



DETERMINACIÓN DE LA VARIACIÓN DE LA DENSIDAD MINERAL OSEA
MEDIANTE UN DISPOSITIVO PIEZO-ELÉCTRICO DENTOSOPORTADO A
TRAVÉS DE INDICES DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA

JULIANA GARCÍA GRISALES

MARIBEL LUISA FERNANDA MARÍN BERRIO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MANIZALES

FACULTAD DE SALUD

ESPECIALIZACIÓN EN ORTODONCIA Y ORTOPEDIA DENTOFACIAL

MANIZALES

2020

DETERMINACIÓN DE LA VARIACIÓN DE LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA
MEDIANTE UN DISPOSITIVO PIEZO-ELECTRICO DENTOSOPORTADO A
TRAVÉS DE ÍNDICES DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA

Autores

Juliana García Grisales

Maribel Luisa Fernanda Marín Berrio

Proyecto de grado en Ortodoncia y Ortopedia Dentofacial

Tutores de tesis:

Héctor Andrés Tinoco Navarro

Juan Pablo Gómez Arando

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MANIZALES

FACULTAD DE SALUD

ESPECIALIZACIÓN EN ORTODONCIA Y ORTOPEDIA DENTOFACIAL

MANIZALES

2020

DEDICATORIA

De Maribel:

Quiero dedicar este trabajo a mis padres, pareja e hijo quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, darles gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo, sentido de pertinencia y valor, de no temer las adversidades porque Dios está conmigo siempre bendiciendo nuestras acciones.

De Juliana:

El presente trabajo está dedicado en primer lugar a Dios por ser mi guía, brindándome fortaleza y sabiduría para finalizar con éxito todas mis metas propuestas; a mi familia y pareja por su esfuerzo, dedicación y apoyo a lo largo de mi vida.

Además, quiero agradecer a todas las personas que hicieron posible esta investigación y estuvieron en los momentos difíciles aportando a mi formación tanto profesional como personal.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo prestado por el personal del Laboratorio de Mecánica Computacional y Experimental de la Universidad Autónoma de Manizales por el acompañamiento en el desarrollo del trabajo de maestría.

También agradecemos el apoyo financiero brindado por del Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación (COLCIENCIAS, código 121974455599 convocatoria 744 del 2016) contrato legalizado 739-2016, ya que gracias a este la realización de este trabajo fue posible.

Un agradecimiento muy especial a nuestros tutores Dr. Juan Pablo Gomez docente y especialista en ortodoncia y a Hector Andrés Tinoco por su acompañamiento constante en esta gestión, por haber compartido sus conocimientos y por el enriquecimiento personal y laboral que tuvimos en estos años de trabajo bajo su dirección.

Y por último, a Dios por bendecirnos en este proceso, por guiarnos a lo largo de nuestra existencia, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad, a nuestros padres, parejas e hijos por su paciencia, apoyo y los consejos que nos brindaron en el desarrollo de este trabajo de investigación.

RESUMEN

El hueso es un tejido biológico dinámico que actúa como el principal soporte rígido del cuerpo sobre el cual varios factores sistémicos son responsables de las patologías que afectan su condición estructural. Aunque el hueso está en continua renovación por osteogénesis, las enfermedades metabólicas son las afectaciones más comunes que alteran el equilibrio natural en el tejido óseo. Para el diagnóstico óseo, se utilizan de forma restrictiva diferentes técnicas basadas en radiación ionizante, estas técnicas presentan riesgo para la salud humana. En este estudio de especialización, se explora una nueva metodología que propone un método de diagnóstico en etapa temprana de enfermedades óseas. Se propone una técnica alternativa para evaluar las condiciones estructurales óseas desde los dientes (utilizados como sondas) mediante la aplicación de la técnica de impedancia electromecánica (EMI). En el estudio se desarrollan dos procedimientos experimentales, uno para identificar las alteraciones óseas producidas por perforaciones mecánicas y otro para determinar la degradación por ácido en muestras de hueso preparadas. La identificación estructural se llevó a cabo a través de un dispositivo piezo-actuado en el espectro de frecuencia de 5-20 kHz. En el primer experimento, se prepararon tres muestras de hueso de bovino, con dientes ensamblados (tres dientes, dos dientes y un diente) para emular una porción mandibular de un sistema maxilar. El dispositivo piezoeléctrico se unió a la corona de los dientes con un soporte de ortodoncia que permite que los dientes actúen como sondas. Los resultados muestran que la reducción de masa ósea se correlaciona con las variaciones porcentuales de los índices estadísticos obtenidos en diferentes intervalos de frecuencia. El segundo experimento consistió en cinco muestras de hueso preparadas de tal manera que cuatro muestras eran muestras de réplica, y una como muestra de monitoreo, esta muestra se compone de hueso, un diente y un ligamento periodontal artificial (PDL). Todas las muestras se colocaron en una sustancia descalcificante (TBD1 ácido-base) en diferentes tiempos para emular las alteraciones minerales del hueso. Las variaciones de densidad ósea se calcularon mediante el uso de tomografía computarizada de rayos X (micro-CT) analizando la morfometría ósea. Alternativamente, se tomaron mediciones de resistencia eléctrica (análisis basado en la impedancia 5-50 kHz) para la muestra de

monitoreo, mientras que estaba parcialmente sumergida en la sustancia descalcificadora hasta 8520seg. En el espectro de frecuencia, varias ventanas de observación muestran que las alteraciones minerales en los huesos inducidas cambiaron gradualmente las señales de resistencia eléctrica que se cuantificaron con un índice estadístico. Los resultados demuestran que los cambios en la densidad ósea están correlacionados con la resistencia eléctrica del dispositivo piezoeléctrico como evidenció el primer experimento. Estos cambios presentaron un comportamiento exponencial tanto como en el índice calculado como en la reducción de la masa ósea. Los resultados generales demostraron que las alteraciones óseas presentan dependencia lineal con los índices estadísticos calculados. Se observó que a partir del 1%, la detección de reducción ósea fue de 20 a 40mg en ambos experimentos. Esto confirma que es posible observar los cambios óseos a través de los dientes como una aplicación futura.

PALABRAS CLAVES: Monitoreo de la salud estructural; bio-monitoreo; dispositivo piezo-actuado; técnica de impedancia electromecánica; densidad mineral del hueso; Micro-CT

ABSTRACT

Bone is a dynamic biological tissue acting as the primary rigid supporting of the body over which several systemic factors are responsible for pathologies that affect the bone structural condition negatively. Although the bone is in continuous renewal by osteogenesis, metabolic diseases are the most common affectations that alter the natural equilibrium in the bone tissue. For the bone diagnosis, different techniques based on ionizing radiation are used restrictively since present disadvantages for human health. In this specialization study, it is explored a new methodology in order to propose an early-stage diagnosis method of bone diseases. An alternative technique to evaluate bone structural conditions from the teeth (used as probes) by applying the electromechanical impedance technique (EMI) is proposed. Two experimental procedures are described to identify the bone alterations produced by mechanical drillings and degradation by acid in prepared bone samples. The identification is carried out through a piezo-actuated device in the frequency spectrum 5-20kHz. In the first experiment, three bone samples with teeth assembled (three teeth, two teeth and one tooth) were prepared to emulate a mandibular portion of a maxillary-tooth system. Piezo-device was attached to the crown of the teeth with an orthodontic bracket allowing the teeth act as probes. The results show that the mass reduction is correlated with statistical indices obtained in specific frequency intervals of the electrical resistance. The second experiment consisted of five bone samples prepared in such a way that four samples were replica samples, and one as the monitoring specimen, it is composed by the sample bone, a tooth and an artificial periodontal ligament (PDL). All samples are putted in a decalcifying substance (TBD1 acid-base) at different times to emulate bone mineral alterations. Bone density variations were computed by using X-ray micro-computed tomography (micro-CT) analyzing the bone morphometry. Alternatively, electrical resistance measurements (impedance-based analysis 5-50 kHz) were taken for the monitoring specimen meanwhile it was partially immersed in the decalcifying substance until 8520s. In the frequency spectrum, several observation windows show that the induced bone mineral alterations gradually changed the electrical resistance signals which were quantified with a statistical index. Results evidence that the bone density changes are correlated with the electrical resistance of the piezo-device as

evidenced in the first experiment; these changes presented an exponential behavior as much as in the calculated index and the bone mass reduction. The overall results demonstrated that bone alterations present linear dependence with the statistical indexes calculated. This result confirms that it is possible to observe the bone changes from the teeth as a future application.

Keywords: structural health monitoring; bio-monitoring; piezo-actuated device; electromechanical impedance technique; bone mineral density; Micro-CT

CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN.....	15
1.1	Motivación y justificación.....	17
1.2	Planteamiento del Problema.....	21
1.3	Objetivos	25
1.3.1	Objetivo general.....	25
1.3.2	Objetivos específicos	26
2	ANTECEDENTES Y REFERENTE TEÓRICO	27
2.1	El hueso humano y componentes	27
2.1.1	Anatomía Macroscópica	28
2.1.2	Anatomía Microscópica.....	28
2.1.3	Composición del Hueso	30
2.1.4	Biomecánica del hueso	31
2.2	DMO (Densidad Mineral Ósea).....	33
2.3	Métodos de identificación y cuantificación de la densidad ósea.....	35
2.3.1	DXA (Absorciometría dual de rayos X).....	36
2.3.2	QCT (Tomografía Computarizada Cuantitativa).....	37
2.3.3	SPA (Absorciometría Fotónica Simple)	38
2.3.4	DPA (Absorciometría Fotónica Dual).....	39
2.3.5	BUA (Ultrasonografía)	39
3	PROTOCOLO DE PREPARACION DE MUESTRAS ÓSEAS.....	41
3.1	Introducción	41
3.2	preparación de muestras óseas	41

3.3	Preparación del ligamento periodontal artificial para las muestras óseas	46
4	MONITOREO DE LA INTEGRIDAD ÓSEA A TRAVÉS DE LOS DIENTES UTILIZADOS COMO SONDAS	51
4.1	Introducción	51
4.2	Materiales y métodos	53
4.2.1	Mediciones de impedancia electromecánica.....	53
4.2.2	Configuración experimental y metodología	54
4.3	Resultados y Discusión	56
4.3.1	Resistencia eléctrica del experimento 1 para perforaciones en los extremos de la muestra. 56	
4.3.2	Resistencia eléctrica del experimento 2. Perforaciones en los extremos de la muestra. 57	
4.3.3	Resistencia eléctrica del experimento 3. Sensibilidad a los daños cuando se efectúan mediciones con dientes vecinos.	59
5	CORRELACIÓN EXPERIMENTAL ENTRE LOS ÍNDICES DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA Y LA ALTERACION ÓSEA.....	62
5.1	Introducción	62
5.2	Experimento de degradación ósea sobre 5 muestras sometidas a diferentes tiempos de descalcificación por ácido clorhídrico.....	62
5.3	Análisis por Micro CT.....	64
6	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	76
7	REFERENCIAS	78
8	ANEXO A . Registro fotográfico.....	87

