3.

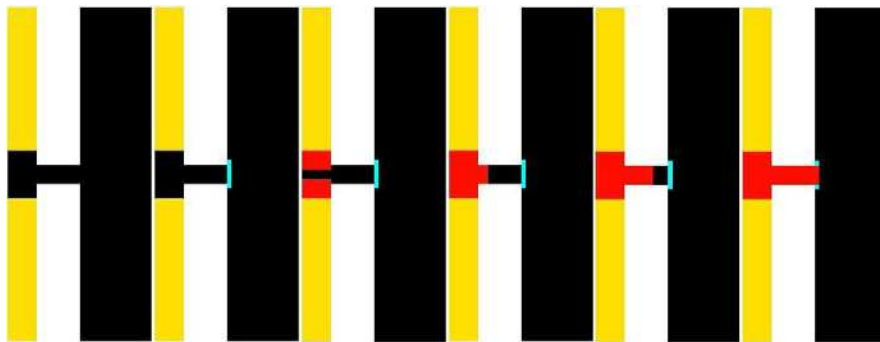


Figura 3.2. Simulación de hemorragia. Elaborado en MatLAB 7.0

3.5. Parámetros mecano–biológicos para el control de tamaño y geometría del callo óseo

En el momento de la aparición de la fractura, se rompen los vasos sanguíneos provocando una hemorragia que posteriormente conforma el hematoma que activa el proceso de la reparación.

Enseguida aparecen las primeras señales de la reparación dadas por la migración celular. Estas células ocupan la matriz del hematoma y comienzan a diferenciarse en fibroblastos, condrocitos y osteoblastos. De acuerdo al

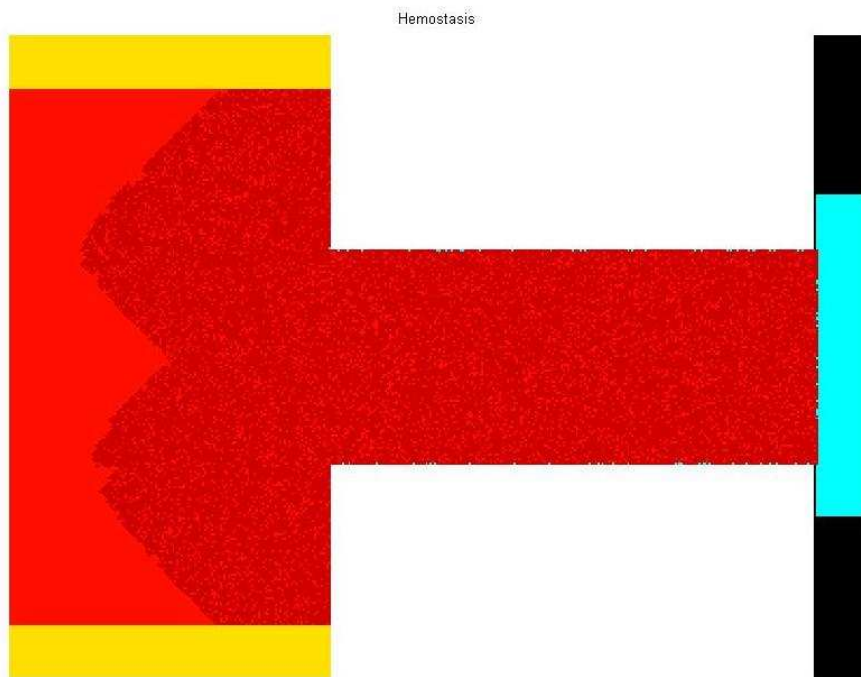


Figura 3.3. Simulación de hemostasis. Elaborado en MatLAB 7.0

ambiente mecánico del espacio interfragmentario se estimula la proliferación de nuevas células madre que se extienden tanto como lo requiera la fractura.

Recientes investigaciones han demostrado que el movimiento interfragmentario influye sobre la densidad celular, lo que provoca un aumento en el diámetro del callo óseo [20].

3.6. Parámetros mecano–biológicos para la diferenciación celular

Una vez posicionadas las células, estas verifican la situación mecánica para determinar la diferenciación. Sin embargo, existen dos factores determinantes que deciden el tipo de células que se requieren: el factor pH y la presencia o ausencia de irrigación sanguínea cercana. En el primer caso el ambiente ácido o alcalino inhibe la formación de fosfatos y calcio mientras que la presencia de irrigación sanguínea favorece la osificación intramembranosa.

De acuerdo a estas observaciones, se encuentra que la angiogénesis ocurre en el interior del callo óseo mientras que la superficie es avascular. Bajo esta circunstancia, internamente hay aparición de fibroblastos, osteoblastos y osteoclastos mientras que en las periferias predominan los condrocitos.

3.7. Parámetros mecano–biológicos para la evolución de los tejidos

De acuerdo al ambiente mecánico en cada uno de los espacios del dominio de estudio, un tejido puede evolucionar en otro que se adapte a la condición mecánica actual. Es de esta forma que el tejido conectivo granulado toma forma en tejido conectivo fibroso o cartílago. Posteriormente estos toman forma en hueso tejido por la osificación intramembranosa o endocondral.

Las cargas mecánicas que permiten una adecuada evolución en el callo óseo son de carácter fisiológico. Es preciso aclarar que el factor osteogénico determina la aparición de hueso por calcificación de los tejidos o la permanencia de los tejidos por falta del estímulo osteogénico requerido.

3.8. Parámetros mecano–biológicos para determinar la duración de la curación de la fractura

Los factores principales en la determinación del tiempo de simulación son el avance de cada célula en su migración, la maduración de la célula y el tiempo de producción de su matriz.

Cada factor se estima de acuerdo a la cantidad de células presentes de cada tipo, su producción y su vida en la curación de fractura ósea. La mayoría de modelos desarrollados y la literatura usan como unidad de tiempo los días. Los valores correspondientes a estos parámetros ya fueron presentados en las tablas 3.1 y 3.2.

3.9. Modelo de reparación de fractura

El modelo desarrollado en el presente trabajo se fundamenta en el paradigma de los Autómatas Celulares Híbridos (HCA por sus siglas en inglés). Su principal característica es la posibilidad de configurar matemáticamente su estado y evolución ante las condiciones locales que presente este y sus inmediatos vecinos.

Las variables establecidas para el control del modelo son las mismas que controlan el proceso biológico de la reparación de fractura. Estas son el *tipo de tejido*, el *ambiente mecánico* de los tejidos presentes (esfuerzos y deformaciones), las *propiedades mecánicas* de cada tejido (Módulo de Young), el *factor biológico* (diferenciación y osteogénesis) y los *tiempos requeridos* para estos procesos.

El modelo bidimensional consta de una matriz dispersa que contiene submatrices (submodelos) que representan una superficie de 1x1 mm., los que a su vez están compuestos por mallas de 25x25 espacios en cuyas posiciones se alojan los HCA. Cada submodelo representa un espacio dimensional sustentado por el número de osteocitos presentes en este espacio [2].

La facultad de subdividir el modelo en pequeños submodelos permite una simulación en paralelo, lo que ahorra tiempo y gasto computacional.

De acuerdo a los parámetros presentados, el modelo para la simulación de la reparación de fractura ósea consta de las siguientes etapas (Fig. 3.4):

- *Estado inicial.* El modelo presenta la situación inicial de la fractura, en la cual se ilustran los extremos óseos lesionados unidos por tejido granulado.

El tejido granulado inicial ocupa el espacio interfragmentario de la lesión. Este puente permite la migración de las células madre que responden ante la fractura y ocupan el espacio del hematoma para empezar su proceso de diferenciación.

- *Geometría del callo.* La densidad celular en la migración determina la necesidad o no de expandir el volumen de ocupación de las células madre; esta expansión se refleja en la variación del volumen del callo óseo.

De acuerdo a la experiencia de los casos clínicos observados, el movimiento interfragmentario estimula la proliferación de estas células. Este parámetro está asociado con los esfuerzos y deformaciones presentes en el modelo, valores que se obtienen de un análisis por elementos finitos (FEA por sus siglas en inglés).

- *Diferenciación.* De acuerdo a las condiciones mecánicas, el tipo de tejido presente en cada autómatas (estado) y el factor osteogénico dado por el gradiente mecano-biológico, se aplican las reglas de evolución de los HCA para determinar que tejidos se presentan y cual es su configuración dentro del dominio de estudio. Esto determina la arquitectura del callo óseo durante su presencia en la lesión.

En este caso se acude nuevamente al FEA para obtener la distribución del gradiente mecánico que permite tomar las decisiones de los HCA.

- *Osificación.* De acuerdo al conocimiento clínico de la reparación de fractura, el proceso de osificación comienza a partir de la segunda semana de curación. Este proceso generalmente requiere la madurez de

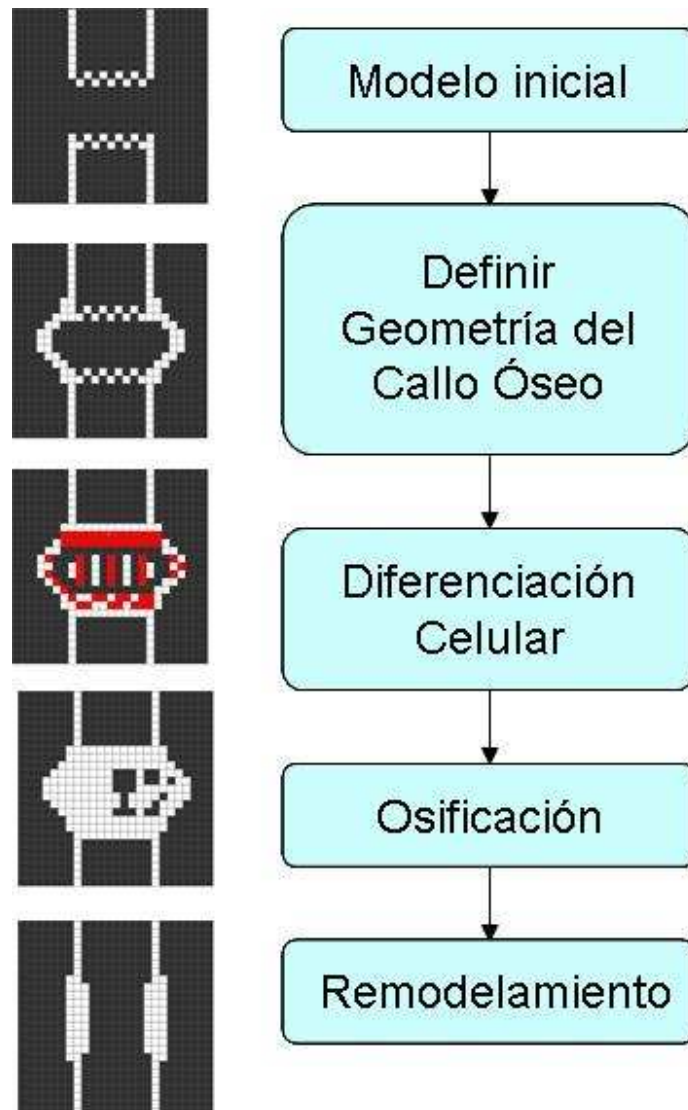


Figura 3.4. Esquema del modelo para simulación de reparación de fractura ósea

los tejidos conectivos y cartilagosos además de una densidad mínima de osteoblastos para entrar en actividad.

Los HCA analizan la información de su estado y el tiempo de simulación para establecer una madurez tisular que permita la aparición de hueso tejido. Para ello se tiene en cuenta un FEA y el tiempo de permanencia del estado del autómata.

- *Remodelamiento.* El remodelamiento es un proceso de caracter superficial sobre el tejido óseo formado. Este recupera la forma óptima del hueso fracturado eliminando el exceso de material óseo mientras maximiza su rigidez y respuesta mecánica hasta llevarlo a su forma casi original.

En esta etapa del modelo, cada autómata evalúa su carga mecánica para evolucionar su estado a hueso laminar o desaparecer por baja o nula carga mecánica. El resultado final de esta etapa es una estructura optimizada de distribución ósea.

El modelo inicia ejecutando la etapa inicial y el análisis de geometría. Posteriormente ingresa en un ciclo que empieza por la diferenciación justo cuando se encuentra finalizando el análisis geométrico y termina en el proceso de remodelamiento. El ciclo finaliza con la convergencia de la arquitectura y carga mecánica final.

En los dos capítulos siguientes se presenta el desarrollo completo de las fases de *Crecimiento y evolución de tejidos* y de *Remodelación ósea* presentes en el callo óseo.

Capítulo 4

FASE DE CRECIMIENTO Y EVOLUCIÓN DE TEJIDOS EN EL CALLO ÓSEO

4.1. Introducción

El trabajo de investigación y desarrollo del modelo computacional de osteogénesis y curación ósea después de la fractura ha sido dividido en dos fases que serán tratadas en este y el siguiente capítulo: fase de Crecimiento y evolución de tejidos presentes en el callo óseo y fase de Remodelación ósea.

En la primera fase, el modelo computacional desarrollado presenta la simulación del crecimiento y evolución del callo óseo blando. Este proceso contempla únicamente las fases de inflamación y diferenciación celular. El callo blando aparece como un conjunto de tejidos fibrocartilagosos que crecen y se afirman para dar estabilidad mecánica a la lesión ósea mientras sucede el proceso de calcificación.

4.2. Resumen

La reparación de una fractura está comprendida por una secuencia de procesos de cicatrización cuyo objetivo es la unión ósea de los segmentos

óseos fracturados. Uno de estos procesos es el crecimiento y la evolución de los tejidos que conforman la fase inicial de este puente, denominado Callo Óseo. En este trabajo se presenta un modelo computacional de Osteogénesis y reparación de fractura ósea que simula el proceso de formación y evolución del callo óseo blando utilizando Autómatas Celulares. El modelo es sometido a un análisis por elementos finitos para determinar sus estímulos mecánicos y en función de estos obtener la evolución de los tejidos. El resultado presenta una estimación de la geometría y arquitectura del callo.

Palabras clave: *Reparación de fractura ósea, crecimiento y evolución de tejidos, Osteogénesis, autómatas celulares, análisis por elementos finitos.*

Modelo computacional por Autómatas Celulares para la Osteogénesis y curación ósea después de la fractura. Primera parte: fase de crecimiento y evolución de tejidos en el callo óseo.

Andrés Julián Arias Moreno^{1,3}, Andrés Tovar Pérez², Diego Alexander Garzón-Alvarado²
ajariasm@unal.edu.co, atovarp@unal.edu.co, dagarzona@bt.unal.edu.co

¹ Maestría en Ingeniería Biomédica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia

² Departamento de Ingeniería Mecánica y Mecatrónica, Universidad Nacional de Colombia

³ Departamento de Ingeniería Mecánica y Producción, Universidad Autónoma de Manizales

RESUMEN

La reparación de una fractura está comprendida por una secuencia de procesos de cicatrización cuyo objetivo es la unión ósea de los segmentos óseos fracturados. Uno de estos procesos es el crecimiento y la evolución de los tejidos que conforman la fase inicial de este puente, denominado Callo Óseo. En este trabajo se presenta un modelo computacional de Osteogénesis y reparación de fractura ósea que simula el proceso de formación y evolución del callo óseo blando utilizando Autómatas Celulares. El modelo es sometido a un análisis por elementos finitos para determinar sus estímulos mecánicos y en función de estos obtener la evolución de los tejidos. El resultado presenta una estimación de la geometría y arquitectura del callo.

Palabras Clave

Reparación de fractura ósea, crecimiento y evolución de tejidos, Osteogénesis, autómatas celulares, análisis por elementos finitos.

NOMENCLATURA

| | |
|-------|------------------------------------------------------------|
| CA | Autómatas Celulares |
| CB | Condroblasto |
| CC | Condrocito |
| FB | Fibroblasto |
| HCA | Autómatas Celulares Híbridos |
| J_2 | Segunda invariante del tensor deviatorico de deformaciones |
| MSC | Célula madre mesenquimal |
| OB | Osteoblasto |
| OC | Osteocito |
| tm | tiempo de maduración (para las células) |

ϵ_i Deformación principal en la dirección i -ésima

1. INTRODUCCIÓN

La reparación de una fractura ósea es un proceso autoregenerativo del hueso donde los segmentos óseos lesionados -y generalmente separados- se unen a través de un tejido de cicatrización denominado callo óseo [40,42].

El callo óseo presenta dos fases: el callo blando y el callo duro. Dichas etapas son denominadas así en función de los tejidos que le componen.

El callo blando comprende la etapa de formación, establecimiento y evolución de los tejidos que conforman el puente inicial de unión entre los segmentos fracturados del hueso [7,42,43]. Los tejidos presentes en esta fase son el tejido conectivo granuloso, el tejido conectivo fibroso y el cartilago. Su formación puede tomar varias semanas [42,43].

La fase de callo duro está caracterizada por la calcificación de los tejidos presentes en el callo blando. En esta etapa los tejidos empiezan a ser receptores de mineral que les aporta rigidez y estabilidad. Esta fase se extiende hasta que el proceso de resorción ósea elimina los excesos de hueso formado, llevando este a su forma original antes de la lesión [42,43].

Se han desarrollado varios modelos predictivos para analizar los diversos factores que afectan la reparación ósea después de la fractura. Ament et al. (2000) realizaron un modelo predictivo para observar la transformación de tejidos en un metatarso utilizando lógica difusa y estimando un factor osteogénico por

gradientes de esfuerzo. El modelo obtiene la formación de cartílago, el crecimiento del callo y finalmente la resorción concluyendo que el factor mecánico tiene alta influencia en la formación y calcificación de los tejidos [1]. Simon et al. (2010) realizaron un modelo que simula la formación de todos los tejidos en función a la revascularización del callo óseo y las cargas mecánicas usando lógica difusa. Este modelo analiza la formación de tejidos en función a la angiogénesis en el callo óseo formado en un metatarso. Los resultados muestran una formación lenta de tejidos y un caso especial de no unión en el que establecen una relación directa entre la presencia de irrigación sanguínea con el tipo de tejido y la rapidez en el que este se forma [44]. Gómez-Benito et al. (2007) presentan un modelo que predice la geometría del callo óseo en función del movimiento interfragmentario para predecir la morfología del callo óseo. Utilizan un modelo matemático que utiliza elementos finitos. Este modelo predice varias características geométricas del callo óseo, explicando que el volumen del callo crece en proporción directa con la carga aplicada [20]. Lacroix et al. (2002) establecieron un modelo que analiza la influencia del tamaño del espacio interfragmentario y los flujos de fluidos en el interior del callo utilizando un modelo de elementos finitos poroelástico bifásico. Realizaron diversas simulaciones variando inicialmente el tamaño del espacio interfragmentario para la formación de la unión ósea y estableciendo tres distintas magnitudes de cargas mecánicas aplicadas. Obtuvieron resultados de la distribución de tejidos con apariencias similares a las evidencias histológicas y concluyen que el proceso de diferenciación de tejidos está mecanoregulado por el movimiento interfragmentario [27].

En este trabajo se presenta la primera parte de un modelo computacional para la osteogénesis y curación ósea después de la fractura, correspondiente a la fase de crecimiento y evolución de tejidos, utilizando para ello el paradigma de los autómatas celulares. El objetivo es simular la evolución de tejidos en la reparación de fractura mediante parámetros de estímulo mecánico, tales como amplitud y frecuencia de carga mecánica, para predecir la arquitectura y geometría del callo óseo así como el tiempo de curación.

El nuevo aporte de este trabajo radica en modelar este proceso reparativo simulando el comportamiento de las células presentes en el callo (migración, proliferación y producción de matriz extracelular) durante el proceso reparativo, donde se plantea la hipótesis de que las células solamente conocen las variables locales que les rodean, como por ejemplo el estímulo mecánico local.

Los resultados obtenidos permiten ver una distribución de tejidos en el callo y una geometría acordes con la evidencia experimental. También hace seguimiento temporal de la evolución del proceso en días para estimar un tiempo final de curación ósea. Este modelo puede ser

de utilidad para los especialistas que atienden los procesos de reparación de fractura, permitiéndoles establecer cuál es el mejor procedimiento a seguir para apoyar la reparación ósea después de la fractura, controlando las cargas mecánicas de estímulo al callo.

1.1 Descripción del Proceso Fisiológico

A nivel continuo (órgano), el hueso se comporta como un sistema dinámico donde circulan células y fluidos que están en permanente comunicación [29,43]. Cuando se presenta la fractura, esta comunicación se ve abruptamente interrumpida y las células envían una señal de alarma que desencadena una serie de fenómenos fisiológicos que terminan en la formación de la “cicatriz” que reestablecerá la comunicación dentro del sistema [7,29,35].