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Micrografía del Hueso normal Vs Hueso osteoporótico. Tomado y modificado de Cosman et al. (2014).....	19
Figura 2 Vista ortogonal de la vértebra L5 de un ratón (izquierda). Estructura ósea trabecular del cuerpo vertebral L5 analizada con tomografía micro-computarizada (Derecha). Tomado de Christiansen et al. (2015).....	23
Figura 3 Estructura Macroscópica de un hueso largo. Tomada de Fuchs et al., (2019).....	27
Figura 4 Anatomía microscópica del hueso. Tomado de Fuchs et al., (2019).	29
Figura 5 Imágenes de microscopía electrónica de barrido de (a) un hueso esponjoso normal y (b) un hueso esponjoso con osteoporosis. Tomada de Lacroix (2019).	32
Figura 6 Esquema representativo del proceso de obtención inicial de las muestras de hueso. (a) Representación gráfica del hueso de cadera de res (b) Especímenes de hueso obtenidos	41
Figura 7 (a) Muestras antes de la inmersión en agua. (b) Muestras luego del proceso de limpieza inicial	42
Figura 8 Inmersión de muestras en agua y jabón anti-grasa en un recipiente Beaker.....	43
Figura 9 (a) Muestras óseas sumergidas en distintas soluciones. (b) Muestras óseas después de 24 h de estar sumergidas.....	43
Figura 10 Primeras 3 muestras fabricadas con perforación que simulará la cavidad alveolar	44
Figura 11 Ensamble espécimen de trabajo, silicona, diente molar y sensor pieza-dispositivo	44

Figura 12 Muestras óseas después del proceso de limpieza con sustancias.....	45
Figura 13 (a) Yeso vertido en vaso Dappen con broca cónica insertada. (b) proceso de endurecimiento en agua caliente.....	46
Figura 14 Proceso de fresado del molde hasta la profundidad proporcional con la raíz del diente	47
Figura 15 Aplicación de vaselina en el agujero construido.....	47
Figura 16 (a) Aplicación de mezcla de oxifosfato de zinc. (b) Desmineralización y preparación de la superficie del diente	48
Figura 17 (a) Ensamble de diente-cemento en molde de yeso 1 y 2. (b) Diente reconstruido con raíz en cemento.	48
Figura 18 (a) Ubicación de alambres de separación en el molde de yeso 2. (b) Alistamiento del diente con bóxer.....	49
Figura 19 (a) Aplicación de mezcla de silicona en el molde de yeso 2. (b) Inserción del siente en la cavidad del molde.....	49
Figura 20 (a) Destrucción del molde de yeso 2 con disco de corte. (b) Conjunto diente ligamento periodontal en silicona.....	50
Figura 21 Descripción de las muestras fabricadas, representación de las secuencias de daño y dimensiones de las muestras.....	54
Figura 22 Configuración experimental de las pruebas efectuadas en las tres muestras.	56
Figura 23 Señales de resistencia eléctrica en el rango (a) 1-20 kHz, experimento 1. (b) 1-20 kHz experimento 1.....	57

Figura 24 Señales de resistencia eléctrica en el rango (a) 1-20 kHz experimento 2 (diente molar A). (b) 13.8-14.4 kHz experimento 2 (diente molar A). (c) 1-20 kHz experimento 2 (diente premolar B). (d) 13.8-14.4 kHz experimento 2 (diente premolar B)	58
Figura 25 Señales de resistencia eléctrica en el rango (a) 1-20 kHz experimento 3 (primer diente premolar B). (b) 13.8-14.4 kHz (primer diente molar B). (c) 1-20 kHz (diente molar A). (d) 13.8-14.4 kHz (diente molar A). (e) 1-20 kHz experimento 3 (segundo diente premolar B). (f) 13.8-14.4 kHz (segundo diente premolar B).....	60
Figura 26 Muestras de hueso sometidas a un proceso de descalcificación para diferentes tiempos de exposición en ácido.....	63
Figura 27 Planos de corte en los modelos de hueso reconstruidos computacionalmente con el micro-CT. a) Plano transversal. b) Plano vertical.	64
Figura 28 Segmentación de los planos A-A y B-B para el análisis del material óseo.	65
Figura 29 (a) Segmentación de las muestras 1 y 5. (b) Determinación de regiones sobre la segmentación ósea, muestra 5.	66
Figura 30(a) Caracterización computacional de la pared trabecular. (b) Análisis de imágenes tomadas por microscopio óptico ZEISS Axio Zoom.V16.....	68
Figura 31 Espesor medio de las trabéculas de cada muestra.....	69
Figura 32 Densidad porcentual de mineral óseo en las regiones A y B.	70
Figura 33 Densidad de pérdida de mineral de hueso en el tiempo.	73
Figura 34 a) Mediciones de resistencia eléctrica para 13 intervalos de tiempo, imágenes SEM de la muestra 5. b) Intervalo de frecuencia A, imágenes SEM de la muestra 5.....	74
Figura 35 (a) Índice de cambio . (b) Correlación entre y el cambio de densidad ósea. ..	75

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Diagnósticos de osteoporosis OMS (Lewiecki et al., 2004)	34
Tabla 2 Referencias de las dosis radiológicas de exploraciones utilizadas (Arana-Fernández et al., 2006)	38
Tabla 3 Resultados obtenidos por el Micro-CT análisis.....	67
Tabla 4 Razón de degradación por tiempo.	70
Tabla 5 Pérdida de masa y volumen en las muestras por el ácido.....	71
Tabla 6 Constantes del modelo de la ecuación 1	72

CAPÍTULO I

1 INTRODUCCIÓN

El hueso es un tejido sensible capaz de alterar su estructura y masa en respuesta a las cargas mecánicas que se le imponen. Esto se logra a través de diferentes actividades fundamentales a nivel del tejido, que incluyen reparación, crecimiento, modelado y remodelado (Fuchs et al., 2019). En el esqueleto adulto, la resorción ósea está en equilibrio con la formación ósea, lo que permite la remodelación de la micro-arquitectura esquelética mientras se mantiene una masa ósea constante. Sin embargo, un desequilibrio de la resorción y la formación del hueso puede producir algunas enfermedades óseas, siendo la más común, la Osteoporosis (Florencio-Silva et al., 2015), esta se caracteriza por presentar una baja masa ósea y una mayor fragilidad del hueso, aumentando el riesgo de fractura (Cummings et al., 2002), generando un problema de salud pública creciente ya que según las tendencias demográficas actuales, se prevé que el número de fracturas y sus costos asociados se dupliquen o tripliquen en el futuro cercano. De hecho, para 2025, se espera que los costos anuales atribuibles a osteoporosis y fracturas superen los USD 25 mil millones en solo en los Estados Unidos (Johannesdottir & Bouxsein, 2018), aumentando el riesgo de morbilidad prematura, manifestada por fracturas óseas, deformidad ósea y dolor crónico; por lo que la densidad mineral ósea es el mejor indicador para valorar el riesgo de fracturas en este padecimiento, especialmente si se evalúan sus cambios de forma seriada a lo largo del tiempo (Barba-Evia, 2011). En los últimos años se han desarrollado diversas técnicas densitométricas capaces de cuantificar la masa ósea en distintas localizaciones (Ibáñez, 2003).

La evaluación cuantitativa de la macro-estructura del hueso se puede realizar con técnicas como radiografía, absorciometría de rayos X de energía dual (DXA), tomografía computarizada cuantitativa periférica (QCT), tomografía computarizada (CT) y resonancia magnética (MRI), la micro-estructura ósea en donde incluyen detalles finos estructurales del hueso cortical y trabecular, se puede evaluar utilizando técnicas de imagen de alta resolución, como tomografía computarizada multidetector (MDCT), resonancia magnética

y tomografía computarizada cuantitativa periférica de alta resolución (QCT). Estas técnicas de alta resolución para evaluar la resistencia ósea, están limitados por el costo, la disponibilidad, el consenso con respecto a los estándares analíticos y las limitaciones de irradiación (Griffith & Genant, 2008), ratificando la necesidad de desarrollar un método que sea más conservador y permita evaluar los cambios de la DMO de manera repetida a lo largo del tiempo.

El método de impedancia electromecánica (EMI) es una tecnología adecuada que permite detectar modificaciones estructurales mediante el estudio de vibraciones de alta frecuencia (normalmente > 20 kHz) de transductores piezoeléctricos utilizados como sensores de autocontrol acoplados a una estructura huésped para ser monitoreados. Cuando una estructura de huésped estudiada presenta variaciones estructurales (cambio de masa y rigidez), es posible estudiar sus variaciones de impedancia mecánica correlacionadas con las mediciones de impedancia eléctrica de piezo-transductores acoplados a la estructura (Na & Baek, 2018; Park & Inman, 2007; Yang et al., 2008; Annamdas & Soh, 2010).

Debido a su aplicación destacada como tecnología de monitoreo no invasivo, el método EMI con transductores piezoeléctricos también se ha aplicado a estructuras biológicas para el análisis de cambios estructurales relacionados con diferentes fenómenos biológicos. Bhalla & Suresh, 2013; Khan et al., 2016 utilizaron transductores piezoeléctricos como biosensores para monitorear las condiciones de fractura en diferentes muestras de huesos de animales que miden la impedancia eléctrica. Para ambos estudios fue posible detectar daños tales como; grietas, fracturas totales y proceso de curación. El primer estudio emplea un hueso humano y un hueso de conejo y el segundo un hueso de tibia de búfalo, respectivamente. (Srivastava et al., 2017) y (Srivastava & Bhalla, 2019) propusieron un diseño de experimento para estudiar numéricamente el estado estructural de los huesos realizando mediciones de muestras de hueso *in vitro* e *in vivo*, mediante un parche piezoeléctrico acoplado a un aluminio viga que a su vez se fija a un conjunto extraíble que se sujeta a diferentes muestras de estudio. Las medidas de conductancia eléctrica adquiridas se tomaron en un brazo humano vivo, un conjunto de hueso tejido-piel artificial, y una medida adquirida convencionalmente de un sensor piezoeléctrico directamente unido a un

hueso desnudo. Otros autores han desarrollado un enfoque novedoso para monitorear variaciones estructurales en sustratos, utilizando dientes humanos naturales como sondas biológicas integradas en diferentes materiales (Tinoco et al., 2016 y Tinoco et al., 2019). Se aplicaron vibraciones de barrido entre 5-10 kHz utilizando un transductor piezoeléctrico montado en un soporte de ortodoncia unido en una corona dental, obteniendo una respuesta mecánica del material en el que se implantó la raíz del diente, detectando con éxito las diferencias estructurales de los materiales (Tinoco et al., 2016).

En este trabajo se muestra el desarrollo de un método de preparación de muestras óseas donde se inicia con un protocolo de limpieza y posteriormente se generan alteraciones estructurales controladas en el hueso. Finalmente se emplea el método EMI, aplicado desde una estructura dental sana, con un dispositivo electromecánico de alta frecuencia, para monitorear el estado de la estructura de las diferentes muestras óseas, encontrando que dichas alteraciones, pueden ser detectadas a través de las mediciones de impedancia, lo cual permitirá en un futuro diagnosticar cambios en la densidad ósea y como consecuencia, ayudará a la detección temprana de las enfermedades relacionadas.