48 horas después de la lesión las células madres mesenquimales (MSC) empiezan a ocupar el hematoma y forman una red de tejido conectivo granulado. Este tejido es la base de formación del callo blando y es un puente inicial de unión de los segmentos óseos lesionados, separados por el espacio interfragmentario [27,43].

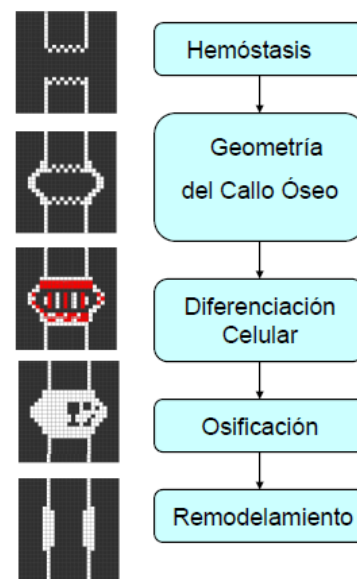


Figura 1. Proceso fisiológico de la reparación de fractura ósea.

En este espacio, el hematoma mantiene una presión hidrostática que busca mantener la lesión inmóvil hasta que el tejido granulado establezca unión entre los segmentos óseos [43]. Una vez formado el tejido granulado las MSC empiezan a madurar y, de acuerdo a los estímulos mecánicos y a otros factores químicos y

biológicos, se diferencian en fibroblastos (FB), condroblastos (CB) y osteoblastos (OB) [6,7,17,20,30].

Estas células toman un tiempo de maduración antes de empezar a producir matriz extracelular (tejidos especializados) en el callo: los Fibroblastos producen tejido conectivo, los Condroblastos se diferencian en Condrocitos (CC) que más tarde crecen y forman Cartílago y los Osteoblastos producen osteoide que mineraliza los tejidos blandos [20,28,29,42].

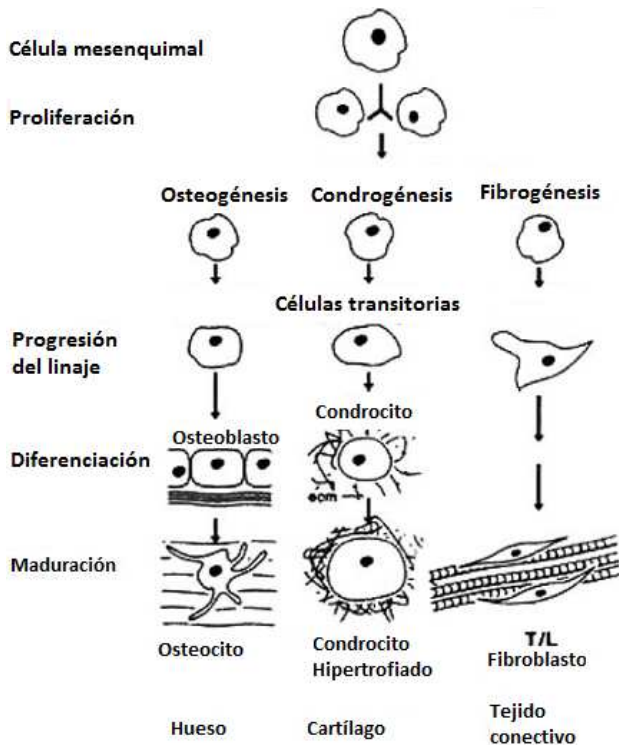


Figura 2. Esquema de la diferenciación celular en el callo óseo [13].

En el proceso de reparación de fractura ósea, estos tejidos reparativos eventualmente serán reemplazados en su totalidad por hueso que más tarde será remodelado, llevando al hueso muy cerca de su arquitectura original antes de la fractura [42]. El proceso de reparación de fractura ósea se presenta de forma esquemática en la figura 1 y el ciclo de las células presentes en la reparación de la fractura se presenta en el esquema de la figura 2.

Desde el punto de vista biomecánico, en las regiones donde el callo presenta mayores deformaciones, se desarrolla tejido conectivo con posterior aparición de cartílago. En las zonas de baja deformación se presenta la formación de tejido conectivo que eventualmente puede ser reemplazado por cartílago o ser directamente calcificado [1,20].

Cuando hay presencia de cargas mecánicas muy altas o de alto impacto (cargas que destruyen los tejidos, denominadas también como cargas patológicas), el tejido estimulado se destruye provocando una atrofia que trae como consecuencia una unión demorada o una no unión. Esta situación generalmente requiere intervención quirúrgica para volver a estimular la Osteogénesis [1,43].

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Autómatas Celulares

El modelo desarrollado utiliza el paradigma de los Autómatas Celulares (CA), pequeñas máquinas dinámicas ubicadas individualmente en celdas pertenecientes a una red regular uniforme conocida como dominio, figura 3 [12,45].

Los CA poseen un estado único discreto espacio-temporal $S(t)$ que cambia gracias a las reglas de evolución; estas se aplican en función a que el autómata conoce únicamente su estado propio y el de sus vecinos inmediatos $N_{(r)}(t)$, es decir, el CA actúa y evoluciona por interacciones locales [12,45].

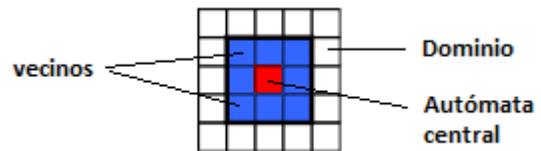


Figura 3. Esquema general de un autómata celular en su dominio.

El modelo presentado consiste en un sistema dentro del cual actúan los CA, representando así un modelo óseo con comportamientos celulares de evolución y adaptación ósea. Esta relación de un modelo estático con comportamiento dinámico define a los Autómatas Celulares Híbridos (HCA), elementos individuales con dinámica biológica que forman en el callo blando (su dominio espacio-temporal) un tipo específico de tejido componente, producto del proceso celular simulado [45].

2.2 Modelo matemático

El modelo propuesto para la fase de crecimiento y evolución de tejidos tiene en cuenta el comportamiento celular. Las células producen tejido (matriz extracelular) cuando ha transcurrido el tiempo necesario para su maduración y encuentran el estímulo mecánico adecuado. Las variables que controlan el modelo de comportamiento celular son: (i) la *deformación mecánica local* ψ , (ii) el *tipo local de tejido* $S_i(x,t)$, (iii) el *tiempo* t ,

y (iv) el estímulo osteogénico. Estas variables locales para cada autómata permiten configurar las reglas de evolución de los HCA.

2.2.1 Crecimiento del callo óseo sin estímulo mecánico: migración y proliferación de las Células Mesenquimales (MSC)

El modelo presentado tiene como punto de partida la formación inicial del callo óseo blando con tejido granulado. Este se forma cuando las MSC han viajado a través del hematoma en la zona lesionada y han madurado para producir matriz extracelular [42]. Estas células realizan migración y proliferación y ocupan un volumen inicial sin estímulo mecánico [14,28].

La función de proliferación se controla mediante la función de crecimiento poblacional de Gompertz, la cual expresa que la tasa de crecimiento de un tejido en función de sus células (tal como el tejido conectivo granulado) decrece exponencialmente con el tiempo [12]. En esta función, cada HCA tiene una tasa de proliferación γ con un coeficiente de corrección temporal α [12]. La implementación de esta ecuación se presenta como:

$$W(S N_{(r)}(t) \rightarrow 1) = 1 - (1 - \gamma)^{N_{(r)}(t)} \quad (1)$$

donde W representa la probabilidad de una celda para ser ocupada, $S(t)$ es el estado del autómata –en este caso el tejido conectivo granulado– y $N_{(r)}$ representa el número de vecinos del HCA ocupados por el tejido. El Autómata analizado evalúa cuantos de sus vecinos ya poseen tejido, es decir que tienen probabilidad $W(S N_{(r)}(t)) = 1$, y acorde con ello define si en el instante $(t + 1)$ es ocupado o no.

La regla de crecimiento del callo óseo por proliferación de las MSC significa que una celda ocupada en el instante t permanecerá ocupada en el instante $(t + 1)$ y que una celda vacía tendrá cierta probabilidad de ser ocupada en función del número de celdas vecinas ocupadas. Acorde al objetivo de predecir el crecimiento del callo óseo y suponiendo que en esta etapa no se presenta apoptosis, toda celda ya ocupada permanecerá ocupada. Estas reglas se definen como:

$$W(S N_{(r)}(t + 1)) = \begin{cases} 1 & \text{si } W(S N_{(r)}(t)) = 1 \\ W(S N_{(r)}(t)) & \text{si } W(S N_{(r)}(t)) < 1 \end{cases} \quad (2)$$

Por otra parte, el proceso de migración de las MSC, cuyo valor está estimado en $60 \mu\text{m}/\text{min}$ [23], se establece en el modelo con el hecho de que basta que una celda vacía tenga por lo menos un HCA vecino con tejido conectivo granulado para que evolucione en el tiempo $(t + 1)$ como espacio ocupado por el mismo tejido, figura 4.

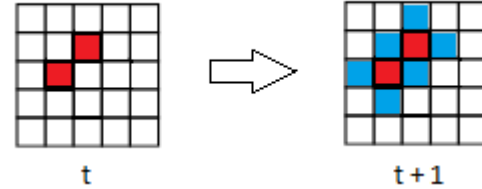


Figura 4. Esquema del proceso de migración en el crecimiento del callo óseo por acción de las MSC.

2.2.2 Crecimiento y evolución del callo óseo con estímulo mecánico

En la reparación de fractura ósea, la magnitud de los estímulos mecánicos y sus consecuentes microdeformaciones presentes en el callo controlan la evolución de los tejidos y la geometría externa [20,24,27]. En el modelo desarrollado, una matriz de tejidos con comportamiento elástico lineal, se utiliza la regla de mezclas [28] para extraer el módulo de Young (o módulo de elasticidad) de cada uno de los submodelos (matriz cuadrada de 25×25 HCA's) que conforman el dominio:

$$E = E_{hueso} \cdot \mu_{hueso} + E_{cartilago} \cdot \mu_{cartilago} + E_{conect} \cdot \mu_{conect} + E_{otros} \cdot \mu_{otros} \quad (3)$$

donde E_i representa el módulo de Young del tejido i mientras que el término μ_i es el porcentaje del tejido i presente en el submodelo. Con este módulo de Young equivalente se realiza el análisis mecánico para calcular el segundo invariante del tensor deviatorico de deformaciones J_2 a partir de las deformaciones principales de cada submodelo:

$$J_2 = \frac{1}{6} [(\varepsilon_1 - \varepsilon_2)^2 + (\varepsilon_2 - \varepsilon_3)^2 + (\varepsilon_3 - \varepsilon_1)^2] \quad (4)$$

el valor J_2 es el parámetro para cuantificar el estímulo mecánico que será utilizado en las reglas de evolución de los HCA.

Cuando el modelo ingresa a la etapa de crecimiento y evolución por estímulo mecánico, se realizan las siguientes suposiciones:

- Para efectos de la predicción de geometría del callo óseo, toda celda ocupada por algún tejido permanecerá ocupada para el resto del proceso de crecimiento. Se desprecia la apoptosis en esta etapa.
- Cuando se alcanza la densidad máxima de MSC en cada celda, una de estas células se diferencia mientras que otra permanecerá en reserva. Correspondiente con la fisiología del proceso donde se observa que no todas las MSC se diferencian y permanecen en ese estado en caso de que el proceso biológico les requiera posteriormente [35].
- Cada celda almacenará solo una de estas células a la vez: FB, CC u OB.
- Cuando un CC madura y se hipertrofia (crece en volumen), desplaza las celdas adjuntas hacia el exterior del callo. Este aspecto contribuye a la variación de forma y volumen del callo.

Las reglas de evolución R_i de los HCA se configuran de acuerdo al estado actual $S_i(t)$ de cada autómata, del estado de sus m vecinos inmediatos, de la memoria del autómata $S_i(t-1)$, del tiempo total T y de otras variables externas [45], en la forma:

$$S_i(x, t+1) = R_i [S_i(x, t), S_i(x+\delta_l, t), \dots, S_i(x+\delta_m, t), S_i(x, t-1), S_i(x, t-T)] \quad (5)$$

$$t_{FB} = \begin{cases} \frac{J_2 - \varphi_{condro}}{\varphi_{cartilago} - \varphi_{condro}} \cdot t_{slope} + t_{CC} & \text{si } \varphi_{cartilago} < J_2 < \varphi_{condro} \\ t_{CC} & \text{si } \varphi_{condro} < J_2 < \varphi_{fibro} \end{cases} \quad (7)$$

Acorde con esto, las reglas de evolución de los HCA para el modelo de crecimiento y evolución de tejidos del callo óseo se definen en función del estado $S_i(t)$ del autómata, del tiempo transcurrido en la evolución y del factor de osteogenia:

(a) El tipo de tejido de cada celda está dado por la regla (de HCA), dado por:

$$S_i(t) = \begin{cases} S_H(t) = \text{Hueso} \\ S_C(t) = \text{Cartilago} \\ S_{TC}(t) = \text{Tejido conectivo} \\ S_{TCG}(t) = \text{Tejido conectivo granulado} \\ S_{MO}(t) = \text{Médula ósea} \\ S_{TB}(t) = \text{Tejido blando aledaño o coagulo} \end{cases}$$

(b) Los tiempos de maduración (t_m). Siguiendo a Gómez-Benito [20] y a Lacroix y Prendergast [27], se cuantifican los tiempos requeridos para que cada tipo de célula madure y empiece a producir matriz extracelular:

El tiempo de maduración de los CC es t_{CC} .
El tiempo de maduración de los OB está definido en función del estímulo mecánico:

$$t_{OB} = t_{CC} \cdot \varphi(J_2) \quad (6)$$

donde el término de referencia en función de la deformación deviatorica $\varphi(J_2)$ se expresa como:

$$\varphi(J_2) = \frac{J_2}{\varphi_{bone}}$$

en el que el término φ_{bone} representa el tensor deviatorico que estimula la osteogénesis.

El tiempo de maduración de los FB, t_{FB} , está definido en función del estímulo mecánico como:

donde el tiempo de maduración de los fibroblastos es dependiente de la deformación deviatorica respecto a los umbrales de fibrogénesis (φ_{fibro}) o condrogénesis (φ_{condro} y $\varphi_{cartilago}$).

(c) Factor osteogénico (F.O.). El factor osteogénico es la predisposición que tiene un HCA para realizar Osteogénesis. En el modelo se presenta de dos maneras: la primera toma en cuenta la presencia de un OB maduro, y en producción de matriz extracelular, que sea vecino del autómata analizado. En este caso se simula la

deposición de osteoide. La segunda forma tiene en cuenta el tiempo de vida del autómata analizado, el cual debe ser mayor o igual al tiempo que requiere una MSC para diferenciarse y madurar como OB y finalmente producir osteoide. Ambas condiciones suceden siempre y cuando el estímulo mecánico sea el adecuado para la osificación.

Conforme a estos parámetros, las reglas establecidas para la evolución de los HCA son las siguientes:

El callo óseo inicia con tejido conectivo granulado, Estado $S_{TCG}(t)$. Este tejido puede tener fibrogénesis, condrogénesis o ser calcificado. Las reglas R_i definidas en esta etapa son:

R_1 : Se presenta fibrogénesis (formación de tejido conectivo) si el estímulo mecánico se encuentra en el umbral de fibrogénesis (ϕ_{fibro}) y por encima del umbral del condrogénesis (ϕ_{condro}) y si el tiempo de maduración es mayor al tiempo de maduración de un FB

$$S_{TCG}(t) \rightarrow S_{TC}(t+1) \text{ si } \phi_{fibro} > J_2 > \phi_{condro} \text{ y } tm > t_{FB}.$$

R_2 y R_3 : Se presenta osificación intramembranosa (calcificación del tejido conectivo granulado o el tejido conectivo) si el estímulo mecánico se encuentra en el umbral de osificación intramembranosa (ϕ_{bone}) y por encima del umbral de estímulo (ϕ_{lim}) y se cumple la condición de factor osteogénico

$$S_{TCG}(t) \rightarrow S_B(t+1) \text{ si } \phi_{bone} > J_2 > \phi_{lim} \text{ y F.O.}$$

ó

$$S_{TC}(t) \rightarrow S_B(t+1) \text{ si } \phi_{bone} > J_2 > \phi_{lim} \text{ y F.O.}$$

R_4 : Se presenta condrogénesis (formación de cartílago) sobre el tejido conectivo granulado si el estímulo mecánico se encuentra en el umbral de condrogénesis (ϕ_{condro}) y por encima del umbral de osificación intramembranosa (ϕ_{bone}) y si el tiempo de maduración es mayor al tiempo de maduración de un CC

$$S_{TCG}(t) \rightarrow S_C(t+1) \text{ si } \phi_{condro} > J_2 > \phi_{bone} \text{ y } tm > t_{CC}.$$

R_5 : También se presenta condrogénesis en el tejido conectivo si el estímulo mecánico se encuentra en el umbral de crecimiento ($\phi_{crecimiento}$) y por encima del umbral de osificación intramembranosa (ϕ_{bone}) y si el tiempo de maduración es mayor al tiempo de maduración de un CC

$$S_{TC}(t) \rightarrow S_C(t+1) \text{ si } \phi_{crecimiento} > J_2 > \phi_{bone} \text{ y } tm > t_{CC}.$$

R_6 : Se presenta osificación endocondral (calcificación del cartílago) si el estímulo mecánico se encuentra en el umbral de osificación endocondral ($\phi_{cartilago}$) y por encima del umbral de estímulo mínimo de tejido (ϕ_{lim}) y se cumple la condición de factor osteogénico

$$S_2(t) \rightarrow S_1(t+1) \text{ si } \phi_{cartilago} > J_2 > \phi_{lim} \text{ y F.O.}$$

Cuando el HCA representa Hueso, estado $S_B(t)$, la regla R_i definida es:

R_7 : El hueso se mantiene siempre que su estímulo mecánico no sea patológico ($\phi_{patológico}$, gran deformación capaz de destruir el tejido)

$$S_B(t) \rightarrow S_B(t+1) \text{ si } \phi_{patológico} > J_2.$$

R_8 : Cuando un HCA presenta un estímulo mecánico mayor a la carga patológica, esto es $J_2 > \phi_{patológico}$, el tejido de esa posición se destruye y/o se atrofia. Solamente se recuperará después de transcurridos un mínimo de 180 días

$$S_i(t) \rightarrow S_i(t+1) = \text{atrofia} \text{ si } J_2 > \phi_{patológico}$$

Cuando ninguna de estas reglas se cumple, el algoritmo simplemente incrementa el tiempo de evolución.

2.3 Aspectos computacionales

El algoritmo computacional que se implementó para esta fase de crecimiento y evolución de tejidos en el callo óseo consta de los siguientes cuatro pasos, figura 5:

Paso (a): Formación de la matriz de tejidos. El algoritmo construye una matriz donde cada posición de esta contiene un HCA cuyo estado $S_i(t)$ corresponde con alguno de los tipos de tejido presentes en el callo óseo. Esta matriz de tejidos es el dominio que representa el calló óseo y sus diversos tejidos componentes.

Paso (b): Extracción del submodelo. El algoritmo divide la matriz de tejidos en pequeños submodelos, a los cuales se les calculan sus propiedades mecánicas. Estas propiedades mecánicas son enviadas al modelo de análisis por elementos finitos.

Paso (c): Análisis del modelo por Elementos Finitos (FEA). La matriz de tejidos (compuesta por los submodelos establecidos en el paso anterior) es sometida a un análisis por elementos finitos. Se le aplica al modelo una carga en la parte superior del hueso modelado y Posteriormente se calculan los estímulos mecánicos que

se usarán para la aplicación de las reglas de evolución de los HCA.

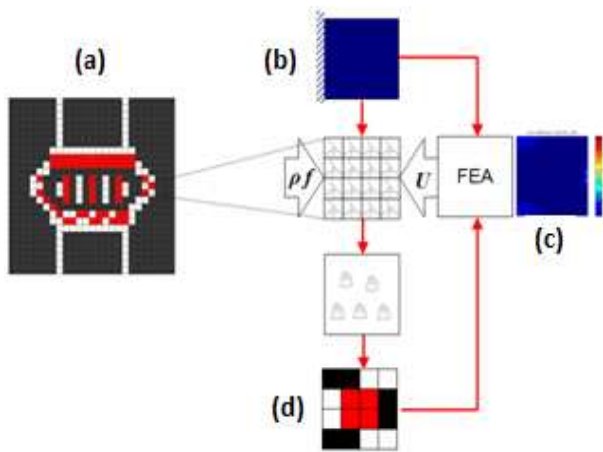


Figura 5. Esquema del algoritmo de crecimiento y evolución de tejidos.

Paso (d): Aplicación de las reglas de evolución. El algoritmo recibe los valores de las deformaciones deviatoricas del análisis por elementos finitos y , junto con la lectura del tiempo de evolución y el factor osteogénico, aplica las reglas de evolución de los HCA en cada posición del dominio. Luego actualiza la matriz de tejidos para el tiempo $(t + 1)$; y el algoritmo comienza de nuevo.

El proceso continúa mientras existan tejidos mecánicamente estimulados con condiciones de ser diferenciados y/o calcificados [26].

Para el desarrollo de este modelo se realizó la interface entre MatLAB y ANSYS, figura 6. El programa MatLAB construye la matriz de tejidos y coordina todos los pasos del algoritmo, incluso construye y actualiza el código APDL que requiere ANSYS para construir el modelo y aplicar una carga dada. Adicionalmente, realiza la subdivisión del modelo completo en submodelos y calcula las propiedades mecánicas de cada uno; esta información la almacena en un archivo plano.

El programa ANSYS lee los archivos que contienen el código APDL y los valores de las propiedades mecánicas para cada submodelo. Realiza el análisis y finalmente almacena el valor del segundo invariante del tensor de deformaciones deviatoricas de cada submodelo, calculado a partir del promedio de las deformaciones principales nodales. Esta información la retoma MatLAB para utilizarla en las reglas de evolución de los HCA.

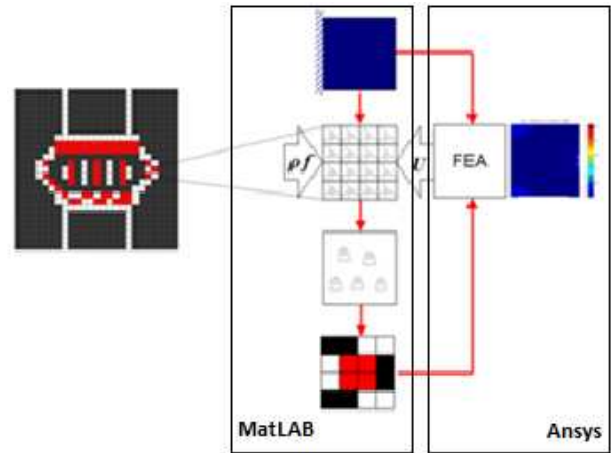


Figura 6. Interface desarrollada entre MatLAB y Ansys.

2.4 Modelo de prueba

Se presenta una matriz denominada *matriz de tejidos*, la cual es un esquema axisimétrico de la diáfisis de un hueso largo con diámetro exterior de 24 milímetros, diámetro interior de 12 milímetros y un espacio interfragmentario de 3 milímetros, figura 7.

La matriz bidimensional de tejidos es de 1725 filas x 750 columnas. Cada posición de la matriz contiene un HCA y su escala dimensional está referenciada a la densidad celular de Osteocitos (OC) presentes en el hueso cortical, estimada entre 12000 y 20000 OC/mm³ [11,28]. Cada HCA representa entonces un OC en su lacuna, cuya dimensión se estima en un diámetro medio de μm [45], dimensión acorde con la densidad de OC referenciada.

En términos mesurables, el modelo axisimétrico es una sección longitudinal de la diáfisis, de 69 mm de alto x 30 mm de ancho con un espesor de 0.04 mm, donde cada milímetro lineal contiene 25 HCA's.

Los submodelos son matrices cuadradas de 25 filas x 25 columnas, las cuales contienen 625 HCA's y son extraídas de la matriz de tejidos. Dimensionalmente representan una superficie equivalente a 1 mm² de la matriz de tejidos. El submodelo se considera como la unidad de superficie de la matriz de tejidos para efectos computacionales.

De acuerdo al tamaño de cada célula especializada del callo, y en referencia a la dimensión del HCA, cada posición de la matriz de tejidos puede albergar solo uno de los siguientes grupos celulares a la vez: dos MSC (10 μm), un FB (18 μm), un CC (25 μm) o un OB (20 μm).

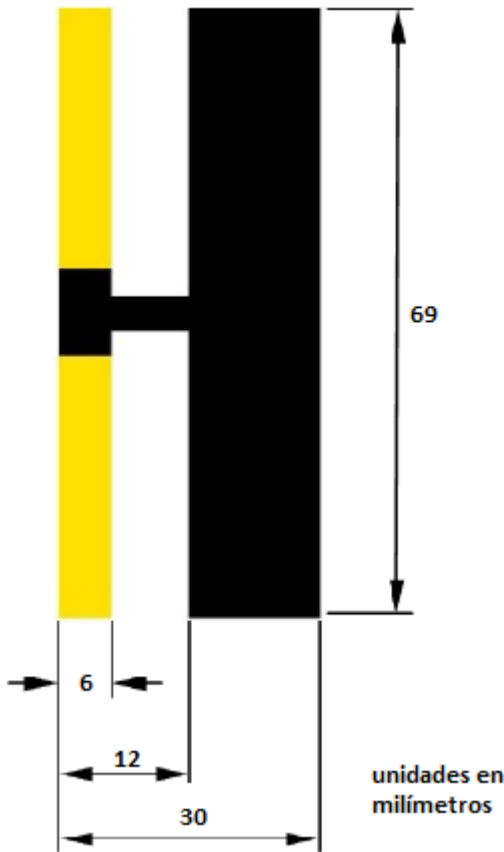


Figura 7. Presentación de la matriz de tejidos para la reparación de fractura ósea. Modelo axisimétrico de la diáfisis de hueso largo. Se representa la pared cortical del hueso (blanco), la médula ósea (amarillo) y la región de tejidos blandos adyacentes y el espacio interfragmentario de 3 mm (negro).

La vecindad utilizada por los CA en este modelo es la *vecindad Von Neumann*, caracterizada por tener en cuenta únicamente a los cuatro CA ortogonales al autómatas central analizado. A su vez, el tipo de frontera definido para el dominio es la *frontera adiabática*, donde al autómatas que se encuentra por fuera del dominio se le asigna como estado $S(t)$ el mismo estado que posee el autómatas central analizado del cual es vecino inmediato, figura 8.

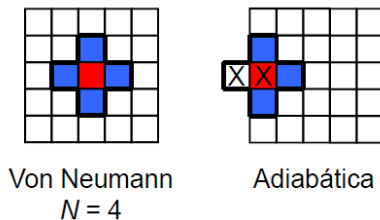


Figura 8. Vecindad Von Neumann (izquierda) y frontera Adiabática (derecha) establecidas en el modelo HCA.

Las propiedades mecánicas de los tejidos implementadas en este modelo se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Propiedades mecánicas utilizadas en el modelo de crecimiento y evolución de tejidos en el callo óseo (valores tomados de [20]).

| Tipo de Tejido | Módulo de Elasticidad [MPa] | Relación de Poisson |
|---------------------------------------|-----------------------------|---------------------|
| Hueso | 15750 | 0.325 |
| Cartílago | 10 | 0.167 |
| Tejido conectivo y médula ósea | 2 | 0.167 |
| Tejido conectivo granulado | 1 | 0.167 |
| Hematoma y tejidos blandos adyacentes | 0.1 | 0.05 |

Los valores del estímulo mecánico implementado en el modelo han sido estimados en [10,19,20,25,27] y se presentan a continuación:

$\Psi_{lim} = 0.006$, es el valor a partir del cual el tejido conectivo granulado es estimulado [20].

$\Psi_{bone} = 0.03$, es el valor umbral para la formación de tejido óseo por calcificación intramembranosa [20].

$\Psi_{cartilago} = 0.1$, es el valor umbral para la formación de tejido óseo por osificación endocondral [20].

$\Psi_{condro} = 0.28$, es el valor umbral para la condrogénesis [20].

$\Psi_{crecimiento} = 0.6$, es el valor por encima del cual el tejido conectivo granulado crece, aumentando el volumen del callo óseo [20].

$\Psi_{fibro} = 0.85$, es el valor umbral para la fibrogénesis [20].

$\Psi_{patológico} = 1$, es el valor por encima del cual se presenta daño permanente en el tejido formado, lo que usualmente desencadena una atrofia que provoca una unión demorada o una no unión [20].

El tiempo de maduración de los condrocitos t_{cc} es de 15 días [27].

3. RESULTADOS

Se presenta en las figuras 9 y 10 los modelos correspondientes a la formación de la hemóstasis y del callo óseo inicial, formado por la proliferación y migración de las MSC. Este callo es el punto de partida

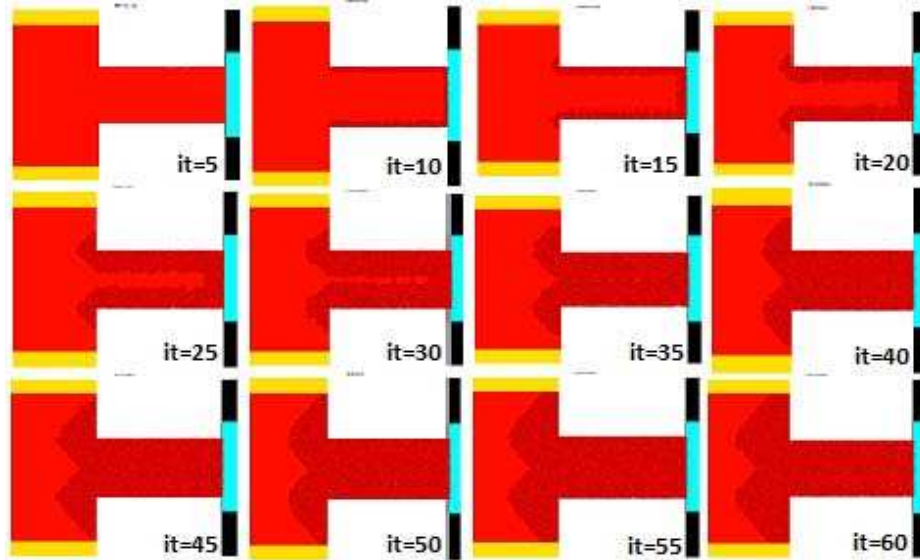


Figura 9. Proceso de hemóstasis en el espacio interfragmentario. El número en cada imagen corresponde con la iteración en el modelo. Este proceso toma lugar durante las primeras 48 horas de la lesión [42].

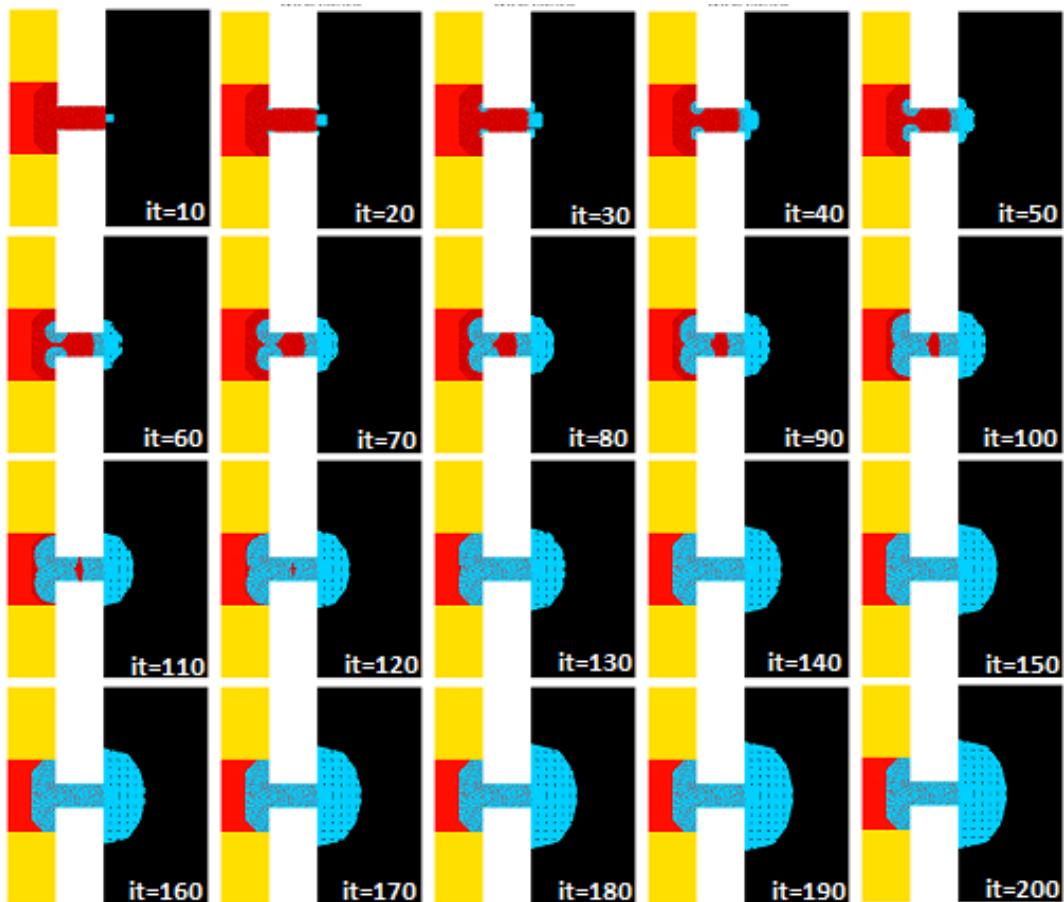


Figura 10. Callo blando inicial formado por tejido conectivo granulado utilizando reglas de proliferación y migración sin estímulo mecánico. El número en la imagen indica la iteración del proceso. Este se forma durante la primera semana de la lesión [42].

para todos los procesos de crecimiento y evolución que utilizan estímulo mecánico.

En las figuras 11 a 16 se presentan los resultados del modelo de crecimiento y evolución para tres casos distintos de cargas mecánicas (100 N, 150 N y 200 N), con dos frecuencias distintas de aplicación de la carga (cada dos días y cada semana).

Los resultados de las figuras 11 a 13 son de una simulación a 60 días, momento en el cual empieza a actuar plenamente la fase de remodelación ósea (no presentada aquí). Las figuras 14 a 16 presentan resultados de la simulación hasta el día 180, con el objeto de presentar la evolución del callo óseo aplicando únicamente el algoritmo de crecimiento y evolución.

Se presentan los resultados para tres magnitudes y dos frecuencias distintas de carga. Se observa que cada uno de estos casos presenta diferencias entre sí, debido a la influencia tanto de la magnitud de la carga aplicada como de la frecuencia de aplicación, variables de entrada del modelo de osteogénesis y reparación de fractura ósea.

Todos los casos partieron del mismo modelo inicial de callo (figura 10) y fueron divididos en dos grupos: evolución a 60 días y a 180 días

De acuerdo al conocimiento fisiológico de la reparación de fractura, el tamaño del callo es dependiente de la magnitud de estimulación mecánica en la zona de la lesión [27,42], también el movimiento interfragmentario provoca un crecimiento con posterior estabilización del callo en las regiones donde presente mayor movimiento relativo interfragmentario [20].

El modelo predice que cuando se presentan cargas bajas, el callo de tejido granulado permanece casi inalterable en diámetro y extensión longitudinal respecto al callo formado inicialmente. Las deformaciones son bajas y por tanto aumenta poco el volumen del callo.

En el caso de las últimas iteraciones presentadas en la figura 14, se hace muy evidente la aparición de dos protuberancias de tejido conectivo. La razón por la que estas se presentan obedece a la configuración del modelo acorde con la fisiología del proceso reparativo, el cual establece que cuando se presenta una adecuada maduración del condrocito, este se hipertrofia para ser calcificado. En este sentido, el cartílago hipertrofiado desplaza abruptamente sus tejidos aledaños hacia el exterior, provocando un incremento en el volumen del callo [8,27,28].

El modelo estima para este caso particular que la hipertrofia sucede en el espacio interfragmentario, donde solo existe un grado de libertad de movimiento para el tejido presente y de esta manera asigna un suave desplazamiento lateral de los tejidos evacuados. Aunque el crecimiento del condrocito es en dirección radial respecto al HCA que evoluciona de cartílago a hueso, la presencia de los extremos óseos impone una restricción de movimiento vertical, lo que limita el desplazamiento del tejido aledaño solamente a la dirección lateral. Fuera de este espacio interfragmentario el desplazamiento tisular sucede en todas las direcciones que rodean al HCA en la osificación endocondral. Este proceso también influye en el cambio de forma y volumen del callo.

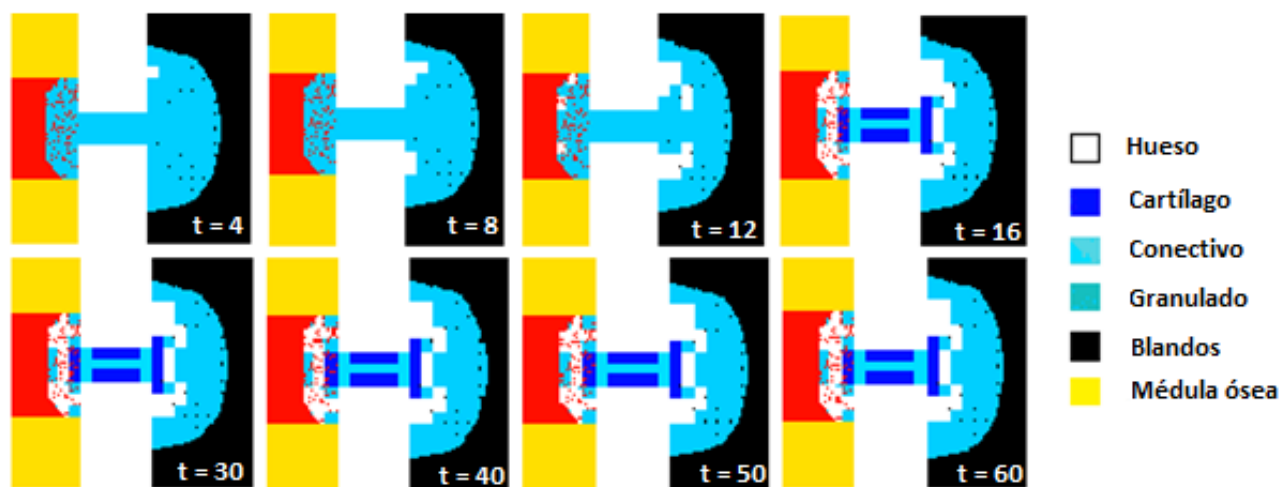


Figura 11. Crecimiento y evolución del modelo de callo óseo para una carga baja (100N) y frecuencia de carga cada 2 días durante 60 días. El número de cada imagen indica el tiempo de la evolución en días. Los tejidos presentes en el callo óseo son hueso (blanco), tejido conectivo granulado (azul cielo), tejido conectivo (cian) y cartílago (azul oscuro).

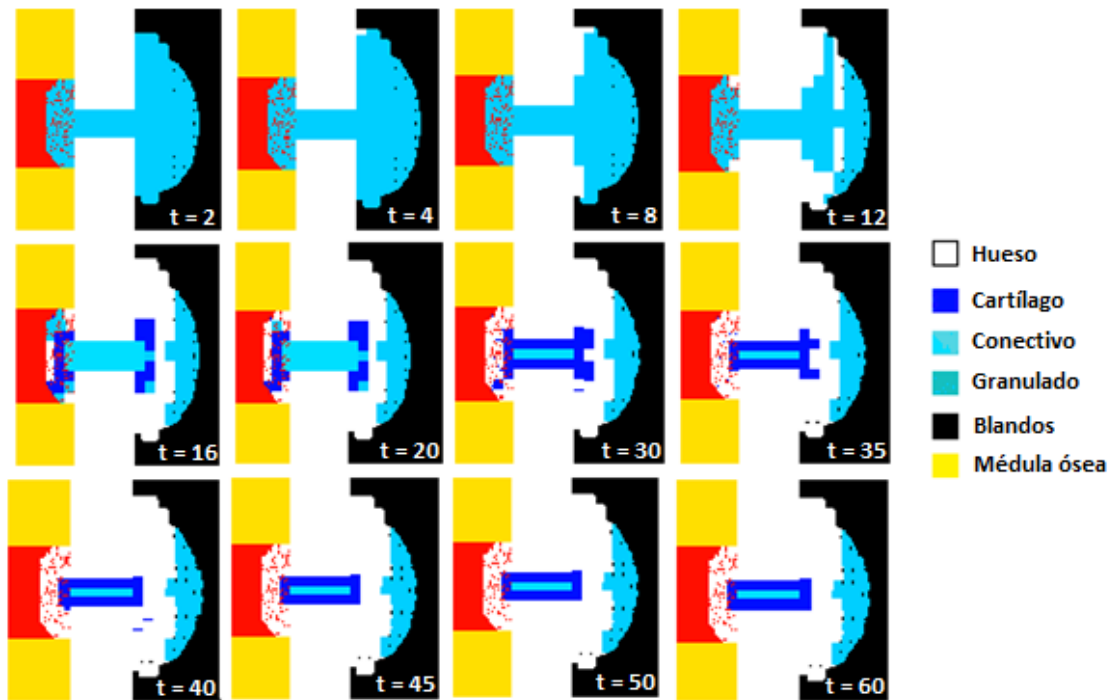


Figura 12. Crecimiento y evolución del modelo de callo óseo para una carga media (150N) y frecuencia de carga cada 2 días durante 60 días. El número de cada imagen indica el tiempo de la evolución en días. Los tejidos presentes en el callo óseo son hueso (blanco), tejido conectivo granulado (azul cielo), tejido conectivo (cian) y cartílago (azul oscuro).