1.1 Motivación y justificación

El hueso es un tejido conjuntivo mineralizado, muy vascularizado e innervado, está compuesto por células y una matriz mineralizada (Fernández-Tresguerres et al., 2006). Dentro de su composición celular se encuentran los osteoblastos, osteocitos, células de revestimiento óseo y osteoclastos, y su matriz contiene componentes orgánicos e inorgánicos. La estructura general del hueso se puede dividir en esponjoso (trabecular) o cortical (compacto). Funcionalmente, el hueso esponjoso se asocia con las capacidades metabólicas, mientras que el hueso cortical generalmente proporciona una mayor resistencia mecánica (Downey & Siegel, 2006). Dentro de sus funciones más importantes se destacan: servir de sustento y protección a las partes blandas, anclaje muscular y base de los movimientos, así como constituir un gran reservorio de iones como el calcio (Lafita, 2003).

El tejido óseo tiene la capacidad de adaptarse a su entorno biológico y mecánico, para ello modifica su estructura en función de las cargas a las que se ve sujeto mediante un proceso conocido como remodelación ósea, lo cual le permite renovarse y responder a las necesidades mecánicas y metabólicas del organismo (Flores-Renteria & Ayala-Ruiz, 2012). Este proceso se basa en la interacción entre la resorción ósea de los osteoclastos y la formación ósea por parte de los osteoblastos, lo que permite una renovación del esqueleto adulto aproximadamente cada 10 años (Schett et al., 2010). El equilibrio entre estos dos procesos es necesario y depende de la acción de varios factores locales y sistémicos, dentro de los que se pueden mencionar, genéticos, mecánicos, vasculares, nutricionales, hormonales (Barba-Evia, 2011). La alteración en el equilibrio entre la reabsorción y la formación de hueso conlleva a enfermedades en el metabolismo óseo tales como:

Osteopetrosis, enfermedad ósea de Paget, osteomalacia, osteogénesis imperfecta, deficiencia de Vitamina D y la osteoporosis la cual es la enfermedad ósea más frecuente en el hombre, que afecta a 150-200 millones de personas en el mundo. En líneas generales se estima que alrededor del 33% de las mujeres mayores de 50 años va a sufrir osteoporosis. La prevalencia de la osteoporosis aumenta con la edad, por ejemplo, en mujeres entre 70-80 años puede ascender al 40%. (Marco et al., 2010).

La osteoporosis es considerada como un padecimiento común, multifactorial, progresivo y debilitante de la arquitectura del esqueleto óseo como se muestra en la Figura 1.1. Este debilitamiento progresivo es consecuencia de la descalcificación progresiva de los huesos, siendo la causante de alrededor de 1.6 millones de fracturas de cadera cada año y afecta a más de 200 millones de personas, lo que genera costos económicos estimados de 13.8 mil millones de dólares anuales (Barba-Evia, 2011).

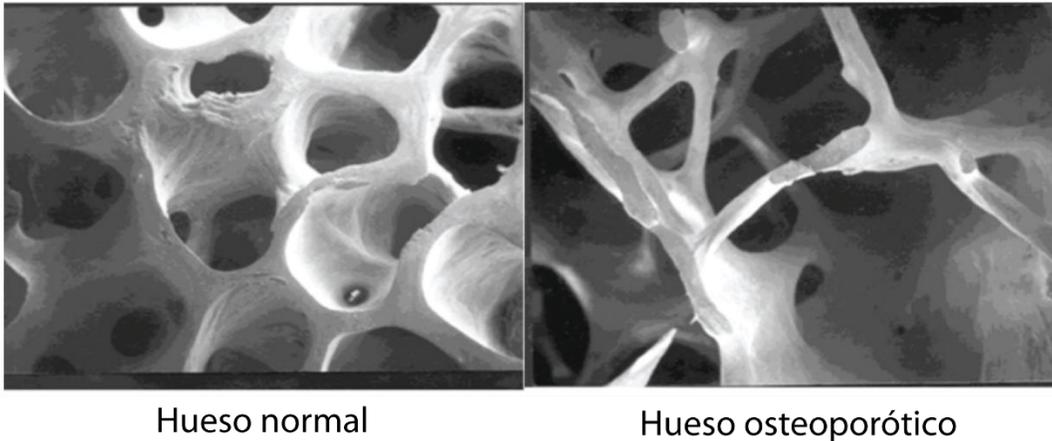


Figura 1 Micrografía del Hueso normal Vs Hueso osteoporótico. Tomado y modificado de Cosman et al. (2014).

Actualmente se utilizan diferentes métodos diagnósticos para evaluar la densidad del hueso. Dentro de los métodos más comunes para determinar la densidad ósea se encuentran:

Absorciometría fotónica Simple (SPA): Esta técnica genera rayos gamma monoenergéticos de baja energía a partir de una fuente isotópica, habitualmente el Yodo125. Al ser necesaria una homogeneidad en el grosor y densidad de los tejidos blandos, el uso de la SPA queda limitado a localizaciones periféricas (radio y calcáneo). Las características monoenergéticas de su rayo tampoco permite discriminar la atenuación debida a los tejidos blandos de la originada por el hueso (Vizcaino et al., 2001).

Absorciometría fotónica dual (DPA): Esta técnica, permite la medida de la masa ósea en cualquier región haciendo posible la medición de aquellas regiones comúnmente afectadas por las fracturas osteoporóticas como son la columna y la cadera. Al igual que ocurrió con la SPA, fue reemplazado por la absorciometría dual de rayos X (DXA) que no precisaba una fuente isotópica (Ibáñez, 2003 ; Vizcaino et al., 2001).

Absorciometría dual de rayos X (DXA): Es la técnica más popular utilizada para medir la densidad ósea del paciente. Es el método más extendido en la actualidad, por su baja radiación, una alta precisión, repetibilidad y ha demostrado tener valor predictivo de fractura. Son ampliamente usados, pero tienen la desventaja del alto costo y gran tamaño,

además requieren espacio y necesitan personal especializado para su manejo (Miranda et al., 2013).

Tomografía computarizada cuantitativa (QCT): Es la única técnica tridimensional, volumétrica, para medir densidad mineral ósea que se dispone, dado que es una medida volumétrica, los valores que proporciona son en g/cm. Tiene la desventaja del alto costo y radiación (Ibañez, 2003).

Densitometría ultrasónica cuantitativa (QUS): No mide la DMO directamente, sino la atenuación de ultrasonidos en calcáneo, tibia, rótula y otros huesos periféricos. Es el método más asequible y menos costoso, además de no exponer al paciente a radiación. No obstante, no se recomienda su uso para el diagnóstico ni para el seguimiento (Giner-Ruiz, 2014).

Los métodos utilizados actualmente están limitados por el nivel de exposición a radiaciones ionizantes, lo cual implica que no se pueda realizar un seguimiento periódico del estado del paciente, ni evaluar la evolución del tratamiento realizado, adicionalmente, son costosos y altamente invasivos, produciendo riesgos en la salud del paciente, llevando no solo enfermedades neoplásicas sino también mutaciones que pueden contribuir a otras enfermedades (incluyendo defectos de nacimiento, enfermedades oculares) y mutaciones hereditarias que pueden aumentar el riesgo de enfermedades en las generaciones futuras (Prasad et al., 2004).

Con el fin de darle solución a esta problemática se desarrolla un método que identifique de manera repetida cambios en la densidad ósea, mediante una prueba diagnóstica realizada desde estructuras dentales con un dispositivo electromecánico vibratorio de alta frecuencia, el cual minimiza los efectos colaterales, producidos por métodos tradicionales que usan radiación ionizante en su diagnóstico.

El desarrollo de este dispositivo, al ser poco invasivo y de bajo costo, permite un uso mucho más generalizado de la densitometría ósea, favoreciendo el diagnóstico, tratamiento

y la investigación de las enfermedades relacionadas con alteraciones en la densidad ósea, permitiendo con este trabajo expandir nuevos campos investigativos acerca del diagnóstico de las posibles enfermedades que se presentan a nivel de los maxilares en los seres humanos.

1.2 Planteamiento del Problema

El hueso es una forma especializada de tejido conectivo denso que constituye el sistema óseo, a pesar de su dureza, resistencia, elasticidad y plasticidad mecánica, es dinámico en constante formación y reabsorción, que permite mantener volumen óseo, reparación tisular y homeostasis del metabolismo fosfocálcico, proceso llamado remodelado óseo (Fernández et al., 2006), el cual se lleva a cabo en respuesta a diferentes estímulos; los cuales pueden provenir de fuerzas mecánicas (Carrere & Álvarez, 2010), cambios físico-químicos y cambios metabólicos generales del cuerpo humano (Fernández et al., 2006). En su interior éste aloja la médula ósea, donde se forma la sangre, en un proceso llamado hematopoyesis (Fernández et al., 2006), a nivel metabólico, el hueso tiene una reserva de calcio (99%) y mantiene los niveles sanguíneos de este ion (calcemia) como explican (Bilbao et al., 2011). Desde la alimentación, el calcio ingresa al flujo sanguíneo con el fin de ser depositado en los huesos para su posterior reserva, si se presenta un déficit de calcio, este se provee inmediatamente hacia la sangre a través de los huesos para recuperar los niveles requeridos por el cuerpo. Dado que el calcio es muy importante para el funcionamiento de diversos sistemas enzimáticos, como, por ejemplo; la contracción muscular, la transmisión de impulsos nerviosos, la coagulación de la sangre y adhesión celular entre otros; es necesario establecer parámetros de control o diagnóstico cuya ventaja es medir selectivamente la densidad mineral del hueso trabecular (García-Garduño & Reyes-Gasga, 2006).

Los huesos están rodeados en su parte externa por periostio y en su interior por endostio (los cuales son tejido conectivo con capas de células formadoras de hueso, que tienen como función principal, la nutrición del hueso y suministrar una fuente de nuevos osteoblastos para el crecimiento o reparación ósea (Del Carmen, 2017). Dentro de las funciones del hueso, el entorno electroquímico y mecánico siempre están sujetos a variaciones en las que este modifica su forma variando el contenido mineral desde sus mecanismos regulatorios,

esto significa que donde se requieren modificaciones se proporciona un proceso continuo de modelado y remodelado mediante la eliminación y el reemplazo del hueso (Fernández et al., 2006). La respuesta mecánica y la adaptación a las cargas externas no son la única causa de modificaciones en la forma y composición del tejido óseo. Las alteraciones patológicas también producen deformación estructural y variación de la densidad del hueso provocando múltiples cambios locales y sistémicos que afectan sus funciones metabólicas (Carrere & Álvarez, 2010).

Para medir la densidad ósea, se utilizan diferentes métodos diagnósticos; su evaluación determina la cantidad y calidad de mineral el cual constituye un indicador importante de los factores de riesgo de muchas enfermedades sistémicas que afectan el metabolismo óseo, como osteoporosis (Pérez-García & Garmas-Castillo, 2011) y enfermedades secundarias como enfermedades endocrinas (Torregrosa et al., 2011), gastrointestinales (González et al., 2009), hematológicas (Hawkins et al., 2012), reumatoideas (Torregrosa et al., 2011), y por medicamentos (Moro-Álvarez & Díaz-Curiel, 2010), afectando su resistencia, llevando a diferentes trastornos de la homeostasis mineral como son: la remodelación del hueso (Carrere & Álvarez, 2010), las alteraciones del colágeno, afectación de la calidad del hueso y la alteración en el equilibrio regulador de la respuesta inmune (aposisión-resorción) (García-Martin et al., 2013).

La mayoría de los métodos imagenológicos actuales están limitados por el nivel de exposición a radiaciones ionizantes permisibles en un ser humano (Camargo et al, 2015; Díaz, 2014) este tipo de radiación ionizante es un tipo de energía liberada por los átomos en forma de ondas electromagnéticas (rayos gamma o rayos X) o partículas (alfa y beta o neutrones) donde su desintegración espontánea de los átomos se denomina radiactividad, y la energía excedente emitida es una forma de radiación ionizante, adicional a esto, son métodos costosos y altamente invasivos (Bayo, 2001).

Existen diferentes métodos para determinar la densidad ósea, siendo los más comunes la absorciometría fotónica simple (SPA), absorciometría fotónica dual (SPA), absorciometría radiológica simple (SXA), absorciometría de doble energía de rayos X (DXA), tomografía

cuantitativa computarizada (QCT), densitometría por ultrasonidos (BUA) entre otros reportados (Henríquez & Hernandez, 2014).

La mayoría de las técnicas actuales miden predominantemente hueso cortical. En el mejor de los casos, los tomógrafos y las proyecciones laterales de vértebras de los equipos DEXA son las determinaciones que actualmente dan cierta información sobre el hueso trabecular y cortical como se muestra en la Figura 2 (Pérez-García & Garmas-Castillo, 2011 ; Bossio & Capiglioni, 2015).

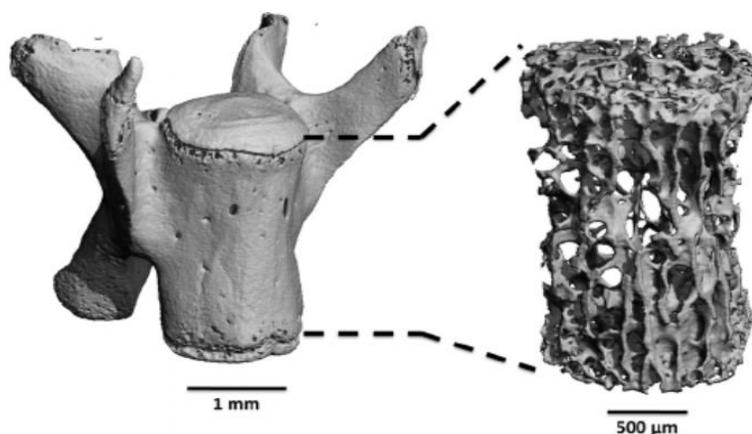


Figura 2 Vista ortogonal de la vértebra L5 de un ratón (izquierda). Estructura ósea trabecular del cuerpo vertebral L5 analizada con tomografía micro-computarizada (Derecha). Tomado de Christiansen et al. (2015)

El hueso trabecular es importante, ya que, aunque la mayor cantidad de masa ósea está dada por la presencia de hueso cortical con relación al trabecular, la mayor cantidad de superficie de recambio y renovación ósea es trabecular con relación a la cortical. Además, después de un período de reposo absoluto en cama se puede perder hasta un 15% del hueso trabecular y este hueso es el que fundamentalmente está implicado en la osteoporosis tipo I, el cual es el período de tiempo donde se pierde la mayor cantidad de masa ósea (Henríquez & Hernandez, 2014). Se considera que el hueso trabecular manifiesta más tempranamente los cambios osteoporóticos que el hueso cortical, todos los métodos diagnósticos muestran que las opciones de observación de la densidad ósea están definidas hacia enfoques no preventivos, debido a la falta de accesibilidad y efectos contra producentes en la salud humana de los métodos mencionados anteriormente (Henríquez & Hernandez, 2014).

Los dientes y el sistema óseo son tejidos mineralizados, ambas estructuras gracias a su composición química de minerales como la hidroxiapatita (sodio, cloro, carbonatos y magnesio) presente en dientes y hueso juegan papel importante en función a la remodelación ósea confiriéndoles su dureza siempre acompañada de estructuras orgánicas como el colágeno (García- Garduño & Reyes- Gasga, 2006).

El hueso se vuelve un importante almacén de calcio y la parte medular ósea es formadora de sangre, tanto los huesos como la parte mineralizada de los dientes no son estáticos, sino que existe una importante dinámica que cambia a lo largo de la vida. Cuando los tejidos quedan diferenciados, después de la adolescencia, la dinámica es mantener la forma y función mediante actividades nerviosas y hormonales. El calcio es un elemento con gran relevancia, no sólo para la estructura y el funcionamiento posterior de los tejidos mineralizados, sino también acompañando la función integral de los individuos (García- Garduño & Reyes- Gasga, 2006).

La unión de los dientes al soporte óseo genera una articulación estable de los procesos alveolares llamada gonfosis (Benítez et al., 2014), en caso de mover los dientes continuamente mediante aplicación de fuerzas ortodónticas se altera biológicamente la parte estructural del hueso alveolar, así mismo la estabilidad que brinda el soporte óseo a los dientes se puede ver afectada desde el punto de vista mecánico donde parámetros de amortiguamiento, rigidez y propiedades del material son modificados en el hueso alterando la respuesta dinámica de los dientes como recientemente ha sido demostrado en modelos experimentales por (Tinoco et al., 2016).

La pérdida adicional de dientes, relacionada con el estatus socio-cultural, conlleva a una mayor reabsorción sobre todo vertical de la cresta ósea, llegando a convertirse en algunos casos en crestas en filo de cuchillo o en punta de lápiz, se reduce la actividad muscular por pérdida de las cargas oclusales y potencia la pérdida de masa y densidad ósea (Júnior et al., 2008), este proceso parece ser debido a una pérdida fisiológica de las fuerzas transmitidas por las raíces de los dientes, así como por la presión ejercida por las prótesis colocadas que actúa directamente sobre el hueso cortical y no sobre el trabecular como lo hacen las raíces.

Parece, pues, que existe una respuesta adaptativa de la mandíbula al estrés mecánico derivado de la masticación y se manifiesta no sólo en la zona de inserción muscular sino también en el hueso alveolar mandibular de la zona molar (Cano-Sánchez et al., 2008).

En una exploración inicial se utilizaron transductores piezoeléctricos acoplados a una estructura dental inmersa en diferentes medios con el fin identificar la diferenciación estructural. Este estudio previo mostró que es factible la aplicación de la Técnica EMI para detectar cambios estructurales desde una pieza dental pero el estudio estaba limitado a un rango de frecuencias entre 0-10 KHz. De acuerdo al planteamiento de la problemática identificada surge la siguiente pregunta de investigación:

¿Cómo estimar parámetros de densidad ósea con vibraciones de alta frecuencia (>10KHz) desde estructuras dentales usando la técnica EMI ?

Esta pregunta se desarrolla en un contexto más general que hace parte de un macroproyecto llamado “Identificación de cambios en la densidad ósea desde estructuras dentales utilizando un dispositivo vibratorio de alta frecuencia mediante la técnica EMI (Electromechanical Impedance)”. Para el trabajo de especialización la pregunta está enmarcada dentro de los objetivos específicos que cubren actividades fundamentales para el cumplimiento del objetivo general. De acuerdo con esta aclaración, surge la siguiente pregunta de investigación:

¿Como determinar la variación de la densidad ósea mediante un dispositivo piezo-electrico dento-soportado aplicando la técnica de impedancia electromecánica?

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Determinar la variación de la densidad mineral ósea mediante un dispositivo piezoeléctrico dento-soportado, aplicando la técnica de la impedancia electromecánica.

1.3.2 Objetivos específicos

- Desarrollar una técnica para medir los cambios estructurales en modelos óseos a partir de índices obtenidos de la impedancia eléctrica del piezo- dispositivo.
- Desarrollar un método para correlacionar los índices determinados (objetivo 1) con la impedancia eléctrica y la densidad mineral ósea, determinada con métodos tradicionales.
- Determinar la eficacia de la técnica EMI de identificación al medir las variaciones del contenido mineral óseo de muestras de hueso de cadera bovino, preparadas para las pruebas experimentales con la técnica.

CAPITULO II

2 ANTECEDENTES Y REFERENTE TEÓRICO

2.1 El hueso humano y componentes

El hueso es un tejido conectivo mineralizado, el cual presenta una organización jerárquica variada en su estructura y componentes, los cuales trabajan en conjunto para realizar diversas funciones mecánicas, biológicas y químicas; tales como soporte estructural y sitio de anclaje muscular para la locomoción, protección de órganos vitales y homeostasis de iones minerales ya que se considera como el órgano fundamental en la reserva de iones minerales para el organismo, especialmente el calcio y fósforo, la medula ósea sirve como fuente de células precursoras del linaje hematopoyético y mesenquimatoso (Rho et al., 1998).

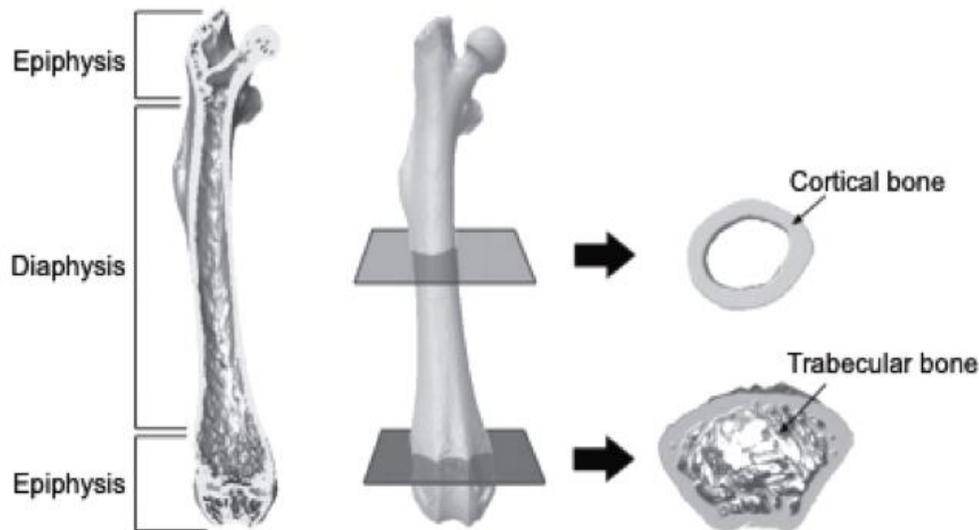


Figura 3 Estructura Macroscópica de un hueso largo. Tomada de Fuchs et al., (2019).

Dentro de su composición celular se encuentran los osteoblastos, osteocitos, células de revestimiento óseo y osteoclastos, en su matriz extracelular contiene agua, colágeno, otras proteínas no colagenosas y minerales (Johannesdottir & Bouxsein, 2018).