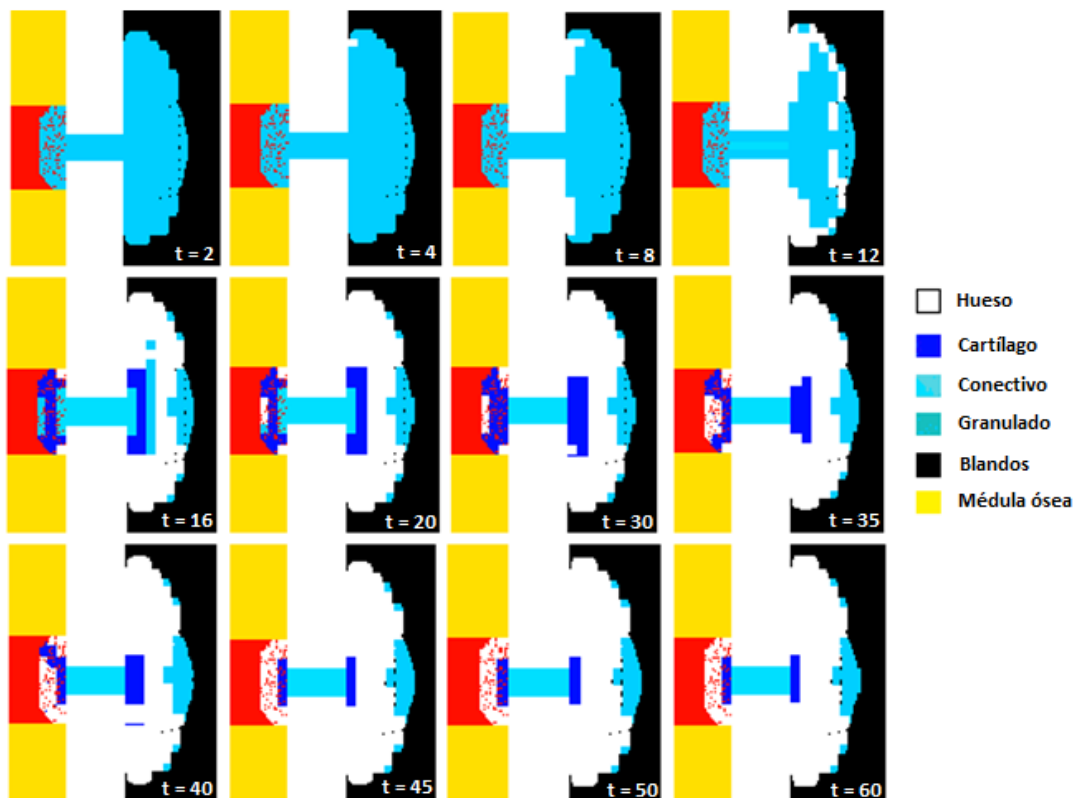


Figura 13. Crecimiento y evolución del modelo de callo óseo para una carga alta (200N) y frecuencia de carga cada 2 días durante 60 días. El número de cada imagen indica el tiempo de la evolución en días. Los tejidos presentes en el callo óseo son hueso (blanco), tejido conectivo granulado (azul cielo), tejido conectivo (cian) y cartílago (azul oscuro).

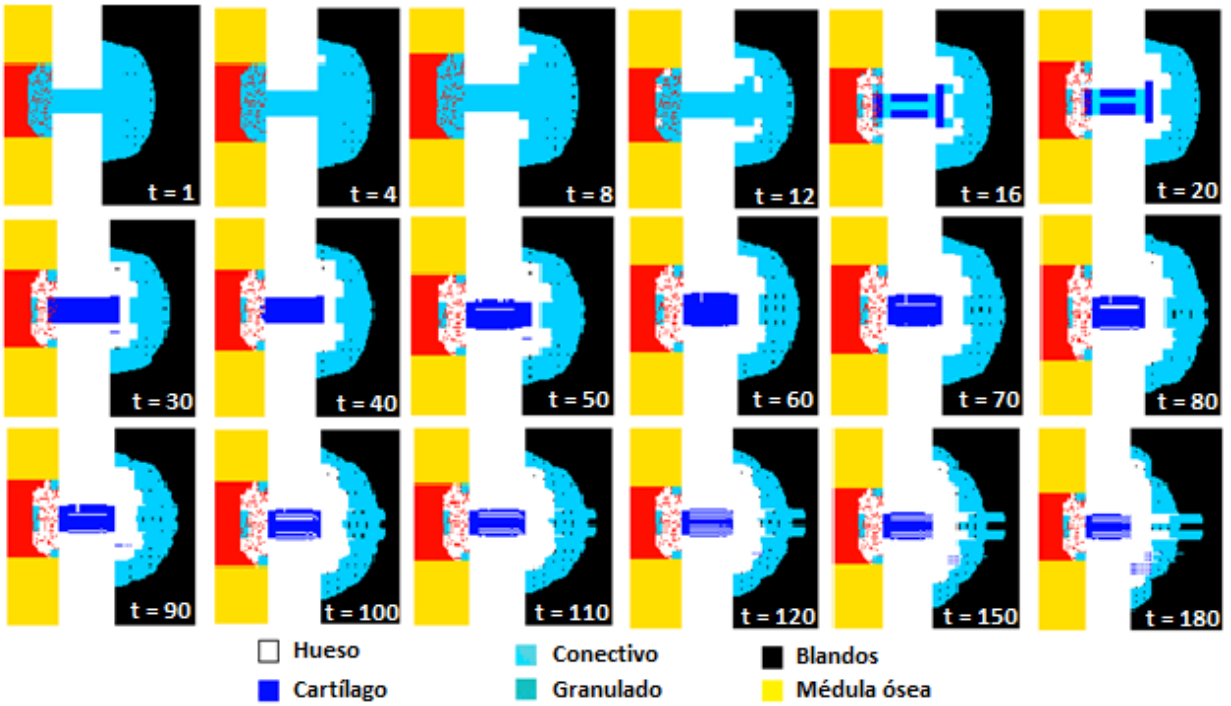


Figura 14. Crecimiento y evolución del modelo de callo óseo para una carga baja (100N) y frecuencia semanal de carga durante 180 días. El número de cada imagen indica el tiempo de la evolución en días. Los tejidos presentes en el callo óseo son hueso (blanco), tejido conectivo granuloso (azul cielo), tejido conectivo (cian) y cartílago (azul oscuro).

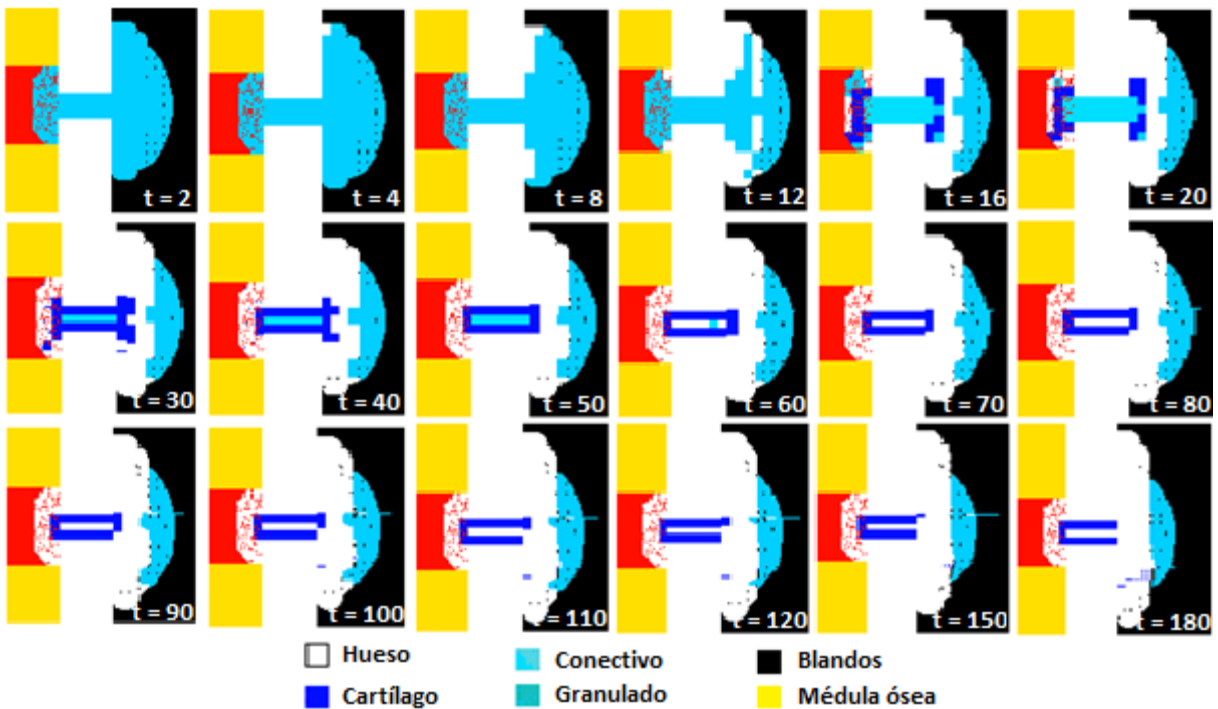


Figura 15. Crecimiento y evolución del modelo de callo óseo para una carga media (150N) y frecuencia semanal de carga durante 180 días. El número de cada imagen indica el tiempo de la evolución en días. Los tejidos presentes en el callo óseo son hueso (blanco), tejido conectivo granuloso (azul cielo), tejido conectivo (cian) y cartílago (azul oscuro).

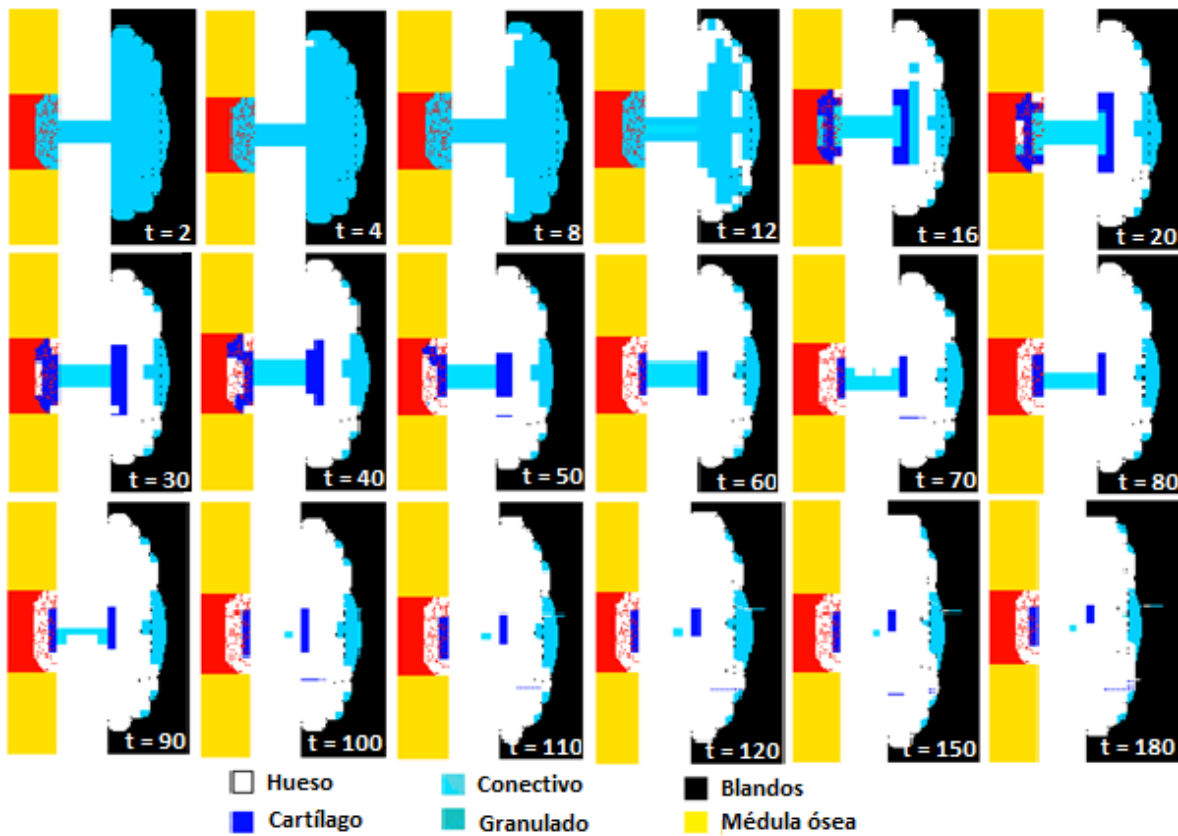


Figura 16. Crecimiento y evolución del modelo de callo óseo para una carga alta (200N) y frecuencia semanal de carga durante 180 días. El número de cada imagen indica el tiempo de la evolución en días. Los tejidos presentes en el callo óseo son hueso (blanco), tejido conectivo granulado (azul cielo), tejido conectivo (cian) y cartílago (azul oscuro).

En la biología ósea, este proceso es apenas normal y los excesos de tejido granulado son eliminados por macrófagos luego de la disminución de la hemóstasis o son reemplazados por otros tejidos pertenecientes al callo [28,42].

En los casos modelados de carga media y carga alta, el callo óseo crece en volumen y se expande radial y longitudinalmente. Esta razón obedece al hecho de que una carga más alta genera un mayor gradiente de deformaciones, lo que estimula al tejido acrecer y expandirse hasta que encuentre una estabilidad mecánica que le permita diferenciarse y calcificarse.

En términos de la morfología del callo óseo obtenido, la magnitud de la carga mecánica y la presencia de tejidos blandos adjuntos a la lesión (tales como músculos, fascias, tendones, ligamentos, etc., los cuales fueron tenidos en cuenta en este modelo) controlan la forma del crecimiento haciendo que el callo se extienda tanto radial como longitudinalmente, provocando formas irregulares que cubren el periostio del hueso lesionado. Vale la pena recordar en este momento que el modelo es axisimétrico y como tal ha sido mecánicamente estimulado y analizado.

En cuanto a la arquitectura del callo óseo y el proceso de evolución de tejidos, se observa una gran similitud frente a las evidencias histológicas y al conocimiento que se tiene respecto al proceso de la reparación ósea (figura 17). El modelo estima la aparición de los distintos frentes de formación tisular, donde se distingue inicialmente el frente de osificación intramembranosa procedente de las zonas alejadas del callo. A medida que este frente avanza, va extendiéndose hacia el centro e interior del callo. Pronto los frentes provenientes desde los extremos se encuentran en la zona media y conforman la primera columna rígida de soporte y estabilización.

En la región correspondiente al endostio se evidencia la diferenciación del tejido granulado en tejido conectivo y eventualmente en cartílago. Pronto estos tejidos se calcifican y disminuyen las deformaciones y los movimientos interiores en el tejido reparador.

En las zonas laterales a la lesión ósea se inicia un proceso de formación de cartílago que aporta la estabilidad mecánica necesaria para el avance de los procesos de diferenciación y calcificación. Se observa en todos los casos simulados que el tejido lateral que rodea el espacio interfragmentario presenta condrogénesis, debido principalmente a que hay un estímulo mecánico menor al existente en el espacio interfragmentario y a que estas

zonas carecen de angiogénesis, por lo que hay irrigación pobre y baja presencia de oxígeno, factores que favorecen la formación del tejido cartilaginoso. Este cartílago se extiende externamente hacia el periostio y el endostio de los segmentos óseos separados, estableciendo un puente de unión que disminuye los gradientes de deformación y que eventualmente se extenderá a la región interfragmentaria.

En el espacio interfragmentario, donde la irrigación sanguínea es rica y las condiciones mecánicas favorecen la fibrogénesis, se presenta la formación de tejido conectivo. El modelo estima la formación de este tejido y presenta los primeros frentes de diferenciación antes de finalizar la segunda semana. Muy pronto el modelo estima que la totalidad del espacio interfragmentario se diferencia en tejido conectivo que, de acuerdo a la magnitud del estímulo mecánico en cada caso, se diferencia en cartílago (casos de estímulo bajo y medio) o se calcifica (casos de carga media y alta).

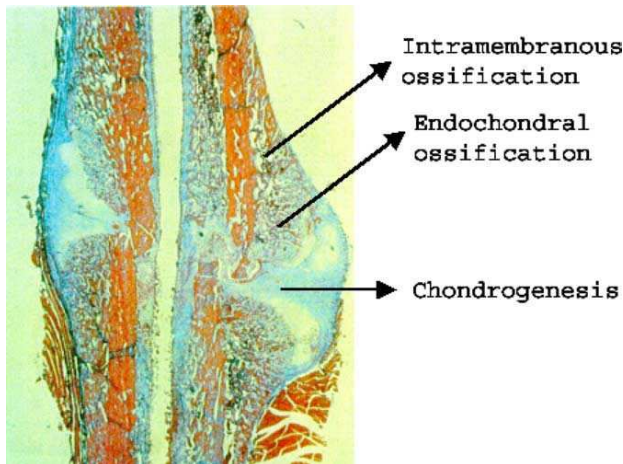


Figura 17. Corte histológico de un callo óseo en su noveno día presentando un proceso de osificación intramembranosa en el periostio y abundancia de tejido condroide adyacente al lugar de la fractura (condrogénesis) [13].

Llama la atención que en este modelo no todo el callo formado por la red de células mesenquimales tiende a diferenciarse en otros tejidos. Este suceso puede justificarse debido a que los tejidos más externos del callo blando carecen de un estímulo mecánico adecuado para que sus células inicien un proceso de diferenciación. También se justifica esta invariación en el sentido de que biológicamente no todas las células mesenquimales van a diferenciarse; estas permanecen como tales para atender cualquier necesidad fisiológica que el sistema biológico les demande y así, diferenciarse en la célula que el proceso requiera y solo cuando este lo requiera.

En cuanto a las poblaciones celulares presentes en el callo óseo y sus correspondientes producciones de matriz extracelular, se observa que su evolución en el tiempo (reflejado por la aparición y evolución de los tejidos) presenta correlación con los resultados presentados en otras investigaciones. Por ejemplo, Pisu et al. (2007) realizaron un modelo predictivo de comportamiento celular de las MSC en la reparación de fractura [37]. Su trabajo presenta las curvas experimentales de población celular y la fracción de tejidos presentes en el callo óseo para los primeros veinte días del proceso en un modelo tridimensional (figura 18).

Para efectos de validación, se escogió el proceso de crecimiento y evolución del callo cargado a 150 N y se estimaron en este los datos equivalentes a la población celular y a la fracción de tejidos presentes en el callo; se tuvieron en cuenta únicamente las MSC que se diferencian, dejando de lado aquellas que permanecen en reserva. Las curvas generadas en este análisis se calcularon con el promedio de la población celular y la fracción de tejidos de los submodelos que componen únicamente el callo óseo. Las estimaciones obtenidas se presentan en la figura 19.

4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El propósito de este modelo es simular el proceso de crecimiento y evolución de tejidos en la reparación de fractura ósea teniendo en cuenta la variación de amplitud y frecuencia de las cargas mecánicas aplicadas.

Con este modelo se busca estimar (i) la geometría y arquitectura interna del callo óseo y (ii) el tiempo de curación.

El modelo ha utilizado el paradigma de los autómatas celulares, capaces de configurar sistemas complejos con la aplicación de simples reglas de evolución. Usando este modelo, se desarrolló la simulación para casos de carga baja, media y alta, en función de las deformaciones principales generadas en el callo por la aplicación de la carga mecánica.