Según la anatomía o morfología del hueso, este puede dividirse macroscópicamente en dos distintos tipos de tejido óseo, Cortical y trabecular como se muestra en la Figura 3

2.1.1 Anatomía Macroscópica

El hueso trabecular o esponjoso es altamente poroso, ocupa cerca del 20% del hueso total, está presente principalmente en el centro de los huesos cortos, en la epífisis de los huesos largos, huesos planos y las vértebras. El hueso trabecular se compone por una red ordenada de varillas y placas verticales y horizontales interconectadas llamadas trabéculas. Presenta una densidad baja debido a su alta porosidad, lo cual reduce su resistencia a la compresión, sin embargo, proporciona un área de superficie aumentada para que la médula ósea, los vasos sanguíneos y los tejidos conectivos entren en contacto con el hueso, facilitando de esta manera el papel del hueso en la hematopoyesis y la homeostasis mineral (Ralston, 2013).

El hueso cortical o compacto constituye el 80% de la masa total del tejido esquelético (Sales et al., 2019; Fuchs et al., 2019), está presente en las diáfisis de los huesos largos, lámina externa e interna de los planos y periferia de los cortos, allí forma una capa cortical gruesa (corteza) que rodea un canal medular lleno de médula ósea. Su microestructura está organizada en estructuras cilíndricas dispuestas concéntricamente llamadas osteonas (o sistemas de Havers), que consisten en láminas concéntricas de tejido óseo que rodean un canal central que contiene vasos sanguíneos, linfáticos y fibras nerviosas que se interconectan a través de los canales de Volkmann. Presenta una alta cantidad de masa por unidad de volumen y baja porosidad, estas características dotan al hueso cortical de una gran resistencia a la compresión que le permite contribuir al papel mecánico del hueso (Collins et al., 2019).

2.1.2 Anatomía Microscópica

Las fibras de colágeno mineralizadas se forman en sitios anatómicos planos llamados laminillas, estas laminillas de fibra de colágeno se envuelven en capas concéntricas alrededor de un canal para formar lo que se conoce como Osteona o Sistema de Havers

(Rho et al., 1998), en el cual los cilindros concéntricos de hueso rodean una arteria y vena localizadas dentro de un canal central de Havers orientado paralelo al eje largo del hueso. Esta disposición le da a cada osteón la apariencia de un tronco de árbol en sección transversal con una línea de cemento circunferencial que representa la corteza del árbol. La línea de cemento representa el límite más externo de un osteón, a lo largo de las laminillas hay cavidades lenticulares llamadas lagunas, desde cada laguna se ramifican los canalículos, estos penetran las laminillas de la sustancia intersticial y se anastomosan con canalículos de lagunas vecinas para formar una red continua de cavidades interconectadas por medio de los canales de Volkmann. Juntos, los canales de Havers y Volkmann penetran en toda la sustancia ósea y mantienen la comunicación entre todos los osteocitos incrustados en la corteza (Fuchs et al., 2019) como se muestra en la Figura 4.

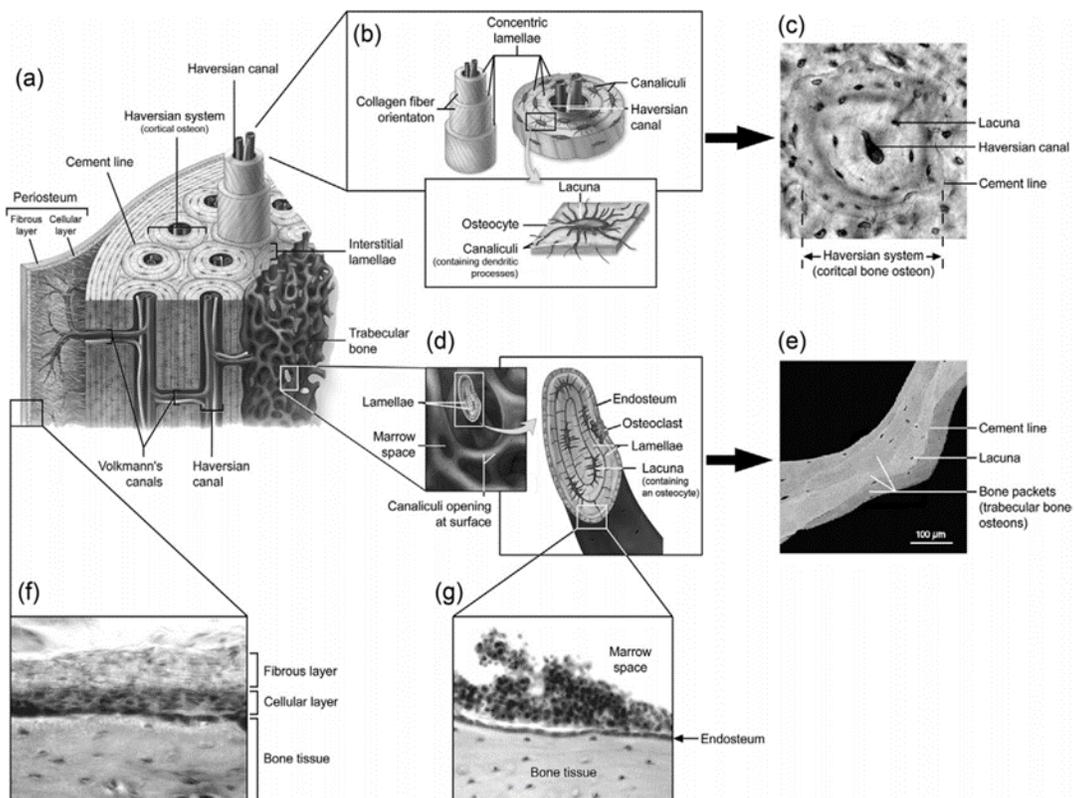


Figura 4 Anatomía microscópica del hueso. Tomado de Fuchs et al., (2019).

2.1.3 Composición del Hueso

El hueso está compuesto por una matriz extracelular mineralizada y células. La matriz extracelular contiene componentes orgánicos e inorgánicos, siendo el colágeno el componente estructural principal de la matriz ósea orgánica, por lo que la mayoría es colágeno tipo I (90%) y cantidades más pequeñas de colágeno tipo III, V, X y XII. Además del colágeno, el 10% de la matriz orgánica está constituida por proteínas no colágenas como la bronectina, la osteopontina, la osteocalcina y la sialoproteína ósea (BSP), junto con proteoglicanos como la decorina y el biglicano. La matriz inorgánica sirve como un depósito de iones que almacena aproximadamente el 99% del calcio corporal total, aproximadamente el 85% de fósforo y entre el 40% y el 60% del sodio y magnesio. Estos iones están en forma de cristales de hidroxipatita los cuales forman estructuras cristalinas alrededor y dentro de las fibras de colágeno lo que le confiere al hueso la propiedad de rigidez mecánica, la resistencia a la tracción y la elasticidad derivadas del colágeno óseo (Fuchs et al., 2019; Ralston, 2013).

Dentro de su composición celular se encuentran los osteoblastos, osteocitos, células de revestimiento óseo y osteoclastos, esenciales tanto para la hematopoyesis como para la fisiología ósea.

Los osteoblastos son células cuboidales de origen mesenquimático, se disponen en las superficies donde se produce formación activa de hueso, es decir en la superficie externa de los huesos se sitúan en la capa más interna del periostio y en la superficie interna se encuentran entre el tejido y la medula ósea. Estas células contienen grandes cantidades de fosfatasa alcalina, enzima que se encuentra en su membrana plasmática y parece ser la encargada de regular la composición de la matriz ósea extracelular, ya sea inhibiendo o favoreciendo el depósito de sales minerales, por lo que desempeñan un importante papel en el control de la formación y mineralización ósea (Florencio - Silva et al., 2015).

Los osteocitos, son osteoblastos que quedan atrapados entre la matriz ósea calcificada, dentro de cavidades llamadas lagunas óseas. Comprenden el 90-95% del total de las células

óseas, son las células más abundantes y longevas, con una vida útil de hasta 25 años. Se mantienen unidos con otros osteocitos mediante una serie de prolongaciones celulares que se proyectan en la matriz ósea a través de los canalículos óseos. Este sistema lacunocanalicular es esencial para permitir el movimiento del líquido intersticial para la detección de estímulos mecánicos, el transporte de desechos y la conexión entre los procesos dendríticos de los osteocitos vecinos. Las últimas conexiones se facilitan a través de las uniones gap, que permiten el transporte de nutrientes para la viabilidad de los osteocitos y la transmisión de mensajes intercelulares (Clarke, 2008).

Las células de revestimiento óseo, son osteoblastos quiescentes de forma plana, que han concluido la síntesis de la matriz ósea, los cuales cubren las superficies óseas donde no se produce la resorción ósea ni la formación de hueso. Algunas de estas células muestran procesos que se extienden hacia los canalículos, conectándose entre si y con los osteocitos. Se ha demostrado que estas células evitan la interacción directa entre los osteoclastos y la matriz ósea, cuando la reabsorción ósea no debe ocurrir (Sodek & Mckee, 2000).

Los Osteoclastos, son células gigantes, multinucleadas, que crean y ocupan concavidades poco profundas en la superficie del hueso llamadas lagunas de Howship, se localizan en la superficie interna de los huesos densos o de las trabéculas óseas. Los osteoclastos derivan embriológicamente de células madres hematopoyéticas denominadas “unidades formadoras de colonias de granulocitos/macrófagos”, precursoras de los granulocitos macrófagos, cuya función principal es el control de la homeostasis del calcio mediante la reabsorción del tejido óseo (Clarke, 2008).

2.1.4 Biomecánica del hueso

Una de las grandes ventajas del hueso es que es mecano-sensible, debido a su capacidad de repararse a sí mismo y adaptarse mediante remodelación y renovación biológica, al alterar su masa, forma y propiedades, para cumplir con las cargas mecánicas que se le imponen, fenómeno conocido como la ley de Wolff, llamada así por el anatomista-cirujano alemán Julius Wolff, quien sugirió que los huesos cambian de forma y se adapta a su entorno para

acomodarse a las tensiones que es sometido (Clarke, 2008; Fuchs et al., 2019), esto se logra a través de diferentes actividades fundamentales a nivel del tejido, que incluyen reparación, crecimiento, modelado y remodelado óseo. La función del modelado y remodelado óseo, influye en los factores que determinan la resistencia del hueso, es decir, el tamaño, la forma, la microarquitectura y las propiedades del hueso, son un factor crucial para controlar la calidad y la cantidad de hueso. Un desequilibrio entre la resorción ósea y la formación ósea dará como resultado una pérdida o ganancia neta de tejido óseo (Johannesdottir & Bouxsein, 2018). Por lo tanto, el equilibrio entre la formación y resorción ósea es necesario y depende de la acción de varios factores locales y sistémicos, incluidas las hormonas, citocinas, quimiocinas y la estimulación biomecánica (Florencio-Silva et al., 2015). Es por esto que con las enfermedades, un uso excesivo o desuso de los medicamentos puede afectar el remodelado óseo, influyendo en la resistencia del hueso y aumentando el riesgo de fractura (Fuchs et al., 2019). Este proceso de daño es particularmente crítico en el hueso osteoporótico donde el proceso de remodelación es mucho más bajo y por lo tanto, puede conducir más fácilmente a la ruptura de trabéculas individuales (Lacroix, 2019). Como se muestra en la Figura 5.