El modelo presenta una buena exactitud en lo relativo a la geometría del callo y su arquitectura interna a través del periodo de reparación, estimando la presencia de los diversos tipos de tejido en posiciones que brindan estabilidad mecánica para asegurar un buen proceso biológico de diferenciación y calcificación del tejido de unión. El modelo muestra en el callo el proceso de diferenciación en tejido conectivo con posteriores condrogénesis y osificación intramembranosa o endocondral.

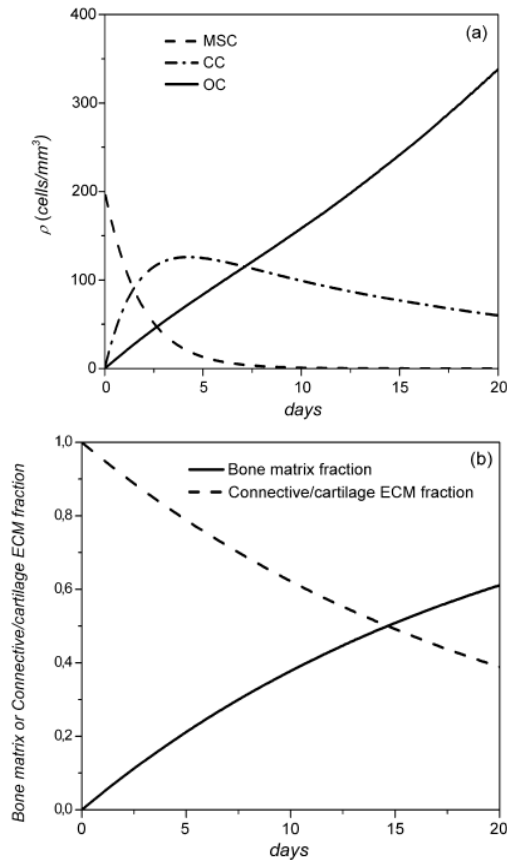


Figura 18. Comportamiento de densidad poblacional celular y fracción de tejidos de un modelo poblacional de reparación de fractura, presentado por Pisu et al. En la imagen superior se presenta la población de MSC, CC y OB; en la imagen inferior se presentan las fracciones de los tejidos óseo y fibrocartilaginoso. Ambas curvan en función del tiempo [37].

Este modelo presenta varias tasas de formación y calcificación de tejidos, relacionadas con la magnitud y la frecuencia de la carga aplicada. El modelo estima que bajo el efecto de las cargas bajas es suficiente con realizar la formación de tejido conectivo y cartílago interfragmentario mientras el exterior del callo es calcificado. Este resultado se puede interpretar como un resultado de la optimización biológica que hacen las células para generar tejidos que soportan la demanda mecánica presente. En ese sentido, si la carga mecánica no demanda al callo óseo, este se conformará con mantener un tejido no calcificado que garantiza la unión ósea y responde ante las cargas mecánicas bajas o nulas.

A su vez, en los callos cargados a escala media y alta se hace evidente que el espacio interfragmentario se refuerza en proporción a la carga mecánica que le demande, incrementando la cantidad de cartílago y hueso.

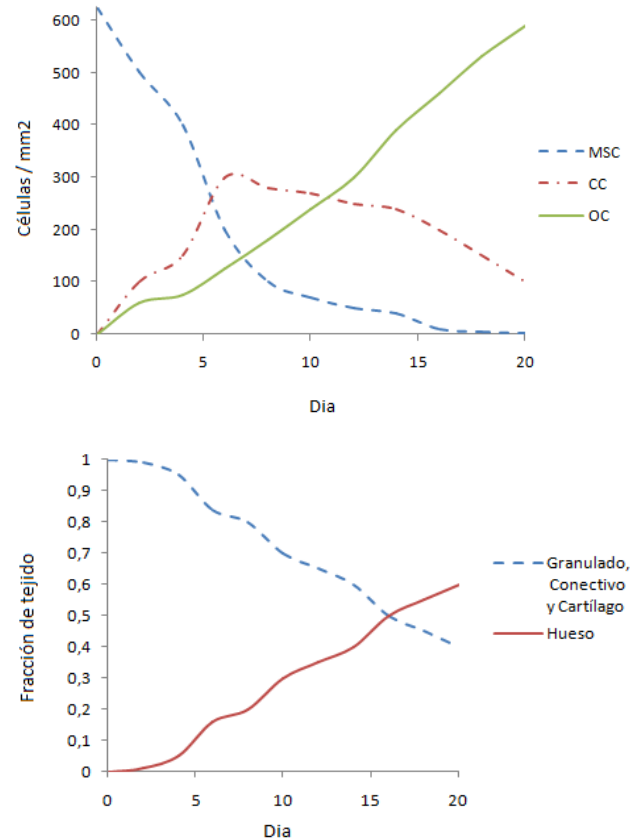


Figura 19. Datos del comportamiento de densidad poblacional celular (superior) y fracción de tejidos (inferior) para el modelo de callo óseo con carga de 150 N.

La variación de la frecuencia de carga se refleja en una buena estimación de los frentes de formación de los diversos tejidos y la estimación de un tiempo más exacto para determinar cuando estos aparecen, cuando crecen y cuando se calcifican. De acuerdo a Lacroix et al. (2002) y Gardner et al. (2003), las frecuencias muy altas o muy bajas de carga si bien no alteran la simulación del proceso reparador, pueden llegar a obtener resultados sesgados y parciales. En ese sentido sugieren que cargas entre dos y siete días pueden perfectamente representar las cargas reales para el modelo de reparación ósea [18,27].

Respecto a la estimación del tiempo de curación se observa que si bien el modelo está configurado para simular un proceso diario, este es altamente dependiente de la magnitud y frecuencia de carga aplicada. El modelo registra día a día la arquitectura y geometría del callo óseo para distintos días del proceso reparativo. Se observa en todos los casos una tendencia favorable de formación de tejidos a lo largo de la simulación y solamente se encuentran diferencias cuando los frentes de formación de tejido encuentran condiciones mecánicas y/o osteogénicas que varían para cada caso. En

conclusión, el modelo estima convenientemente el tiempo de crecimiento y diferenciación de tejidos.

Respecto a la metodología de los HCA, como aspecto por evaluar a futuro se puede mencionar la restricción geométrica impuesta en la arquitectura interior del callo, pues si bien el modelo refleja acertadamente la distribución interna de los diferentes tejidos del callo, los tejidos adoptan formas rectangulares en estas regiones debido principalmente a la limitante computacional que impone el proceso de análisis de los submodelos por elementos finitos. Si bien el modelo asigna un HCA por cada posición de la matriz de tejidos en el modelo, en el proceso de análisis por elementos finitos se adoptan submodelos que representan áreas de 1 mm^2 que contienen en su interior 625 HCA en arreglos de 25×25 autómatas.

Esta discretización se efectúa con el objeto de favorecer la eficiencia del modelo mientras se disminuye el tiempo de procesamiento y el gasto computacional, asignando nodos a los submodelos (grupo de autómatas) en lugar de hacer una asignación individual nodo - autómata. En consecuencia, no se tiene una respuesta mecánica individual para cada HCA, sino para un grupo de estos, lo que se refleja en que los autómatas vecinos entre sí se comportan casi que de forma idéntica.

Sin embargo, aumentar el número de submodelos no mejoraría sustancialmente el resultado del análisis y haría más demorado el proceso. El hecho de usar una escala que representa entidades de 1 mm^2 a través de un modelo cuyo dominio total está por encima de los 2000 mm^2 se puede considerar de buen grado de exactitud.

De acuerdo a la experiencia médica, el proceso de crecimiento y evolución de tejidos en una reparación de fractura puede variar considerablemente entre casos. Estas variaciones están causadas por factores como la magnitud y frecuencia de los estímulos mecánicos, el hueso lesionado y la región lesionada dentro de este, el tipo de fractura y la respuesta celular que el individuo posee, la salud del hueso como órgano, la edad, la actividad física y los hábitos alimenticios del paciente, entre otros. De acuerdo a todas estas variables, el proceso de diferenciación de tejidos puede demorar varios meses e incluso años.

También es conocido que cuando sucede una lesión ósea, los procesos celulares aumentan su velocidad en la zona lesionada para atender en el menor tiempo posible el proceso de curación ósea [43].

Todas estas variables deben tenerse en cuenta para cualquier análisis de crecimiento y evolución de tejidos en el callo óseo. La intención de este modelo es representar una fase del proceso de reparación ósea que se espera suceda si nada extraordinario ocurre en el proceso biológico normal. El proceso completo incluye

además la formación del callo blando por hemóstasis en la etapa de inflamación, previa al crecimiento y evolución de los tejidos, y el remodelamiento del callo duro, fase posterior a la presentada en este artículo y cuyo estudio y presentación motiva a la construcción de un nuevo artículo donde se presenta la finalización del proceso de Osteogénesis y reparación de fractura ósea iniciado con este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue posible gracias a la colaboración del departamento de Ingeniería Mecánica de la Universidad Autónoma de Manizales y su grupo de investigación "Diseño Mecánico y desarrollo industrial".

REFERENCIAS

- [1] Ament Ch. and Hofer E.P. "A fuzzy logic model of fracture healing". Journal of Biomechanics, 33:961-968, 2000.
- [2] Arias A.J. and Tovar A. "Bone density distribution predicted with cellular automata in a hierarchical orthotropic algorithm". In Proceedings of III international congress on computational bioengineering, pages 77{83, 2007.
- [3] Arias A.J. Tovar A. and Bolívar R. "Coeficientes elásticos anisotrópicos por elementos finitos de un modelo computacional de hueso trabecular". In II congreso colombiano de Bioingeniería, 2005.
- [4] Bick T. Jacob Z.C. Stein H. Rozen N., Lewinson D. and Soudry M. "Fracture repair modulation of fracture callus and mechanical properties by sequential application of il-6 following pth 1-34 or pth 28-48". Bone, 41:437-445, 2007.
- [5] Bishop N. "mechanical stimulation of bone healing" Ph.D. Thesis. Hamburg University of Technology. 2007.
- [6] Blenman P.R. Carter D.R. and Beaupré G.S. "Correlations between mechanical stress history and tissue differentiation in initial fracture healing". Journal of Orthopaedic Research, 6:736-748, 1988.
- [7] Brighton C. "Principles of fracture healing part I the biology of fracture repair". Lectures of American Academy of Orthopaedic Surgeons, 31:60-82, 1984.
- [8] Buhl M. Baumgaertel F. and Rahn B.A. "Fracture healing in biological plate osteosyn-thesis". Injury, 293:SC3SC6, 1998.
- [9] Carter D.R. Blenman P.R. and Beaupré G.S. "Role of mechanical loading in progressive ossification of a

- fracture callus*". Journal of Orthopaedic Research, 7:389-407, 1989.
- [10] Claes L. Shefelbine S.J., Augat P. and Simon U. "Trabecular bone fracture healing simulation with finite element analysis and fuzzy logic". Journal of Biomechanics, 38:2440-2450, 2005.
- [11] Cowin S. "Bone Mechanics Handbook". 2 edition, 2001.
- [12] Deutsch A. and Dormann S. "Cellular automaton modeling of Biological pattern formation: Characterization, applications and analysis". 2004.
- [13] Doblaré M. García J.M. and Gómez M.J. "modeling bone tissue fracture and healing: a review". Eng Fract Mech, 71: 1809-1840, 2004.
- [14] Einhorn TA. "The cell and molecular biology of fracture healing". Clin orthop Rel Res, 355: S7-S21, 1998.
- [15] Evans M. Simpson A.H.R.W., Gardner T.N. and Kenwright J. "Stiffness, strength and healing assessment in different bone fractures. a simple mathematical model". Injury, Int. J. Care Injured, 31:777-781, 2000.
- [16] Farach-Carson M. Brooner F. and Mikos A. "Engineering of functional skeletal tissues". 2007.
- [17] Gannong W. "Fisiología médica". 1986.
- [18] Gardner T.N. and Mishra S. "The biomechanical environment of a bone fracture and its influence upon the morphology of healing". Medical Engineering & Physics, 25:455-464, 2003.
- [19] Giori N. J. Carter D.R., Beaupré G.S. and Helms J.A. "Mechanobiology of skeletal Regeneration". Clinical Orthopaedics, s355:s41-s55, 1998.
- [20] Gómez-Benito M.J. Doblaré M. García-Aznar J.M., Kuiper J.H. and Richardson J.B. "Computational simulation of fracture healing influence of interfragmentary movement on the callus growth". Journal of Biomechanics, 40:1467-1476, 2007.
- [21] Heller M. Goldhahn J. Moser R. Hehli M. Claes L. Duda G.N., Mandruzzato F. and Haas N.P. "Mechanical boundary conditions of fracture healing borderline indications in the treatment of unreamed tibial nailing". Journal of Biomechanics, 34:639-650, 2001.
- [22] Huang S. Colnot C. and Helms J. "Analyzing the cellular contribution of bone marrow to fracture healing using bone marrow transplantation in mice". Biochemical and Biophysical Research Communications, 350:557-561, 2006.
- [23] Huiskes R. Prendergast P.J. and Soballe K. "Biophysical stimuli on cells during tissue differentiation at implant interfaces". Journal of Biomechanics, 6:539-548, 1997.
- [24] Isaksson H. Huiskes R. and Van Donkelaar C.C. "Mechanical and mechanobiological influences on bone fracture repair". PhD thesis, Technische Universiteit Eindhoven, November 2007.
- [25] Jagodzinski M. and Krettek C. "Effect of mechanical stability on fracture healing: an update". Injury, Int. J. Care Injured, 38s1:s3-s10, 2007.
- [26] Kuiper J.H. Gómez-Benito M.J., García-Aznar J.M. and Doblaré M. "Influence of fracture gap size on the pattern of long bone healing a computational study". Journal of Theoretical Biology, 235:105-119, 2005.
- [27] Lacroix D. and Prendergast P.J. "A mechano-regulation model for tissue differentiation during fracture healing analysis of gap size and loading". Journal of Biomechanics, 35:1163-1171, 2002.
- [28] Lieberman J. and Friedlaender G. "Bone regeneration and repair, Biology and clinical applications". 2005.
- [29] McKibbing B. "The biology of fracture healing in long bones". Journal of Bone joint surgery, 60B:1501-62, 1978.
- [30] Melvin J. "Fracture mechanics of bone". Journal of Biomechanical Engineering Transactions of the ASME, 30:549-554, 1993.
- [31] Meyer U. and Wiesmann H. "Bone and cartilage engineering". 2006.
- [32] Morgan E. Keaveny T. and Yeh O. "Standard Handbook of Biomedical engineering: Bone mechanics". 2002.
- [33] Nigg B. and Herzog W. "Biomechanics of the musculoskeletal system". 2 edition, 1999.
- [34] Orr T. Beaupré G. and Carter D. "An approach for time-dependent bone modeling and remodeling-theoretical development". Journal of Orthopaedic Research, 8:651-661, 1990.
- [35] Petite H. and Quarto R. "Engineered bone". 2005.
- [36] Pilote M. Hutchison C. and Roy S. "The axolotl limb a model for bone development, regeneration and fracture healing". Bone, 40:45-56, 2007.

- [37] Pisu M, Concas A. and Cao G. “*a novel simulation model for stem cells differentiation*”. *Biotechnology*, 130: 171-182, 2007.
- [38] Reed A. Brownlow H.C. and Simpson A.H.R.W. “*Growth factor expression during the development of atrophic non union*”. *Injury*, 32:519-524, 2001.
- [39] Roa M. Garzón D. and Cortés C. “*Análisis por elementos finitos del proceso de regeneración ósea*”. 2002.
- [40] Ruimerman R. “*Modeling and remodeling in bone tissue*”. 2005.
- [41] Schriefer J.L. Robling A.G. Warden S.J. Fournier A.J. Mason J.J and Turner C.H. “*A comparison of mechanical properties derived from multiple skeletal sites in mice*” *J Biomech*, 38: 467-475, 2007.
- [42] Sheldon R. “*Orthopaedic Basic Science: Bone Injury, regeneration and repair*”. 1994.
- [43] Simon S.R. “*Orthopaedic Basic Science*”. 1994.
- [44] Simon U. Augat P. Utz M. and Claes L. “*A numerical model of the fracture healing process that describes tissue development and revascularisation*”. *Computer methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, First published on 18 nov , 2010.
- [45] Tovar A. “*Bone remodeling as a hybrid cellular automaton optimization process*”. PhD thesis, University of Notre Dame, December 2004.
- [46] Van Donkelaar C.C. Mediavilla J. Wilson W. Huiskes R. Isaksson H., Comas O. and Ito K. “*Bone regeneration during distraction osteogenesis mechano-regulation by shear strain and fluid velocity*”. *Journal of Biomechanics*, 40:2002-2011, 2007.
- [47] Veziroglu F. and Yilmaz D. “*Biomechanical evaluation of the consolidation period of alveolar distraction osteogenesis with three-dimensional finite element analysis*”. *International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*, 10:1016, 2007.
- [48] Wang J. Zhao Y. Wang B. Zhao W. Sun W. Chen B., Lin Hang and Dai J. “*Homogeneous osteogenesis and bone regeneration by demineralized bone matrix loading with collagen targeting bone morphogenetic protein-2*”. *Biomaterials*, 28:1027-1035, 2007.

Capítulo 5

FASE DE REMODELACIÓN ÓSEA

5.1. Introducción

La segunda fase del proceso de osteogénesis y reparación de fractura desarrollado en este trabajo presenta la Remodelación ósea. Esta sucede en la superficie calcificada del callo óseo y consiste en la eliminación del hueso superficial redundante cuyo papel de soporte de carga mecánica ya ha sido transferido nuevamente al tejido fibrocartilaginoso presente en el espacio interfragmentario. Este proceso estimula la calcificación completa del tejido de unión y conduce la morfología del hueso hacia su forma original antes de la lesión.

5.2. Resumen

En este artículo se presenta la fase de remodelación ósea de un modelo computacional de Osteogénesis y curación ósea después de la fractura, utilizando Autómatas Celulares. El modelo es sometido a un análisis por elementos finitos para determinar sus estímulos mecánicos y en función de este parámetro obtiene la evolución de la remodelación ósea. El resultado presenta una estimación de la geometría final del hueso y del tiempo transcurrido en este proceso biológico.

Palabras clave: *Reparación de fractura ósea, remodelamiento, resorción, autómatas celulares, análisis por elementos finitos.*

Modelo computacional para la Osteogénesis y curación ósea después de la fractura. Segunda parte: fase de remodelación ósea

Andrés Julián Arias Moreno^{1,3}, Andrés Tovar Pérez², Diego Alexander Garzón-Alvarado²
ajariasm@unal.edu.co, atovar@unal.edu.co, dagarzona@bt.unal.edu.co

¹ Maestría en Ingeniería Biomédica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia

² Departamento de Ingeniería Mecánica y Mecatrónica, Universidad Nacional de Colombia

³ Departamento de Ingeniería Mecánica y Producción, Universidad Autónoma de Manizales

RESUMEN

En este artículo se presenta la fase de remodelación ósea de un modelo computacional de Osteogénesis y curación ósea después de la fractura, utilizando Autómatas Celulares. El modelo es sometido a un análisis por elementos finitos para determinar sus estímulos mecánicos y en función de este parámetro obtiene la evolución de la remodelación ósea. El resultado presenta una estimación de la geometría final del hueso y del tiempo transcurrido en este proceso biológico.

Palabras Clave

Reparación de fractura ósea, remodelamiento, resorción, autómatas celulares, análisis por elementos finitos.

NOMENCLATURA

| | |
|--------------|------------------------------------------------------------|
| BMU | Unidad Básica Multicelular |
| CA | Autómatas Celulares |
| CB | Condroblasto |
| CC | Condrocito |
| FB | Fibroblasto |
| HCA | Autómatas Celulares Híbridos |
| J_2 | Segunda invariante del tensor deviatorico de deformaciones |
| MSC | Célula madre mesenquimal |
| OB | Osteoblasto |
| OC | Osteocito |
| OCL | Osteoclasto |
| ϵ_i | Deformación principal en la dirección i -ésima |

1. INTRODUCCIÓN

La reparación de fractura ósea es un proceso autoregenerativo del hueso donde los segmentos óseos

lesionados -y generalmente separados- se unen a través de un tejido de cicatrización denominado callo óseo [40,42].