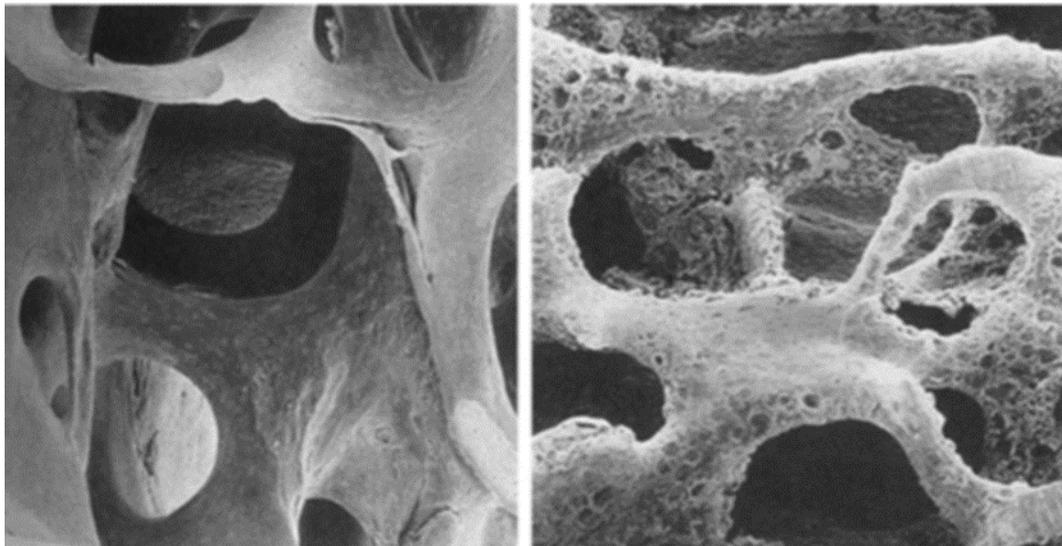


Figura 5 Imágenes de microscopía electrónica de barrido de (a) un hueso esponjoso normal y (b) un hueso esponjoso con osteoporosis. Tomada de Lacroix (2019).

Con la edad y el inicio de la menopausia hay una mayor tasa de recambio óseo que conduce a la pérdida ósea y una microarquitectura ósea anormal, debido al cese de la producción de estrógenos. Esta deficiencia de estrógenos aumenta la vida útil de los osteoclastos, por lo que se reabsorbe más hueso del que se forma, llevando a un aumento de la porosidad, adelgazamiento óseo y desconexión de las trabéculas, lo que finalmente resulta en una disminución de la resistencia ósea y por ende un mayor riesgo de fractura ósea (Johannesdottir & Bouxsein, 2018), la cual ocurre cuando la resistencia ósea (es decir, la capacidad del hueso para resistir una fuerza) es menor que la fuerza aplicada al hueso (Griffith & Genant, 2008), esto depende de la densidad del hueso (la cual proporciona entre 70-80% de la resistencia al hueso), la distribución espacial de la masa ósea (la forma, la relación del hueso cortical con el trabecular y la microarquitectura), y las propiedades intrínsecas de la matriz ósea.

2.2 DMO (Densidad Mineral Ósea)

La densidad ósea es la medida de la cantidad de minerales por lo general de calcio y fósforo que contiene cierto volumen de hueso, sus mediciones se usan para diagnosticar la osteoporosis, determinar si los tratamientos contra la osteoporosis son eficaces y calcular la probabilidad de que los huesos se rompan. Se utiliza la densitometría ósea como prueba de la densidad mineral ósea (DMO), para determinar de forma eficaz la salud de los huesos (Muñoz-Torres et al., 2005).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) determina que la densidad ósea se expresa en unidades de desviación estándar, cuando se tenga la medida de la densidad ósea, esta se relaciona con la de un adulto joven sano, siendo la diferencia expresada en unidades de desviación estándar (DE), el riesgo de fractura u osteoporosis se determina con lo que se aleje ese valor medio de densidad de la desviación estándar (DE) (Sturtridge et al., 1996).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1994 establece unas definiciones basadas en mediciones de masa ósea en columna lumbar, cadera o antebrazo en mujeres postmenopáusicas de raza blanca. Se considera como masa ósea normal valores de

densidad mineral ósea (DMO) superiores a -1 desviación estándar (DE), con relación a la media de adultos jóvenes (T-score >-1); osteopenia valores de DMO entre -1 y -2,5 DE (T-score entre -1 y -2,5); osteoporosis valores de DMO inferiores a -2,5 DE (T-score inferior a -2,5) establecida la osteoporosis junto con las condiciones previas se asocia una o más fracturas por fragilidad. Se considera que el Z-score en grupos de pacientes como niños y adultos jóvenes, que expresa la masa ósea en comparación a la esperada para igual edad y sexo (Lewiecki et al., 2004 ; Muñoz-Torres et al., 2010) como se ve en la Tabla 1.

Tabla 1 Diagnósticos de osteoporosis OMS (Lewiecki et al., 2004)

VALORACIÓN	VALORACIÓN DE DMO
Normal	T-Score > -1 DE
Osteopenia	T-Score entre -1 y -2.5 DE
Osteoporosis	T-Score < -2.5 DE

Se debe tener en cuenta que la DMO informa sobre la densidad mineral del hueso, pero no sobre la arquitectura de dicho hueso, lo cual condiciona a que la técnica no permita diferenciar osteoporosis y osteomalacia, aunque los parámetros de validez son buenos, en la prueba existen potenciales falsos positivos y negativos ocasionados por osteofitos, calcificaciones de las partes blandas, obesidad y técnica incorrecta. La densidad ósea es diferente en cada localización, existiendo una relación entre los resultados de los diferentes puntos de medición, lo que implica que el resultado de una DMO aporta información principalmente de la localización donde se realizó y para el control se debe utilizar siempre la misma ubicación (Orueta & Gómez, 2010).

La importancia del manejo de las diferentes alternativas de medición de la densidad ósea radica en que deben ser técnicas con un índice amplio de precisión y exactitud donde el valor medido, debe estar compensado con el valor real, para que permita evaluar el déficit

de densidad mineral ósea y evitar en lo posible la presencia de errores (Planas & Morote, 2006).

2.3 Métodos de identificación y cuantificación de la densidad ósea

La evolución de los métodos de cuantificación de la masa ósea ha sido trascendental para la identificación de enfermedades como la osteoporosis. La OMS (organización mundial de salud) define la osteoporosis como una enfermedad caracterizada por un nivel bajo de masa ósea asociado a un deterioro de la micro-arquitectura del tejido óseo proporcionando una mayor fragilidad ósea y por consiguiente un mayor riesgo de fractura (Gómez -Alonso & Díaz - López, 2002). Su resistencia refleja principalmente la integración de la densidad del hueso y la calidad ósea. La densidad del hueso se expresa en gramos de mineral por área de volumen (gr/cm^3) y la calidad ósea se refiere a la arquitectura, la remodelación, al daño acumulado (microfracturas) y a la mineralización (Albright & Richardson, 1941), de acuerdo a su fisiopatología intervienen múltiples factores, pero fundamentalmente se trata de un desequilibrio que favorece la actividad osteoclástica sobre la osteoblástica, lo que ocasiona pérdida ósea (Luna, 2008).

Existen diferentes métodos de cuantificación de masa ósea, pueden ser indirectos, el más común, pero no tan exacto, es la lectura cualitativa de una placa radiológica y ha sido la más utilizada en la valoración de la osteoporosis (Gómez -Alonso & Díaz - López, 2002).

Esta técnica utilizada para la evaluación de esta enfermedad puede estar condicionada con los siguientes signos característicos como: remarque de corticales, trabeculación vertical o resorciones subperiósticas las cuales pueden verse distorsionados por la dureza del haz de rayos X, técnica de revelado o esclerosis yuxtarticual que magnifican la radiolucencia ósea (Luna, 2008).

Gracias al progreso tecnológico ha permitido el desarrollo de instrumentos capaces de medir la masa ósea en diferentes áreas esqueléticas con una mayor precisión y exactitud (Díaz - López et al., 1996). La masa ósea permite determinar que el calcio contenido en los

huesos tiene la capacidad de absorber radiación, lo hace en una proporción mayor que las proteínas y que los tejidos blandos, la cantidad de energía en forma de rayos X que es absorbida por el calcio en una sección ósea concreta refleja el contenido mineral óseo (Merchán - Morales, 2013).

2.3.1 DXA (Absorciometría dual de rayos X)

La absorciometría con rayos X de doble energía, también denominada densitometría, puede discriminar diferentes estructuras del organismo. Su modalidad más habitual en la práctica clínica es la densitometría ósea axial, centrada sobre la columna lumbar y la cadera. Esta técnica permite cuantificar la densidad mineral ósea (DMO) y a partir de esos datos, se puede estimar el riesgo de fractura, tomar decisiones terapéuticas y evaluar la respuesta al tratamiento. Es utilizada en cualquier área del organismo, incluso en los maxilares, permite medir la suma de densidades del hueso trabecular y cortical siendo, por tanto, menos sensible a la pérdida ósea (Ramos et al., 2012). Permite analizar la composición corporal total, esto resulta útil para la evaluación de pacientes con trastorno ponderal (se da cuando un niño no crece adecuadamente a lo largo del tiempo), en enfermedades endocrinas y para evaluar el retraso de crecimiento en pacientes pediátricos (Ramos et al., 2012).

Se trata de una técnica de relativamente bajo costo, con mínima radiación y sencilla de realizar, aunque los valores se ven afectados por la composición del tejido blando que rodea al hueso y por la constitución corporal, lo que proporciona resultados contradictorios en distintos estudios (Bachrach, 2007). Aunque es una técnica muy útil, en el campo bucal no está todavía muy desarrollada, esto es debido a que no posee información sobre cortes sagitales, que son muy útiles en planificación implantológica, ya que el posicionamiento de los pacientes para la realización del DXA de los maxilares es bastante compleja (Drage et al., 2007).

Von Wowerm en (1985), introdujo este método en las mediciones de densidad mineral ósea (DMO) del esqueleto axial y Corten en (1993) la utilizó para el análisis del DMO maxilar. Hoy en día es ampliamente utilizada en la mayoría de investigaciones sobre osteoporosis en

el esqueleto en general (Yerby, 2000), estudios sobre torques de inserción de implantes en ortopedia (Cleek, 2007) y estudios que evalúan la osteoporosis general con bajos valores de DMO en mandíbula o maxilar (Elsubeihi, 2004; Amorim et al., 2006; Drage et al., 2007).

2.3.2 QCT (Tomografía Computarizada Cuantitativa)

Es la única técnica tridimensional, volumétrica, para medir densidad mineral ósea. Los valores que proporciona son en g/cm³. Con esta técnica hay disponibles aparatos que miden la masa ósea de columna, cadera y en antebrazo, aunque podría hacerse en cualquier otra localización. La QTC axiales miden la masa de cuatro cuerpos vertebrales, haciendo cortes sagitales cada 8-10 mm. El aparato mide la media de atenuación del hueso del cuerpo vertebral y lo compara con los valores estándar para cada localización. La QTC es el único densitómetro capaz de diferenciar hueso cortical del trabecular. Se ha demostrado que la diferencia de la BMD (Densidad mineral ósea) con la edad, entre sujetos sanos y con osteoporosis es mayor medida con QTC que con DXA (Pacifci et al., 1990).