En la etapa final del proceso y, posterior a la formación del callo duro (callo calcificado), se presenta la remodelación ósea. Actividad celular caracterizada por la resorción del material óseo redundante en el callo de unión y el reemplazo del hueso nuevo por hueso lamelar [28,40,42]. Esta actividad se concentra en las superficies externas del hueso, correspondientes al periostio y el endostio en el hueso cortical [42,45].

En la reparación de fractura ósea, este proceso consiste en la formación de hueso a lo largo de las líneas de esfuerzo mecánico y una disminución gradual del volumen del callo óseo hasta alcanzar una estabilidad óptima, donde la geometría final del hueso es similar a la que tenía antes de ocurrida la fractura [28].

A pesar de que se han realizado varios modelos predictivos para estudiar el proceso de reparación de fractura ósea, muchos de estos modelos analizan la fase reparativa y son pocos los que enfocan su esfuerzo en estudiar los factores que afectan el proceso de remodelación ósea en la reparación de fractura. Huiskes et al. (1997) establecieron una teoría para la remodelación ósea, mas tarde retomada por Ruimerman et al. (2005) en la que los OC sensan la densidad de energía de deformación y envían una señal hacia la superficie del hueso para activar o inhibir la actividad de los Osteoclastos (OCL) y los Osteoblastos (OB). El modelo matemático desarrollado asume que esta señal de activación o inhibición decae exponencialmente con la distancia entre el Osteocito (OC) y la superficie ósea. La señal de activación total se estima como la suma de todas las señales enviadas por los OC. Los resultados obtenidos muestran regiones en la superficie del hueso donde se acumularon señales de formación o resorción ósea, que

eran referenciadas respecto a umbrales de formación o remodelación ósea [40]. Schfiefer et al. (2005) realizaron un modelo predictivo de resorción ósea usando modelos morfológicos de callo óseo generados como mallas de elementos finitos para analizar los procesos de remodelación ósea. Estos modelos fueron reconstruidas a partir de micro tomografías computarizadas (TC) de callo óseo tomadas en ratones de laboratorio. Los modelos fueron estimulados a distintas cargas mecánicas en compresión axial y torsión. Se concluyó que las distintas cargas mecánicas generan variaciones en la densidad ósea del callo durante la remodelación ósea. Incluso se observó la formación de cortezas óseas duales temporales en las etapas posteriores a la remodelación. Estas características fueron confrontadas con histologías óseas practicadas a los mismos ratones, encontrando similitudes en la variación de la densidad ósea pero diferencias en cuanto a la morfología del callo cargado a compresión, lo que explicaron como una imposibilidad de alterar la programación celular en la formación del hueso, la cual definen como independiente del modo de carga [41].

En este trabajo se presenta la etapa final de un modelo computacional para la osteogénesis y curación ósea después de la fractura, correspondiente a la fase de remodelación ósea, utilizando para ello el paradigma de los autómatas celulares. El objetivo es simular el proceso de remodelación ósea mediante parámetros de estímulo mecánico, tales como amplitud y frecuencia de carga mecánica, para predecir la arquitectura y geometría del callo óseo así como el tiempo de curación. El modelo asume que el proceso se desarrolla en condiciones normales y sin ningún tipo de patología.

El enfoque novedoso de este trabajo radica en modelar este proceso de resorción simulando el comportamiento de las células encargadas del proceso, donde se plantea la hipótesis de que las células solamente conocen las variables locales que les rodean, como por ejemplo el estímulo mecánico local. También es un aporte al escaso número de modelos que estudian los procesos de remodelación ósea.

Los resultados obtenidos presentan semejanzas morfológicas respecto a las evidencias histológicas observadas. El modelo realiza un seguimiento temporal de la resorción en días para estimar el tiempo final de curación ósea. Este modelo puede ser de utilidad para los especialistas que atienden los procesos de reparación de fractura, permitiéndoles establecer cuál es el mejor procedimiento a seguir para apoyar la reparación ósea después de la fractura, controlando las cargas mecánicas de estímulo al callo. Así mismo puede ser empleado como modelo básico para analizar el proceso de remodelación ósea cuando se presentan anomalías y/o enfermedades relacionadas con el proceso de resorción.

Descripción del Proceso Fisiológico

El proceso de remodelación ósea es controlado por la unidad básica multicelular (BMU), que es un grupo compuesto por los osteoblastos (OB), los osteocitos (OC) y los osteoclastos (OCL) [33], figuras 1 y 2.

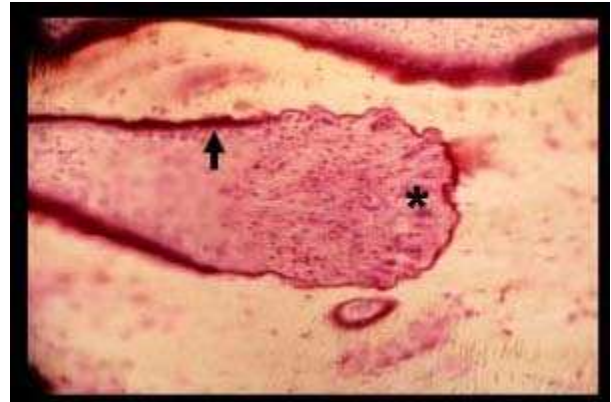


Figura 1. Micrografía de una Unidad Básica Multicelular (BMU) trabajando en un surco óseo. El asterisco (*) señala a los OCL's en el frente de resorción y la flecha (↑) señala a OB's depositando osteoide [28].

Los OC poseen una capacidad mecanosensora que distingue las zonas del hueso que requieren ser calcificadas y las que deben ser reabsorbidas. Esta capacidad sensora se apoya en los gradientes de flujo y presión de los fluidos presentes en sus canaliculos [27,33,35]. Al sentir los estímulos mecánicos, los OC envían señales bioquímicas que activan a los OB y OCL presentes en la superficie del hueso para producir osteoide o realizar resorción ósea respectivamente [33,40].

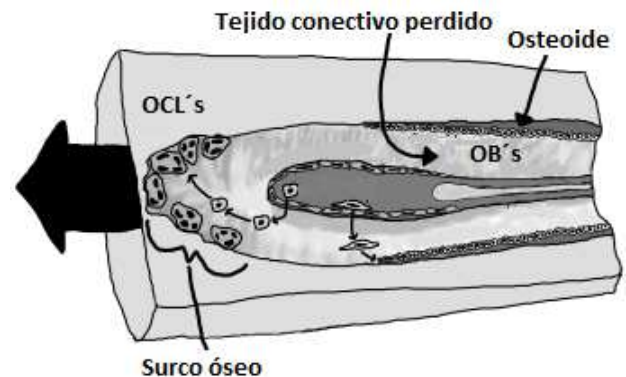


Figura 2. Representación de una Unidad Básica Multicelular (BMU) trabajando en un surco óseo [28].

Cuando los OCL reciben las señales bioquímicas de activación, inician su labor de disolver el hueso en las

áreas superficiales que tienen una demanda mecánica baja o nula [40]. Los OCL forman entonces un frente de resorción que va perforando la superficie ósea formando una cavidad denominada surco óseo [28,45]. Cada OCL disuelve hueso a una velocidad de hasta $40 \mu\text{m}/\text{día}$ en un surco óseo que puede extenderse hasta $100 \mu\text{m}^2/\text{día}$ [33]. En la parte posterior del surco se encuentran los OB que van depositando osteoide a una velocidad de $10 \mu\text{m}/\text{año}$ [33].

Debido a la remodelación ósea, el callo óseo disminuye su volumen hasta desaparecer casi completamente en un proceso que puede tardar desde varias semanas hasta incluso años [42].

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Autómatas Celulares

El modelo desarrollado utiliza el paradigma de los Autómatas Celulares (CA), pequeñas máquinas dinámicas ubicadas individualmente en celdas pertenecientes a una red regular uniforme conocida como dominio [12,45].

Los CA poseen un estado único discreto espacio-temporal $S(t)$ que cambia gracias a las reglas de evolución; estas se aplican en función a que el autómata conoce únicamente su estado propio y el de sus vecinos inmediatos $N_{(r)}(t)$, es decir, el CA actúa y evoluciona por interacciones locales [12,45].

El modelo presentado es un sistema estático dentro del cual actúan los CA, representando así un modelo de hueso con comportamientos celulares dinámicos de evolución y adaptación ósea. Por esta relación se definen los Autómatas Celulares Híbridos (HCA) como elementos individuales con dinámica biológica que forman un tipo específico de tejido componente, producto del proceso celular simulado [45].

2.2 Modelo matemático

El modelo propuesto para la fase de remodelación ósea tiene en cuenta el comportamiento celular de las BMU. Estas células se activan cuando ha transcurrido el tiempo necesario para su maduración mientras que la resorción empieza cuando la superficie del callo óseo tiene el estímulo mecánico adecuado para dar inicio a este proceso. Las variables que controlan este modelo de comportamiento celular son: (i) la señal o estímulo mecánico ψ , (ii) el tipo de tejido $S_i(x,t)$ y (iii) el tiempo t . Estas permiten configurar las reglas de evolución de los HCA.

2.2.1. Remodelación ósea

El modelo propuesto de remodelación ósea tiene como punto de partida el callo óseo simulado en un estado avanzado de crecimiento y evolución de tejidos. La remodelación permanece activa mientras existan superficies óseas con estímulo mecánico inferior al umbral de remodelación ósea.

En el modelo, la magnitud de los estímulos mecánicos y sus consecuentes microdeformaciones presentes en el callo controlan el proceso de resorción [40,41]. Por tanto, el modelo desarrollado tiene en cuenta el segundo invariante del tensor deviatorico de deformaciones J_2 , calculado a partir de las deformaciones principales:

$$J_2 = \frac{1}{6} [(\varepsilon_1 - \varepsilon_2)^2 + (\varepsilon_2 - \varepsilon_3)^2 + (\varepsilon_3 - \varepsilon_1)^2] \quad (1)$$

donde ε_i representa la deformación principal en la dirección i -ésima. El valor J_2 se calcula para cada región unitaria del modelo, denominada submodelo (subconjunto de autómatas), y es el parámetro para cuantificar el estímulo mecánico que será utilizado en las reglas de evolución de los HCA.

Previo al análisis mecánico de la matriz de tejidos, el módulo de Young (o módulo de elasticidad) de cada uno de los submodelos se calcula en función del módulo de Young de cada tejido presente en el submodelo mediante la regla de mezclas [28] dada por:

$$E = E_{\text{hueso}} \cdot \mu_{\text{hueso}} + E_{\text{cartilago}} \cdot \mu_{\text{cartilago}} + E_{\text{conect}} \cdot \mu_{\text{conect}} + E_{\text{otros}} \cdot \mu_{\text{otros}} \quad (2)$$

donde E_i representa el módulo de Young del tejido i mientras que el término μ_i es el porcentaje del tejido i presente en el submodelo.

La remodelación ósea se define entonces como una función de optimización que minimiza la densidad ósea ρ_i de la posición i del callo, sujeto a que la variación del estímulo mecánico entre el tiempo t y el tiempo $(t - 1)$ sea mayor que una señal de error (e^*) para efectos de convergencia y mientras el estímulo mecánico se encuentre en el umbral de remodelación Ψ_{remod} .

$$\min\{\rho_i\} = \rho_i(x, t) \quad (3)$$

sujeto a:

$$\frac{J_2(x,t) - J_2(x,t-1)}{J_2(x,t)} \leq e^*$$

$$J_2 \leq \varphi_{\text{remod}}$$

lo que significa que una celda ocupada por hueso permanecerá ocupada si su estímulo mecánico es mayor que el umbral de remodelación. A su vez, la celda que se encuentre en la superficie del callo cambiará su estado de hueso a tejido blando siempre y cuando su estímulo mecánico se encuentre en el umbral de remodelación y el modelo no haya alcanzado convergencia.

El algoritmo de remodelación ósea también elimina las redes de tejido conectivo granuloso que no han sido utilizadas en el proceso de reparación ósea. Este proceso sucede a partir del momento en que se cumple el 30% del tiempo total de reparación [25].

Los parámetros de configuración para las reglas de evolución de los HCA están dados por:

(a) El tipo de tejido de cada celda dado por la regla (de HCA), dado por:

$$S(t) = \begin{cases} S_H(t) = \text{Hueso} \\ S_C(t) = \text{Cartílago} \\ S_{TC}(t) = \text{Tejido conectivo} \\ S_{TCG}(t) = \text{Tejido conectivo granuloso} \\ S_M(t) = \text{Médula ósea} \\ S_{TB}(t) = \text{Tejido blando aledaño o coagulo} \end{cases}$$

(b) El tiempo. El modelo asume que cuando entra a actuar el algoritmo de remodelación, ya hay presencia de OCL's y macrófagos que eliminan el hueso y el tejido granuloso redundante. Por tanto, la variable de tiempo solamente controla la tasa de resorción.

En el modelo se realizan las siguientes suposiciones:

- Toda celda ocupada por algún tejido permanecerá ocupada para el resto del proceso mientras la remodelación ósea no le afecte.
- Toda posición de la matriz almacenará solo una de estas células a la vez: FB, CC u OB.

Las reglas de evolución R_i de los HCA se configuran de acuerdo al estado actual $S_i(t)$ de cada autómatas, del estado de sus vecinos inmediatos, de la memoria del autómatas $S_i(t-1)$ y de otras variables externas [45]:

$$S_i(x, t+1) = R_i [S_i(x, t), S_i(x+\delta_l, t), \dots, S_i(x+\delta_m, t), S_i(x, t-1), S_i(x, t-T)] \quad (4)$$

En consecuencia, las reglas de evolución de los HCA para el modelo de remodelación ósea y la apoptosis en el

tejido granuloso se definen en función del estado $S_i(t)$ del autómatas y del tiempo transcurrido en el proceso.

Cuando el HCA presenta hueso, Estado $S_H(t)$. Las reglas R_i definidas son:

R_1 : el hueso se mantiene como tal si su estímulo mecánico es mayor al umbral de remodelación

$$S_H(t) \rightarrow S_H(t+1) \text{ si } J_2 > \Psi_{\text{remod}}$$

R_2 : el hueso es reabsorbido si el estímulo mecánico es menor al umbral de remodelación, siempre y cuando se encuentre en la superficie del callo. El nuevo estado del HCA puede ser un tejido conectivo granuloso (periostio) o médula en formación (endostio) [28]

$$S_H(t) \rightarrow S_{TCG}(t+1) \text{ si } J_2 < \Psi_{\text{remod}} \quad \text{en el periostio}$$

$$S_H(t) \rightarrow S_M(t+1) \text{ si } J_2 < \Psi_{\text{remod}} \quad \text{en el endostio}$$

Cuando el HCA presenta tejido conectivo granuloso, Estado $S_{TCG}(t)$. La regla R_i definida en esta etapa es:

R_3 : se presenta apoptosis celular si el estímulo mecánico esta en el umbral de remodelación

$$S_{TCG}(t) \rightarrow S_{TB}(t+1) \text{ si } J_2 < \Psi_{\text{remod}}$$

El algoritmo de remodelación ósea no actúa sobre el tejido conectivo ni sobre el cartílago, dejando estos tejidos bajo el control del algoritmo de crecimiento y evolución. De acuerdo a la magnitud del estímulo mecánico estos pueden osificarse o atrofiarse. Cuando ninguna de estas reglas se cumple, el algoritmo simplemente incrementa el tiempo de evolución.

2.3 Aspectos computacionales

En el modelo desarrollado se efectuaron simulaciones para curación ósea durante 180 días, donde la remodelación ósea se activó en el último 70% del proceso completo [25], es decir, a partir del día 54. En este punto, el callo óseo ya presenta su tamaño máximo de crecimiento y presenta todos los tipos de tejidos.

El algoritmo desarrollado en la fase de remodelación ósea consta de los siguientes pasos (figura 3):

Paso (a): Lectura de la matriz de tejidos. El algoritmo lee una matriz base donde cada posición representa un HCA cuyo estado corresponde con alguno de los tipos de tejido mencionados.

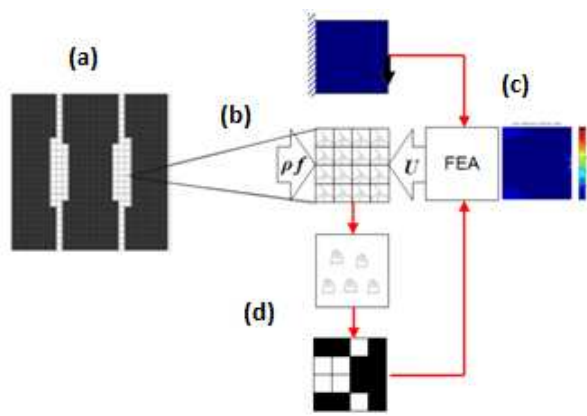


Figura 3. Esquema del algoritmo de remodelación ósea.

Paso (b): Extracción del submodelo. El algoritmo divide la matriz base de tejidos en pequeños submodelos a los cuales se les calculan sus propiedades mecánicas. Estas propiedades mecánicas son enviadas al modelo de análisis por elementos finitos.

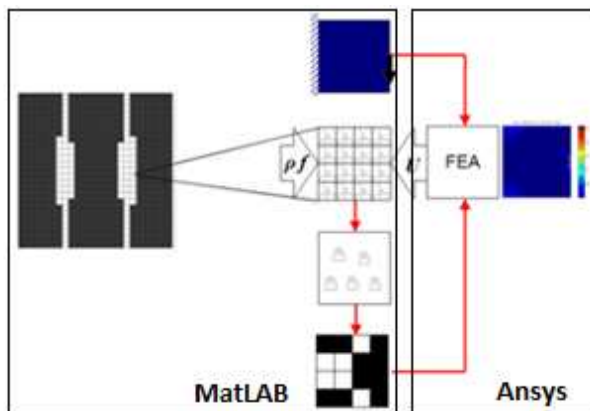


Figura 4. Interface desarrollada entre MatLAB y Ansys.

Paso (c): Análisis del modelo por Elementos Finitos (FEA). El modelo completo es sometido a un análisis por elementos finitos, donde cada submodelo se representa como una entidad componente del modelo. Este análisis aplica una carga en la parte superior del hueso modelado y calcula los estímulos mecánicos de cada submodelo, necesarios para aplicar las reglas de evolución de los HCA (fig. 4).

Paso (d): Aplicación de las reglas de evolución. El algoritmo aplica las reglas de evolución en cada HCA y actualiza la matriz de tejidos para el tiempo (t+1), presentando cambios que evidencian el crecimiento del callo, la formación y evolución de nuevos tejidos y el proceso de remodelación ósea. Este último aplicado únicamente a los autómatas que se encuentran en la superficie del callo óseo y cuyo estado es hueso (fig. 5).

El proceso se extiende hasta el final del modelo, en donde se alcanza a eliminar la totalidad de hueso redundante mediante la repetición del algoritmo de remodelación, hasta alcanzar una convergencia en la señal mecánica y la variación de la matriz de tejidos mediante optimización topológica.

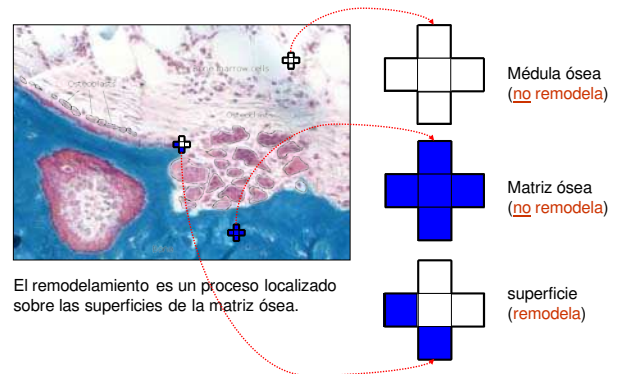


Figura 5. Esquema del proceso de remodelación ósea con Autómatas Celulares [45].

2.4 Modelo de prueba

La matriz de tejidos es bidimensional y tiene un tamaño de 1725 x 750. Cada elemento representa un HCA y su escala es referenciada por la densidad celular de Osteocitos (OC) en el hueso cortical, la cual se estima entre 12000 y 20000 OC/mm³ [11,28]; cada HCA representa entonces un OC en su lacuna, cuya dimensión media se estima en un diámetro de $d_{HCA} = 100 \mu m$ [45]. Se representa, pues, un modelo axisimétrico de 69 x 30 x 0.04 milímetros donde cada milímetro lineal contiene 25 HCA's.

De acuerdo al tamaño de cada célula especializada del callo, y en referencia a la dimensión del HCA, cada posición de la matriz de tejidos puede albergar solo uno de los siguientes grupos celulares a la vez: dos MSC (10 μm), un FB (18 μm), un CC (25 μm) o un OB (20 μm).

Cada submodelo obtenido de la matriz de tejidos es una matriz de 25 x 25 HCA (1 mm²) con tipo de frontera adiabática. La razón por la cual se extraen estos submodelos está justificada en función de disminuir el gasto computacional trabajando cada submodelo en paralelo.

El algoritmo de remodelación ósea busca aquellos autómatas cuyo estado sea hueso y se encuentren en la superficie del callo óseo, tanto en la zona periosteal como endostial. En algunas zonas del callo donde no hay hueso (posiciones ocupadas por otro tejido), el modelo las asume como superficies abiertas donde se presenta la posibilidad de encontrar un OCL en actividad. Esta situación se da en función a que cada posición almacena

por lo menos una MSC que nunca se diferenci6 en espera de ser activada posteriormente.

El modelo genera una matriz paralela del mismo tama1o de la matriz de tejidos, donde cada posici6n almacena el tiempo de formaci6n y maduraci6n del HCA de esa posici6n. En el algoritmo, esta matriz sirve para llevar un registro de los tiempos de maduraci6n requeridos para la activaci6n de los OCL (tres d1as a partir de la se1al mec1nica [20]) e iniciar el proceso de remodelaci6n 6sea.

Cada OCL puede actuar sobre una superficie cercana a las 100 μm^2 y alcanzar perforaciones de 40 $\mu\text{m}/\text{d1a}$ [11,28,45], lo que en la escala del modelo equivale a eliminar una posici6n de tejido 6seo por d1a.

De acuerdo a la evidencia m6dica, la magnitud de las cargas mec1nicas y sus consecuentes microdeformaciones en el callo controlan en gran medida la evoluci6n de los tejidos, la geometr1a externa de este y el proceso de remodelaci6n superficial. Las propiedades mec1nicas utilizadas en el modelo por cada HCA se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Propiedades mec1nicas utilizadas en el modelo de crecimiento y evoluci6n de tejidos en el callo 6seo [19].

| Tipo de Tejido | M6dulo de Elasticidad [MPa] | Relaci6n de Poisson |
|-------------------------------------|-----------------------------|---------------------|
| Hueso | 15750 | 0.325 |
| Cart1lago | 10 | 0.167 |
| Tejido conectivo y m6dula 6sea | 2 | 0.167 |
| Tejido conectivo granuloso | 1 | 0.167 |
| Hematoma y tejidos blandos aleda1os | 0.1 | 0.05 |

La vecindad utilizada por los CA en este modelo es la *vecindad Von Neumann*, caracterizada por tener en cuenta 6nicamente a los cuatro CA ortogonales al aut6mata central analizado. A su vez, el tipo de frontera definido para el dominio es la *frontera adiab1tica*, donde al aut6mata que se encuentra por fuera del dominio se le asigna como estado $S(t)$ el mismo estado que posee el aut6mata central analizado del cual es vecino inmediato, figura 6.

El valor del est1mulo mec1nico usado para el umbral de remodelaci6n 6sea Ψ_{remod} utilizado en el modelo han sido estimado en [20] y su valor es 0.008.

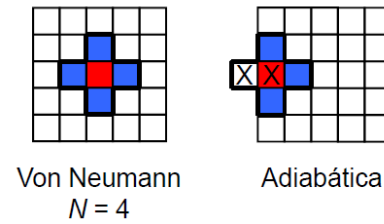


Figura 6. Vecindad Von Neumann (izquierda) y frontera Adiab1tica (derecha) establecidas en el modelo HCA.

3. RESULTADOS

Se presentan los resultados del modelo de remodelaci6n 6sea en el callo para tres casos distintos de cargas mec1nicas: 100 N, 150 N y 200 N.

La figura 7 presenta el estado en el que se encuentra el callo 6seo, para cada caso de carga, cuando inicia su actividad el proceso de remodelaci6n 6sea.

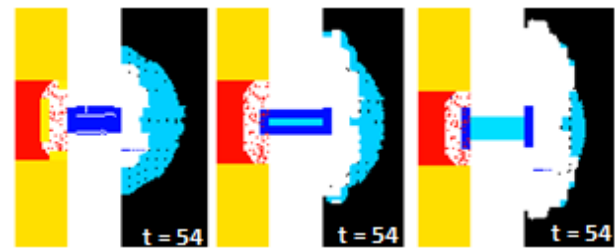


Figura 7. D1a 54 del ciclo de callo 6seo para 100N (izquierda), 150N (centro) y 200N (derecha). Punto de partida del proceso de remodelaci6n 6sea.

Las figuras 8, 9 y 10 ilustran la remodelaci6n del callo para las tres magnitudes de carga mencionadas con frecuencia semanal de aplicaci6n de la carga.

El algoritmo inicia cuando el modelo en cada caso lleva un tiempo de predicc1n de 54 d1as y se extiende hasta el final del mismo, entre 180 d1as (baja y media carga) y 300 d1as (carga alta).

El n6mero de iteraciones se extendi6 hasta cuando se present6 convergencia en la remodelaci6n.

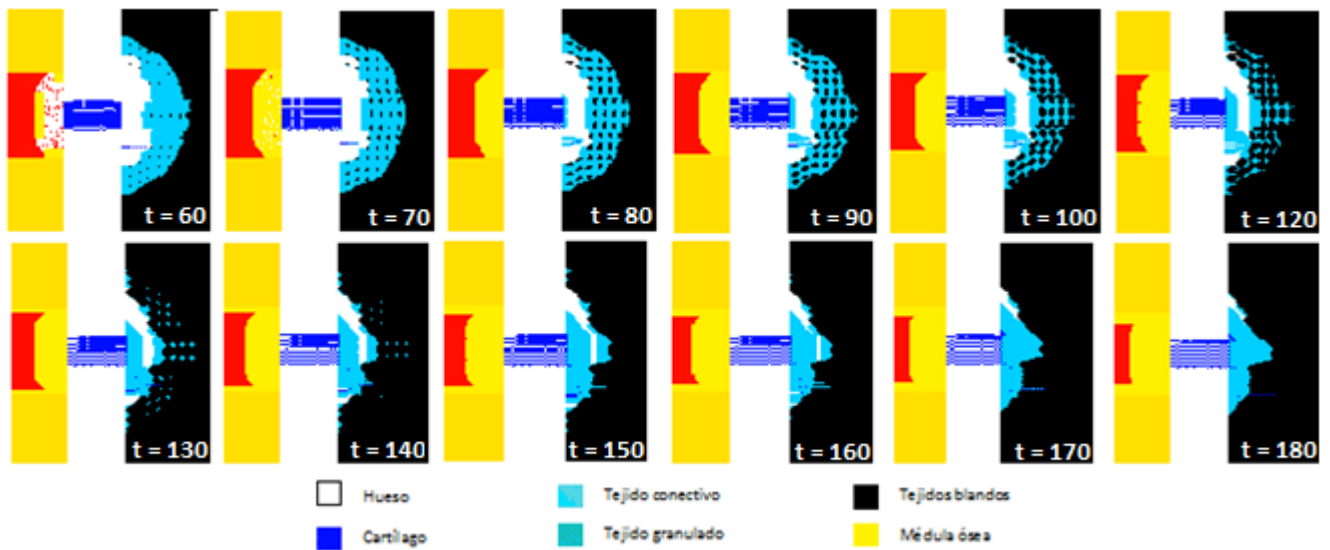


Figura 8. Crecimiento y evolución del modelo de callo óseo para una carga baja (100N) y frecuencia semanal de carga. El número de días de evolución se indica en cada figura. Los tejidos presentes en el callo óseo son hueso (blanco), tejido conectivo granuloso (azul cielo), tejido conectivo (azul cian) y cartilago (azul oscuro).

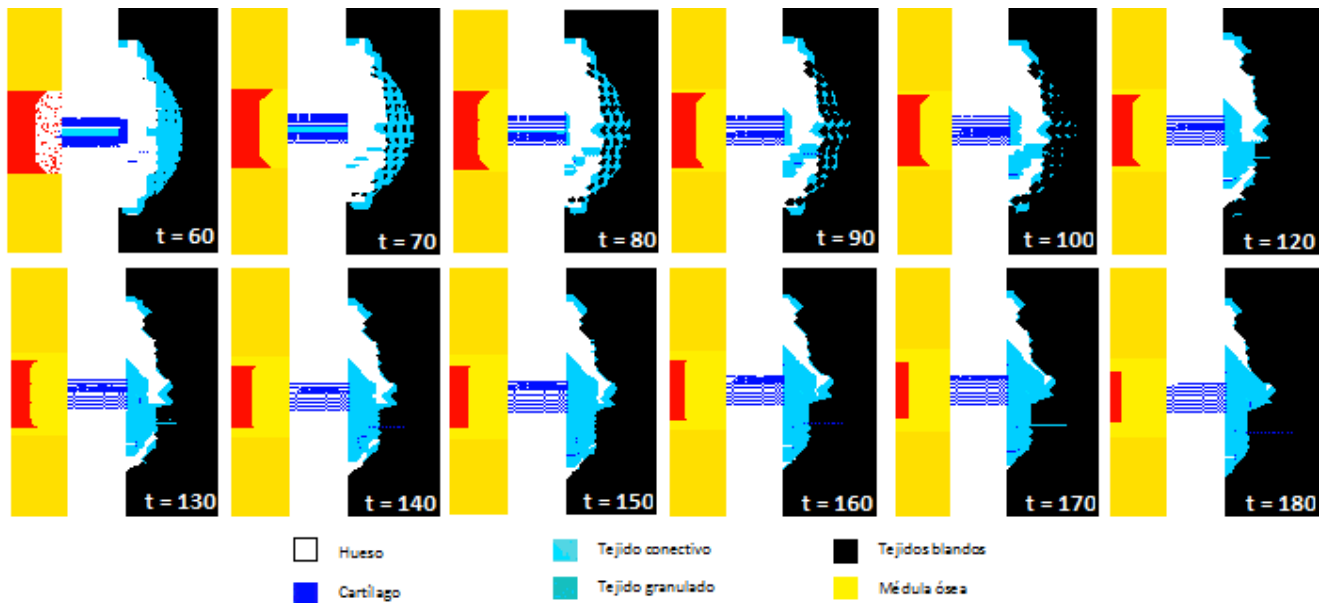


Figura 9. Crecimiento y evolución del modelo de callo óseo para una carga media (150N) y frecuencia semanal de carga. El número de días de evolución se indica en cada figura. Los tejidos presentes en el callo óseo son hueso (blanco), tejido conectivo granuloso (azul cielo), tejido conectivo (azul cian) y cartilago (azul oscuro).

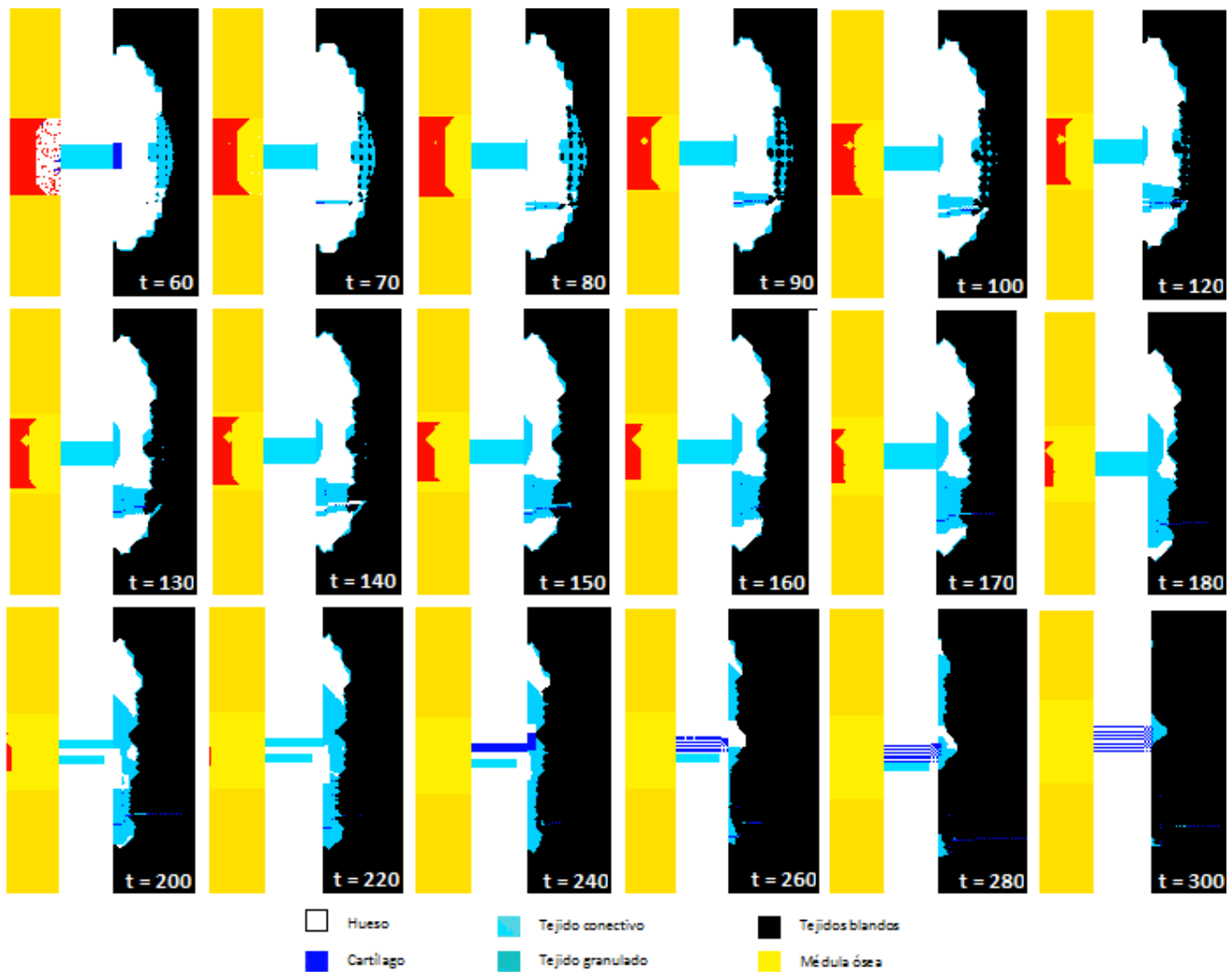


Figura 10. Crecimiento y evolución del modelo de callo óseo para una carga alta (200N) y frecuencia semanal de carga. Días: 60, 70, 80, 90, 100, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 200, 220, 240, 260, 280 y 300. Los tejidos presentes en el callo óseo son hueso (blanco), tejido conectivo granulado (azul cielo), tejido conectivo (azul cian) y cartílago (azul oscuro).

En el grupo de resultados de remodelación ósea (figs. 8, 9 y 10) se observa que se alcanzó una remodelación satisfactoria en las cargas baja y media sobre 180 días, mientras que el callo estimulado con la carga alta alcanzó convergencia sobre 300 días.

4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los procesos de remodelación ósea están controlados por la magnitud del estímulo mecánico. En el modelo se hace evidente que mientras el espacio interfragmentario incrementa su estabilidad mecánica y su capacidad de soportar cargas, en el callo óseo va disminuyendo la demanda mecánica. En consecuencia, empiezan a ser reabsorbidas las zonas superficiales del callo que ya han contribuido al proceso de curación ósea y que pasan a ser redundantes debido a que su papel de soporte mecánico

va siendo gradualmente asumido por el nuevo tejido interfragmentario calcificado.

Es así como se observa que el tejido presente en el espacio interfragmentario se diferencia primero en tejido conectivo y más tarde aparecen en este lugar varias formaciones de cartílago. A medida que avanza el proceso de remodelación ósea, los tejidos interfragmentarios van calcificándose hasta asumir completamente la responsabilidad del soporte de cargas. El modelo termina su acción cuando las magnitudes del estímulo mecánico cumplen la condición de convergencia y no generan más cambios en la configuración de los tejidos.

En los resultados presentados se observa que el callo óseo es reabsorbido más rápidamente en su parte inferior. Este comportamiento tendría su explicación en la

variación de la distribución del estímulo mecánico presente a lo largo del proceso de remodelación. Las líneas de esfuerzo buscan mantenerse a lo largo de la dirección de la diáfisis y por ello, no atraviesan la región inferior del callo cuando el espacio interfragmentario es mecánicamente estable y está en condición de soportar y transmitir esta distribución de esfuerzos. Esto hace que sea la región inferior del callo la que primero disminuye su estímulo mecánico alcanzando el umbral mecánico requerido para iniciar la remodelación ósea.

En la figura 11 se presentan dos cortes histológicos de callos óseos en la novena semana de reparación ósea obtenidos de la investigación de Bishop et al. [43]. El callo de la izquierda ha sido estimulado por cargas de compresión (tal como el ejercicio realizado en este modelo) y el de la derecha ha sido estimulado por cargas de torsión. La morfología del callo bajo estímulo de compresión muestra evidencias de resorción acelerada en uno de sus extremos.

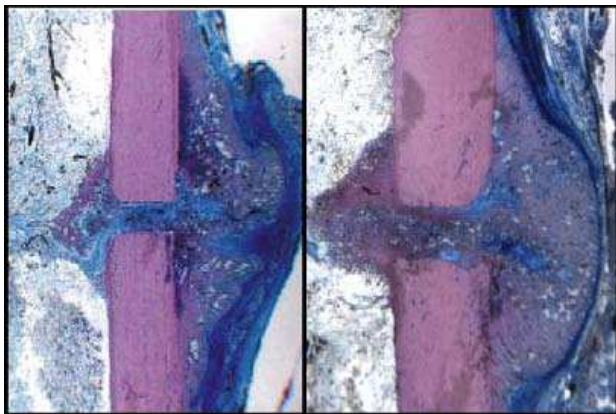


Figura 11. Cortes histológicos utilizados para comparación de morfología del callo externo durante el proceso de crecimiento y remodelación ósea (nueve semanas). La morfología de la izquierda corresponde a un estímulo mecánico de compresión. La morfología de la derecha corresponde a un estímulo mecánico de torsión. La investigación es de Bishop et al. [43].

Schriefer et al. (2005) utilizaron modelos morfológicos de callo óseo generados como mallas de elementos finitos para analizar los procesos de remodelación ósea. Estas fueron reconstruidas a partir de micro tomografías computarizadas (μ TC) tomadas en ratones de laboratorio en el día 21 del proceso reparativo de fractura, donde estiman que se inician los procesos de remodelación [44]. La evolución en la morfología del callo, debida al proceso de remodelación, se presenta en la figura 12.

Las imágenes obtenidas por Schriefer permiten comparar las morfologías a lo largo del proceso de remodelación ósea. Algunas de estas pueden describirse como

pequeñas protuberancias con remodelación a lo largo del proceso. Se observa en algunos casos la presencia de pequeños segmentos óseos que aún permanecen en espera de ser reabsorbidos.

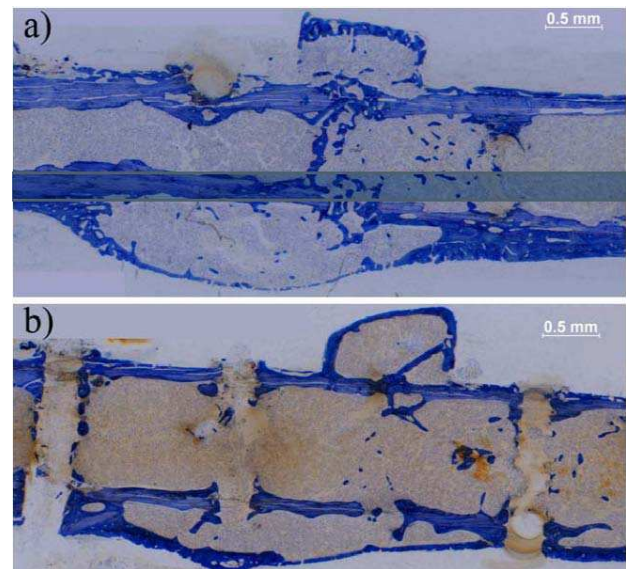
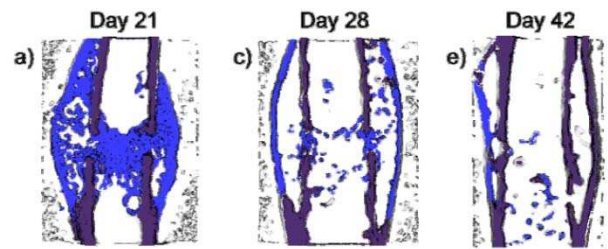


Figura 12. Reportes de Remodelación de callo óseo en ratones de laboratorio tomadas del dataset μ TC para los días 21, 28 y 42 del proceso reparativo (imágenes superiores). Histología de la sección sagital del callo óseo a los a) 28 días y b) 42 días. (Imágenes media e inferior). Schriefer et al. (2005) [44].