Las propiedades del hueso trabecular, así como sus cambios, no son bien conocidas aún, existiendo un auge actual en el estudio del mismo a través de sofisticados métodos invasivos como el micro-CT y los análisis histomorfométricos (Rozé, 2009). Investigadores como Fanuscu y Chang en (2004) describieron la microestructura del hueso trabecular maxilar y mandibular encontrando una gran variación de densidades óseas independientemente de la cantidad de hueso trabecular existente.

La QTC tiene tan buen valor predictivo de fractura vertebral como el DXA de columna. La precisión es del 1% en columna y del 1,2-3,0% en cadera. Tiene la desventaja del alto costo y radiación (Ibáñez, 2003).

La tomografía computarizada (CT) ha sido la técnica más desarrollada y en especial durante la última década desde su aparición en 1972 a partir de estudios de G. Hounsfield y A. Cormack (Seeram, 2015), siendo una alternativa diagnóstica en el estudio del esqueleto en general y su técnica ha mejorado con la aparición en 1989 del HCT (Tomografía

Computarizada Helicoidal). Investigaciones reportadas sobre fracturas mandibulares, en cuanto a la eficacia del CT en el diagnóstico de las mismas, fue del 100 % relacionada con la radiografía panorámica que solamente obtuvo un éxito del 86 % (Cleek, 2007).

Es importante no ignorar que la TC, al igual que la radiografía convencional, se basa en el empleo de una radiación ionizante, todos estamos expuestos de forma constante a radiación ambiental, entre las que se incluyen las fuentes artificiales que se estiman constituyen un 15% del total de esa radiación, se nombran a continuación las referencias de dosis radiológicas de las exploraciones utilizadas para comparación según la Tabla 2 (Arana - Fernández et al., 2006).

Tabla 2 Referencias de las dosis radiológicas de exploraciones utilizadas (Arana-Fernández et al., 2006)

Dosis de referencia	Dosis msv	Equivalente a número Rx de tórax	Equivalente a tiempo de radiación ambiental
CT Tórax	8	400	3 años
Rx intraoral	0,002	11/100	12 horas
Ortopantomografía	0,01	1/2	2.4 días
CT dental	< 0.5	25	10 meses

2.3.3 SPA (Absorciometría Fotónica Simple)

Fue la primera técnica densitométrica que se desarrolló. Apareció en los años 60, Con esta técnica, un fotón procedente de una fuente radioactiva atraviesa el hueso periférico. El densitómetro mide la atenuación del haz de rayos X al paso por el tejido. Dado que sólo se utiliza un fotón, no se puede separar la atenuación producida por el tejido óseo de la producida por los tejidos blandos. Esta técnica sólo se puede usar en lugares como el calcáneo o el radio, donde casi todo el tejido atravesado es óseo y por esto quedó en desuso, ya que al desarrollarse los densitómetros de energía de rayos X (SXA) que no requerían radioisótopos (Ibáñez, 2003).

2.3.4 DPA (Absorciometría Fotónica Dual)

Esta técnica, permite la medida de la masa ósea en cualquier región haciendo posible la medición de aquellas regiones comúnmente afectadas por las fracturas osteoporóticas como son la columna y la cadera, esta técnica es semejante a la absorciometría fotónica simple, pero utiliza dos fotones distintos procedentes de un radioisótopo. En este caso, al haber atenuación de dos haces fotónicos, el densitómetro es capaz de diferenciar la atenuación del hueso de los tejidos blandos por tanto se puede utilizar también en hueso periférico (antebrazo), al igual que ocurrió con la SPA, el cual fue reemplazado por la absorciometría dual de rayos X (DXA) que no precisaba una fuente isotópica. (Ibáñez, 2003 ; Vizcaino et al., 2001)

2.3.5 BUA (Ultrasonografía)

Es una técnica densitométrica no invasiva y libre de irradiación, que proporciona información no solo acerca de la densidad mineral ósea, sino también acerca de la arquitectura y elasticidad del hueso (Neira et al., 2004).

La densitometría por ultrasonido, es cada vez más difundida como método de tamizaje inicial; sin embargo, se sugiere que podría también ser de utilidad en el diagnóstico y seguimiento del paciente con osteoporosis (Cunningham et al., 1996).

El calcáneo o también llamado talón es el lugar preferido para medir el ultrasonido cuantitativo por varias razones, contiene una proporción de hueso trabecular cercana al 90% y los cambios metabólicos en el hueso relacionados a la edad se manifiestan primero en el hueso trabecular, de manera que el calcáneo es un buen indicador del estatus del esqueleto. La medición de la densidad mineral ósea en el calcáneo ha demostrado ser un buen predictor del riesgo de fractura de cadera en la perimenopausia y en mujeres ancianas y se correlaciona bien con las medidas de la densidad mineral ósea en fémur (Schott et al., 1995).

A pesar de que el ultrasonido cuantitativo y la densitometría ósea se emplean con las mismas indicaciones, ambas técnicas se basan en propiedades físicas distintas y evalúan diferentes propiedades del hueso. La densitometría ósea es dependiente solo de la cantidad de tejido óseo mineralizado; mientras que el ultrasonido cuantitativo depende de otros factores, como la conectividad, engrosamiento de las trabéculas y anisotropía (propiedad de la materia según la cual cualidades como elasticidad, temperatura, conductividad, velocidad de propagación de la luz, varían según la dirección en la que son examinadas) (Sokolowski & Kamiński, 2018). Estas propiedades son referidas colectivamente como factores de calidad del hueso, tanto la masa ósea, como las propiedades mecánicas, se unen en el denominado “módulo elástico”, que se relaciona a la resistencia al estrés y determinan la velocidad de transmisión de la onda de ultrasonido a través del hueso. A pesar de que la masa ósea juega un papel de principal importancia en determinar la resistencia del hueso al estrés, la posibilidad de evaluar separadamente la masa ósea y las propiedades biomecánicas del hueso, pueden permitir una mejor evaluación del riesgo de fractura (Neira et al., 2004).

La precisión de los QUS es inferior a la DXA y no permite su utilización en la monitorización. En la precisión va a influir desde la colocación del paciente, la temperatura y la composición de los tejidos blandos hasta la protección de silicona que llevan los transductores. Todo ello hace que se deba ser meticuloso en el procedimiento operativo (evitar oscilaciones bruscas de temperatura/humedad y tiempo de estabilización, si se desplaza el equipo (Neira et al., 2004).

Mientras no se establezca una técnica que permita evaluar la resistencia ósea en su conjunto, la densitometría sigue siendo una herramienta básica en el diagnóstico de osteoporosis y en la valoración del riesgo de fractura (Miller, 2003).

CAPITULO III

3 PROTOCOLO DE PREPARACION DE MUESTRAS ÓSEAS

3.1 Introducción

En este capítulo se muestra el desarrollo de un protocolo para seleccionar, preparar y limpiar muestras óseas extraídas de huesos de res, con el objetivo de obtener huesos de prueba con una consistencia estructural adecuada. Adicionalmente se describe una técnica de fabricación que permitirá recrear la existencia de un ligamento periodontal en una probeta ósea previamente preparada. El propósito de la técnica consiste en simular el comportamiento mecánico de un ligamento construido en silicona ubicado entre la cavidad alveolar del hueso y el diente.

3.2 preparación de muestras óseas

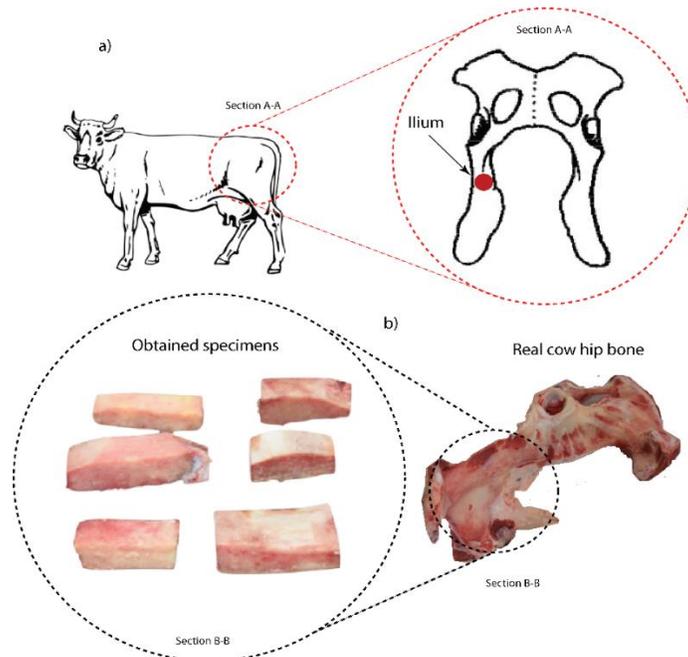


Figura 6 Esquema representativo del proceso de obtención inicial de las muestras de hueso. (a) Representación gráfica del hueso de cadera de res (b) Especímenes de hueso obtenidos

Para la obtención de las muestras óseas como especímenes de trabajo, se seleccionaron huesos de cadera de bovino cuya anatomía es presentada en la Figura 6 a), para el estudio

de identificación de cambios en la densidad ósea usando el sensor piezo-dispositivo, donde el propósito es obtener muestras con suficiente contenido mineral a las que se puedan imponer variaciones pequeñas en su densidad mediante ataques químicos.

Por la irregularidad geométrica presentada por el hueso de cadera de res; se realizaron cortes en los extremos de la cadera con el propósito de obtener muestras de un volumen mínimo tal, que con un proceso de corte posterior se pudiesen llevar a una métrica cúbica controlada; los cortes presentaron caras no rectangulares, como se muestra en la Figura 7 b).



Figura 7 (a) Muestras antes de la inmersión en agua. (b) Muestras luego del proceso de limpieza inicial

Después de obtener las muestras óseas, se sumergen en agua a una temperatura de 70°C, cambiándola 3 veces en el día por 5 días para remover la sangre y la grasa contenida en las muestras. En las Figuras 3.2 a) y b) se puede observar las muestras antes y después del proceso de inmersión.

Siendo aún evidente el contenido orgánico y de grasa en las muestras, se sumergen en una mezcla de 600 ml de agua con 15 ml de jabón líquido desengrasante a una temperatura inicial de lavado de 80 °C, hasta que la mezcla se enfría a temperatura ambiente 16 °C, realizando cambio de mezcla tres veces al día cada cuatro horas durante cinco días, tal y como se representa en la Figura 8



Figura 8 Inmersión de muestras en agua y jabón anti-grasa en un recipiente Beaker

Para finalizar el proceso de limpieza de las muestras, se realizaron remojos usando diferentes sustancias con el fin de llevar las muestras hasta condiciones de limpieza adecuadas. Tomando como base los procesos de limpieza que describen Rodríguez & Ramírez (2009) en su trabajo, se introdujeron las seis muestras en recipientes con tres sustancias diferentes distribuidas de la siguiente manera; dos muestras en hipoclorito de sodio al 5% (NaClO), 2 muestras en peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 4%, y dos muestras en bicarbonato de sodio (NaHCO_3) con agua (20 %) durante un tiempo de 24 horas como se presenta en la Figuras 9 a) y b), respectivamente.