Las imágenes obtenidas por Schriefer muestran un ejemplo de la evolución de la remodelación en el proceso de reparación de fractura ósea. En estas imágenes se observa la remodelación ósea no es un proceso homogéneo sobre toda la superficie del callo, pues se presentan distintos frentes de BMU's que hacen resorción a diferentes velocidades de avance. Esta condición explica la influencia de la heterogeneidad de las señales mecánicas de estímulo.

Un aspecto a tener en cuenta en el desarrollo del modelo es la morfología con tendencias geométricas impuesta en la arquitectura del callo, pues si bien el modelo refleja acertadamente la distribución de los diferentes tejidos del callo, adopta formas lineales en estas regiones debido principalmente a la limitante computacional que impone

controlar el número de nodos y áreas en el proceso de análisis por elementos finitos. Si bien el modelo asigna un HCA por cada posición de la matriz de tejidos en el modelo, en el proceso de análisis por elementos finitos se adoptan los submodelos como unidades de análisis, los que contienen en su interior 625 HCA en arreglos matriciales de 25 x 25 autómatas.

Esta discretización se efectúa en busca de favorecer la eficiencia del modelo mientras se disminuye el tiempo de procesamiento y el gasto computacional, asignando nodos a grupo de autómatas en lugar de hacer una asignación individual nodo-automata. En consecuencia, no se tiene una respuesta mecánica individual para cada HCA sino para un grupo de estos, lo que se refleja en que los autómatas vecinos entre sí se comportan casi que de forma idéntica.

Sin embargo, incrementar el número de submodelos (reduciendo el área de cobertura de cada uno) o incrementar el número de nodos por submodelo no cambia sustancialmente los resultados del análisis y sí hace más demorado el procesamiento computacional, razón por la cual se considera que se logra un buen proceso de modelamiento y unos resultados confiables a la escala utilizada.

En conclusión, el proceso de remodelación ósea obtiene resultados influenciados en gran medida por las variaciones del estímulo mecánico durante el proceso de reparación ósea. Cada uno de los tejidos especializados, presentes en el callo reparador, responde a las condiciones mecanobiológicas de su entorno, evolucionando en la calcificación, remodelación o atrofia. También pueden presentarse alteraciones en el proceso normal de la reparación ósea, debidas principalmente a factores externos al proceso como el estado de salud del hueso o de las células involucradas, gradientes anormales de oxígeno o irrigación sanguínea y los hábitos del paciente, entre otros.

El proceso de remodelación en el modelo desarrollado evidencia una tasa heterogénea de resorción sobre las diversas regiones del callo modelado. La variación del estímulo mecánico afecta la decisión de los autómatas para actuar o no sobre una superficie ósea y mientras estos sean soporte mecánico para la unión de los segmentos óseos lesionados, no tomarán en cuenta realizar la remodelación.

Solamente aparecerá la remodelación ósea cuando la unión interfragmentaria calcificada tenga la capacidad de soportar las cargas mecánicas presentes en este órgano. En esa circunstancia, los autómatas con estado de tejido óseo evalúan si su demanda mecánica ha disminuido o desaparecido para entender que han pasado a ser redundantes y así iniciar su resorción.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue posible gracias a la colaboración del Grupo de Diseño Mecánico y desarrollo industrial "Archytas" de la Universidad Autónoma de Manizales, Manizales, Colombia.

REFERENCIAS

- [1] Ament Ch. and Hofer E.P. "A fuzzy logic model of fracture healing". *Journal of Biomechanics*, 33:961-968, 2000.
- [2] Arias A.J. and Tovar A. "Bone density distribution predicted with cellular automata in a hierarchical orthotropic algorithm". In *Proceedings of III international congress on computational bioengineering*, pages 77{83, 2007.
- [3] Arias A.J. Tovar A. and Bolívar R. "Coeficientes elásticos anisotrópicos por elementos finitos de un modelo computacional de hueso trabecular". In *II congreso colombiano de Bioingeniería*, 2005.
- [4] Bick T. Jacob Z.C. Stein H. Rozen N., Lewinson D. and Soudry M. "Fracture repair modulation of fracture callus and mechanical properties by sequential application of il-6 following pth 1-34 or pth 28-48". *Bone*, 41:437-445, 2007.
- [5] Bishop N. "mechanical stimulation of bone healing" Ph.D. Thesis. Hamburg University of Technology. 2007.
- [6] Blenman P.R. Carter D.R. and Beaupré G.S. "Correlations between mechanical stress history and tissue differentiation in initial fracture healing". *Journal of Orthopaedic Research*, 6:736-748, 1988.
- [7] Brighton C. "Principles of fracture healing part 1 the biology of fracture repair". *Lectures of American Academy of Orthopaedic Surgeons*, 31:60-82, 1984.
- [8] Buhl M. Baumgaertel F. and Rahn B.A. "Fracture healing in biological plate osteosynthesis". *Injury*, 293:SC3SC6, 1998.
- [9] Carter D.R. Blenman P.R. and Beaupré G.S. "Role of mechanical loading in progressive ossification of a fracture callus". *Journal of Orthopaedic Research*, 7:389-407, 1989.
- [10] Claes L. Shefelbine S.J., Augat P. and Simon U. "Trabecular bone fracture healing simulation with finite element analysis and fuzzy logia". *Journal of Biomechanics*, 38:2440-2450, 2005.
- [11] Cowin S. "Bone Mechanics Handbook". 2 edition, 2001.

- [12] Deutsch A. and Dormann S. “*Cellular automaton modeling of Biological pattern formation: Characterization, applications and analysis*”. 2004.
- [13] Doblaré M. García J.M. and Gómez M.J. “*modeling bone tissue fracture and healing: a review*”. Eng Fract Mech, 71: 1809-1840, 2004.
- [14] Einhorn TA. “*The cell and molecular biology of fracture healing*”. Clin orthop Rel Res, 355: S7-S21, 1998.
- [15] Evans M. Simpson A.H.R.W., Gardner T.N. and Kenwright J. “*Stiffness, strength and healing assessment in different bone fractures. a simple mathematical model*”. Injury, Int. J. Care Injured, 31:777-781, 2000.
- [16] Farach-Carson M. Brooner F. and Mikos A. “*Engineering of functional skeletal tissues*”. 2007.
- [17] Gannong W. “*Fisiología médica*”. 1986.
- [18] Gardner T.N. and Mishra S. “*The biomechanical environment of a bone fracture and its influence upon the morphology of healing*”. Medical Engineering & Physics, 25:455-464, 2003.
- [19] Giori N. J. Carter D.R., Beaupré G.S. and Helms J.A. “*Mechanobiology of skeletal Regeneration*”. Clinical Orthopaedics, s355:s41-s55, 1998.
- [20] Gómez-Benito M.J. Doblaré M. García-Aznar J.M., Kuiper J.H. and Richardson J.B. “*Computational simulation of fracture healing influence of interfragmentary movement on the callus growth*”. Journal of Biomechanics, 40:1467-1476, 2007.
- [21] Heller M. Goldhahn J. Moser R. Hehli M. Claes L. Duda G.N., Mandruzzato F. and Haas N.P. “*Mechanical boundary conditions of fracture healing borderline indications in the treatment of unreamed tibial nailing*”. Journal of Biomechanics, 34:639-650, 2001.
- [22] Huang S. Colnot C. and Helms J. “*Analyzing the cellular contribution of bone marrow to fracture healing using bone marrow transplantation in mice*”. Biochemical and Biophysical Research Communications, 350:557-561, 2006.
- [23] Huiskes R. Prendergast P.J. and Soballe K. “*Biophysical stimuli on cells during tissue differentiation at implant interfaces*”. Journal of Biomechanics, 6:539-548, 1997.
- [24] Isaksson H. Huiskes R. and Van Donkelaar C.C. “*Mechanical and mechanobiological influences on bone fracture repair*”. PhD thesis, Technische Universiteit Eindhoven, November 2007.
- [25] Jagodzinski M. and Krettek C. “*Effect of mechanical stability on fracture healing: an update*”. Injury, Int. J. Care Injured, 38s1:s3-s10, 2007.
- [26] Kuiper J.H. Gómez-Benito M.J., García-Aznar J.M. and Doblaré M. “*Influence of fracture gap size on the pattern of long bone healing a computational study*”. Journal of Theoretical Biology, 235:105-119, 2005.
- [27] Lacroix D. and Prendergast P.J. “*A mechano-regulation model for tissue differentiation during fracture healing analysis of gap size and loading*”. Journal of Biomechanics, 35:1163-1171, 2002.
- [28] Lieberman J. and Friedlaender G. “*Bone regeneration and repair, Biology and clinical applications*”. 2005.
- [29] McKibbing B. “*The biology of fracture healing in long bones*”. Journal of Bone joint surgery, 60B:1501-62, 1978.
- [30] Melvin J. “*Fracture mechanics of bone*”. Journal of Biomechanical Engineering Transactions of the ASME, 30:549-554, 1993.
- [31] Meyer U. and Wiesmann H. “*Bone and cartilage engineering*”. 2006.
- [32] Morgan E. Keaveny T. and Yeh O. “*Standard Handbook of Biomedical engineering: Bone mechanics*”. 2002.
- [33] Nigg B. and Herzog W. “*Biomechanics of the musculoskeletal system*”. 2 edition, 1999.
- [34] Orr T. Beaupré G. and Carter D. “*An approach for time-dependent bone modeling and remodeling-theoretical development*”. Journal of Orthopaedic Research, 8:651-661, 1990.
- [35] Petite H. and Quarto R. “*Engineered bone*”. 2005.
- [36] Pilote M. Hutchison C. and Roy S. “*The axolotl limb a model for bone development, regeneration and fracture healing*”. Bone, 40:45-56, 2007.
- [37] Pisu M, Concas A. and Cao G. “*a novel simulation model for stem cells differentiation*”. Biotechnology, 130: 171-182, 2007.
- [38] Reed A. Brownlow H.C. and Simpson A.H.R.W. “*Growth factor expression during the development of atrophic non union*”. Injury, 32:519-524, 2001.
- [39] Roa M. Garzón D. and Cortés C. “*Análisis por elementos finitos del proceso de regeneración ósea*”. 2002.

- [40] Ruimerman R. “*Modeling and remodeling in bone tissue*”. 2005.
- [41] Schriefer J.L. Robling A.G. Warden S.J. Fournier A.J. Mason J.J and Turner C.H. “*A comparison of mechanical properties derived from multiple skeletal sites in mice*” J Biomech, 38: 467-475, 2005.
- [42] Sheldon R. “*Orthopaedic Basic Science: Bone Injury, regeneration and repair*”. 1994.
- [43] Simon S.R. “*Orthopaedic Basic Science*”. 1994.
- [44] Simon U. Augat P. Utz M. and Claes L. “*A numerical model of the fracture healing process that describes tissue development and revascularisation*”. Computer methods in Biomechanics and Biomedical Engineering, First published on 18 nov , 2010.
- [45] Tovar A. “*Bone remodeling as a hybrid cellular automaton optimization process*”. PhD thesis, University of Notre Dame, December 2004.
- [46] Van Donkelaar C.C. Mediavilla J. Wilson W. Huiskes R. Isaksson H., Comas O. and Ito K. “*Bone regeneration during distraction osteogenesis mechano-regulation by shear strain and fluid velocity*”. Journal of Biomechanics, 40:2002-2011, 2007.
- [47] Veziroglu F. and Yilmaz D. “*Biomechanical evaluation of the consolidation period of alveolar distraction osteogenesis with three-dimensional finite element analysis*”. International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery, 10:1016, 2007.
- [48] Wang J. Zhao Y. Wang B. Zhao W. Sun W. Chen B., Lin Hang and Dai J. “*Homogeneous osteogenesis and bone regeneration by demineralized bone matrix loading with collagen targeting bone morphogenetic protein-2*”. Biomaterials, 28:1027-1035, 2007.

Capítulo 6

RECOMENDACIONES Y TRABAJO FUTURO

La capacidad de los autómatas celulares respecto a modelar el comportamiento de una célula dentro de un sistema puede ser implementado como herramienta de simulación de osteogénesis estimulada. Tal apreciación toma relevancia en investigaciones que buscan determinar y predecir como es el crecimiento controlado de hueso.

Esta alternativa puede ser de interés para profesionales en Ortopedia y Cirugía Maxilar, donde frecuentemente y de forma experimental se realizan fracturas controladas de hueso con el fin de estimular la formación de nuevo tejido óseo que permita el crecimiento dimensional del hueso.

También puede ser de particular interés expandir las capacidades de este modelo al estudio de anomalías y enfermedades que pueden presentarse en el proceso de curación de fractura ósea. Casos como la unión demorada o la no unión, enfermedad celular, cáncer, o la aparición de agentes externos son susceptibles de ser simulados y estudiados tomando como punto de partida este modelo.

Bibliografía

- [1] Deutch A. and Dormann S. *Cellular automaton modeling of biological pattern formation: Characterization, applications and analysis*. 2005.
- [2] Tovar A. *Bone remodeling as a hybrid cellular automaton optimization process*. PhD thesis, University of Notre Dame, December 2004.
- [3] Arias A.J. and Tovar A. Bone density distribution predicted with cellular automata in a hierarchical orthotropic algorithm. In *Proceedings of III international congress on computational bioengineering*, pages 77–83, 2007.
- [4] McKibbing B. The biology of fracture healing in long bones. *Journal of Bone joint surgery*, 60B:150–162, 1978.
- [5] Nigg B. and Herzog W. *Biomechanics of the musculoskeletal system*. 2 edition, 1999.
- [6] Buhl M. Baumgaertel F. and Rahn B.A. Fracture healing in biological plate osteosynthesis. *Injury*, 29–3:S–C3–S–C6, 1998.
- [7] Orr T. Beaupré G. and Carter D. An approach for time-dependent bone modeling and remodeling-theoretical development. *Journal of Orthopaedic Research*, 8:651–661, 1990.
- [8] Carter D.R. Blenman P.R. and Beaupré G.S. Role of mechanical loading in progressive ossification of a fracture callus. *Journal of Orthopaedic Research*, 7:389–407, 1989.
- [9] Farach-Carson M. Brooner F. and Mikos A. *Engineering of functional skeletal tissues*. 2007.
- [10] Reed A. Brownlow H.C. and Simpson A.H.R.W. Growth factor expression during the development of atrophic non union. *Injury*, 32:519–524, 2001.
- [11] Brighton C. Principles of fracture healing part 1 the biology of fracture repair. *Lectures of American Academy of Orthopaedic Surgeons*, 31:60–82, 1984.
- [12] Blenman P.R. Carter D.R. and Beaupré G.S. Correlations between mechanical stress history and tissue differentiation in initial fracture healing. *Journal of Orthopaedic Research*, 6:736–748, 1988.
- [13] Giori N. J. Carter D.R., Beaupré G.S. and Helms J.A. Mechanobiology of skeletal regeneration. *Clinical Orthopaedics*, s355:s41–s55, 1998.
- [14] Ament Ch. and Hofer E.P. A fuzzy logic model of fracture healing. *Journal of Biomechanics*, 33:961–968, 2000.

- [15] Wang J. Zhao Y. Wang B. Zhao W. Sun W. Chen B., Lin Hang and Dai J. Homogeneous osteogenesis and bone regeneration by demineralized bone matrix loading with collagen targeting bone morphogenetic protein-2. *Biomaterials*, 28:1027–1035, 2007.
- [16] Huang S. Colnot C. and Helms J. Analyzing the cellular contribution of bone marrow to fracture healing using bone marrow transplantation in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 350:557–561, 2006.
- [17] Lacroix D. and Prendergast P.J. A mechano–regulation model for tissue differentiation during fracture healing analysis of gap size and loading. *Journal of Biomechanics*, 35:1163–1171, 2002.
- [18] Heller M. Goldhahn J. Moser R. Hehli M. Claes L. Duda G.N., Mandruzzato F. and Haas N.P. Mechanical boundary conditions of fracture healing borderline indications in the treatment of unreamed tibial nailing. *Journal of Biomechanics*, 34:639–650, 2001.
- [19] Veziroglu F. and Yilmaz D. Biomechanical evaluation of the consolidation period of alveolar distraction osteogenesis with three–dimensional finite element analysis. *International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*, 10:1016, 2007.
- [20] Gómez-Benito M.J. Doblaré M. García-Aznar J.M., Kuiper J.H. and Richardson J.B. Computational simulation of fracture healing influence of interfragmentary movement on the callus growth. *Journal of Biomechanics*, 40:1467–1476, 2007.
- [21] Roa M. Garzón D. and Cortés C. *Análisis por elementos finitos del proceso de regeneración ósea*. 2002.
- [22] Ermentrout G.B. and Edelstein-Keshet L. Cellular automata approaches to biological modeling. *Journal theor. Biol.*, 160:97–133, 1993.
- [23] Kuiper J.H. Gómez-Benito M.J., García-Aznar J.M. and Doblaré M. Influence of fracture gap size on the pattern of long bone healing a computational study. *Journal of Theoretical Biology*, 235:105–119, 2005.
- [24] Isaksson H. *Mechanical and mechanobiological influences on bone fracture repair*. PhD thesis, Technische Universiteit Eindhoven, November 2007.
- [25] Petite H. and Quarto R. *Engineered bone*. 2005.
- [26] Pilote M. Hutchison C. and Roy S. The axolotl limb a model for bone development, regeneration and fracture healing. *Bone*, 40:45–56, 2007.
- [27] Van Donkelaar C.C. Mediavilla J. Wilson W. Huiskes R. Isaksson H., Comas O. and Ito K. Bone regeneration during distraction osteogenesis mechano–regulation by shear strain and fluid velocity. *Journal of Biomechanics*, 40:2002–2011, 2007.
- [28] Lieberman J. and Friedlaender G. *Bone regeneration and repair, Biology and clinical applications*. 2005.
- [29] Melvin J. Fracture mechanics of bone. *Journal of Biomechanical Engineering Transactions of the ASME*, 30:549–554, 1993.
- [30] Morgan E. Keaveny T. and Yeh O. *Standard Handbook of Biomedical engineering–Bone mechanics*, chapter 8. 2002.
- [31] Jagodzinski M. and Krettek C. Effect of mechanical stability on fracture healing –an update. *Injury, Int. J. Care Injured*, 38s1:s3–s10, 2007.
- [32] Huiskes R. Prendergast P.J. and Soballe K. Biophysical stimuli on cells during tissue differentiation at implant interfaces. *Journal of Biomechanics*, 6:539–548, 1997.

- [33] Ruimerman R. *Modeling and remodeling in bone tissue*. 2005.
- [34] Sheldon R. *Orthopaedic Basic Science–Bone Injury, regeneration and repair*, pages 277–324. 1994.
- [35] Bick T. Jacob Z.C. Stein H. RozenÑ., Lewinson D. and Soudry M. Fracture repair modulation of fracture–callus and mechanical properties by sequential application of il–6 following pth 1–34 or pth 28–48. *Bone*, 41:437–445, 2007.
- [36] Cowin S. *Bone Mechanics Handbook*. 2 edition, 2001.
- [37] Wolfram S. *A new kind of science*. 1983.
- [38] Claes L. Shefelbine S.J., Augat P. and Simon U. Trabecular bone fracture healing simulation with finite element analysis and fuzzy logia. *Journal of Biomechanics*, 38:2440–2450, 2005.
- [39] Evans M. Simpson A.H.R.W., Gardner T.N. and Kenwright J. Stiffness, strength and healing assessment in different bone fractures –a simple mathematical model. *Injury, Int. J. Care Injured*, 31:777–781, 2000.
- [40] Simon S.R. *Orthopaedic Basic Science*. 1994.
- [41] Gardner T.N. and Mishra S. The biomechanical environment of a bone fracture and its influence upon the morphology of healing. *Medical Engineering & Physics*, 25:455–464, 2003.
- [42] Arias A.J. Tovar A. and Bolívar R. Coeficientes elásticos anisotrópicos por elementos finitos de un modelo computacional de hueso trabecular. In *II congreso colombiano de Bioingeniería*, 2005.
- [43] Meyer U. and Wiesmann H. *Bone and cartilage engineering*. 2006.
- [44] Gannong W. *Fisiología médica*. 1986.