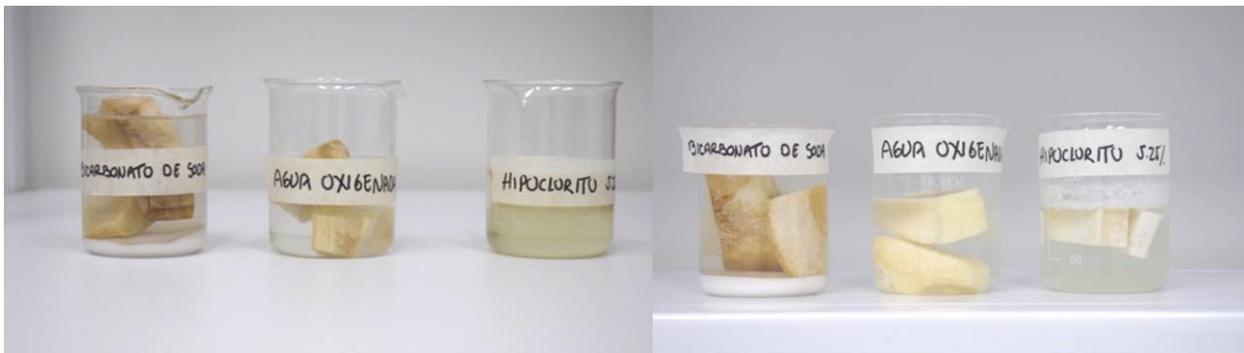


Figura 9 (a) Muestras óseas sumergidas en distintas soluciones. (b) Muestras óseas después de 24 h de estar sumergidas.

Posterior al proceso de limpieza, la etapa final consistió en realizar cortes por capas en taladro de banco, hasta llevar la probeta a unas dimensiones de trabajo medibles. Para las

muestras que lograron el mejor estado de limpieza se muestran en su estado final después del proceso de fresado. Adicionalmente se realiza un proceso de perforación vertical en la parte central superior, para simular la existencia de la cavidad alveolar como se muestra en la Figura 3.5.



Figura 10 Primeras 3 muestras fabricadas con perforación que simulará la cavidad alveolar

Finalmente, en la Figura 11 se muestra un espécimen de trabajo fabricado del conjunto hueso, silicona y diente molar con el sensor piezo-dispositivo acoplado a un bracket. El diente se une al hueso en la cavidad alveolar por medio de silicona pesada, utilizada en tratamientos odontológicos. En estas condiciones el espécimen podrá usarse en la fase experimental para efectuar mediciones de impedancia eléctrica.

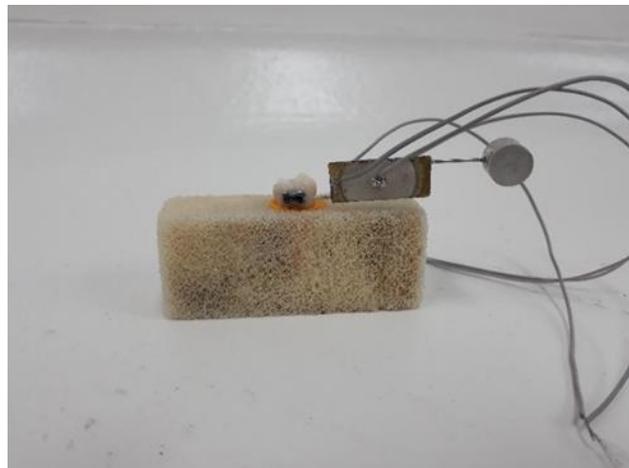


Figura 11 Ensamble espécimen de trabajo, silicona, diente molar y sensor pieza-dispositivo

Después de finalizado el proceso de remojo, las muestras se lavan con agua a 80°C en un recipiente hasta llegar a una temperatura ambiente de 18 °C, para retirar las sustancias de limpieza que se utilizaron en todas las muestras (hipoclorito, peróxido de hidrógeno y mezcla de agua con bicarbonato de sodio) junto con los residuos de material orgánico y grasa restantes. Este procedimiento se realizó 3 veces al día durante dos días. Luego, las muestras son secadas al sol durante 5 horas y después se procede a realizar proceso de secado final usando un ventilador con calentador a 50 °C hasta retirar la totalidad del agua retenida en las trabéculas lo cual se dio en un tiempo aproximado de 5 horas. Es importante aclarar que el tiempo de secado puede variar dependiendo de la temperatura y el tamaño de las muestras, como se observa en la Figura 12.



Figura 12 Muestras óseas después del proceso de limpieza con sustancias

Los resultados de estas pruebas realizadas sugieren que las pruebas con diferentes sustancias pueden ser exploradas más profundamente con análisis químicos que permitan optimizar las concentraciones de las sustancias en relación con los tiempos de ataque sobre la muestra para mejorar la remoción del contenido de grasa y sangre residual en la muestra luego del proceso de lavado con agua y jabón. Finalmente se lograron fabricar muestras con dimensiones cúbicas, realizando cortes por capas con fresa en taladro de banco hasta llegar a una probeta de trabajo lista para la etapa de experimentación de análisis de impedancia.

3.3 Preparación del ligamento periodontal artificial para las muestras óseas

A continuación, se detallan paso a paso las actividades llevadas a cabo para el proceso de construcción de un elemento de unión entre un diente premolar y una probeta de hueso fabricada previamente. Dicho elemento representará la presencia del ligamento periodontal, por lo cual para fines de llevar a semejanza experimentos con la realidad se busca recrear las dimensiones reales de esta membrana.

Inicialmente se prepara una mezcla con yeso tipo II, la cual se vierte sobre un vaso Dappen de silicona como se muestra en la Figura 13 a). Posteriormente se inserta perpendicularmente una fresa cónica que tenga una geometría similar a la anatomía radicular del diente. Luego se introduce la cubeta de yeso número 1 en un recipiente con agua caliente con el fin de acelerar el proceso de fraguado Figura 13 b).



Figura 13 (a) Yeso vertido en vaso Dappen con broca cónica insertada. (b) proceso de endurecimiento en agua caliente

Para dar una medida de acabado final al molde de yeso número 1, se procede a fresar con el mismo pimpollo hasta que la profundidad de la perforación coincida con la longitud de la raíz deseada, para este caso 15mm para un diente premolar seleccionado Figura 14.



Figura 14 Proceso de fresado del molde hasta la profundidad proporcional con la raíz del diente

Se repiten los pasos anteriores, con el fin de fabricar el molde de yeso número 2. Ambos moldes deben ser cubiertos con suficiente vaselina como se muestra en la Figura 15, para evitar que el cemento se adhiera en el siguiente paso.



Figura 15 Aplicación de vaselina en el agujero construido

Se prepara una mezcla de oxifosfato de zinc (Cemento) y se vierte en el agujero cónico del molde de yeso número 1 como se muestra en la Figura 3.11 a). Paralelamente, se toma el diente

(premolar) y se somete a un proceso de desmineralización aplicando ácido fosfórico al 37% en la superficie de la raíz durante 15 segundos Figura 16 b). El propósito de aplicar el ácido

en la superficie del diente es de generar una mejor adherencia del cemento. Posteriormente el diente se

lava, se seca y se inserta en el agujero del molde de yeso número 1 con el cemento y se deja secar por un tiempo aproximado de 8 minutos.



Figura 16 (a) Aplicación de mezcla de oxifosfato de zinc. (b) Desmineralización y preparación de la superficie del diente

Una vez este seco el cemento aplicado Figura 17 a), se procede a destruir la cubeta número 1, lo cual permite obtener una muestra de diente con una capa cónica de cemento en su raíz como se muestra en la Figura 17 b), con la misma geometría del pimpollo usado inicialmente, lo cual permite que la capa de ligamento realizada en el siguiente paso quede uniforme.



Figura 17 (a) Ensamble de diente-cemento en molde de yeso 1 y 2. (b) Diente reconstruido con raíz en cemento.

Se ubican tres alambres de níquel 0.012 in (0.3mm) distribuidos de forma equidistante en el molde de yeso 2 como se describe en la Figura 18 a), este proceso permitirá obtener un espacio de 0.3 mm de separación (espesor característico del ligamento periodontal) entre la raíz de cemento y el molde de yeso 2. Igualmente, se aplica vaselina sobre el agujero del molde de yeso 2 y se aplica pegante bóxer en la superficie radicular del diente Figura 18 b).

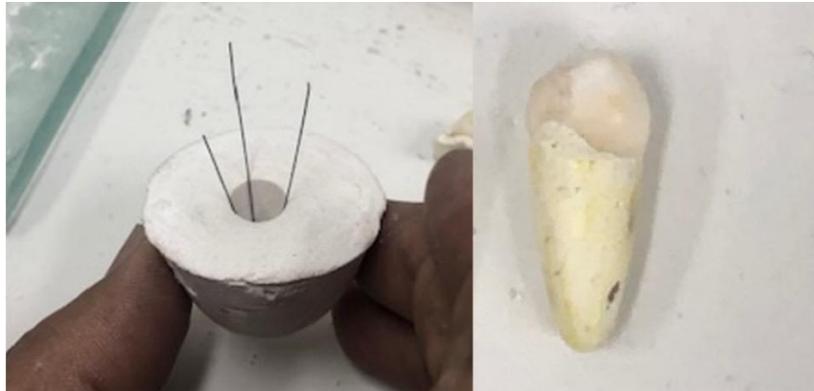


Figura 18 (a) Ubicación de alambres de separación en el molde de yeso 2. (b) Alistamiento del diente con bóxer

Para formar el ligamento periodontal se vierte una mezcla de silicona liviana sobre la cubeta número 2, Figura 19 a) y después se inserta el diente en el agujero teniendo precaución evitando desplazar los alambres de níquel de su posición y así garantizar el espesor deseado en el ligamento Figura 19 b).



Figura 19 (a) Aplicación de mezcla de silicona en el molde de yeso 2. (b) Inserción del diente en la cavidad del molde.

Por último se da un tiempo de secado de 5 minutos y se destruye el molde de yeso 2 usando un disco de corte y herramienta motor-tool para retirar con precaución pequeñas capas de yeso de manera progresiva Figura 20 a) y como resultado final se obtiene un diente con una capa de silicona Figura 20 b) que emulará la presencia de un ligamento periodontal que futuramente será usado como parte del ensamble de una probeta ósea con el objetivo de buscar simular una condición real de un diente unido a una sección de hueso maxilar.



Figura 20 (a) Destrucción del molde de yeso 2 con disco de corte. (b) Conjunto diente ligamento periodontal en silicona.

CAPITULO IV

4 MONITOREO DE LA INTEGRIDAD ÓSEA A TRAVÉS DE LOS DIENTES UTILIZADOS COMO SONDAS

4.1 Introducción

El hueso es un tejido altamente especializado con excelentes propiedades mecánicas que son comparables con otros materiales de ingeniería (Owen et al., 2016). Las funciones principales del hueso son las siguientes: servir como soporte y protección de los tejidos blandos, apoyar el movimiento con el anclaje de los músculos, servir como depósito mineral y funcionar como almacenamiento de la médula ósea (Caeiro et al., 2013). A lo largo de la vida, el hueso se remodela para evitar la degradación acumulativa con el fin de soportar las cargas generadas por los movimientos del cuerpo, así como reparar áreas dañadas y preservar su integridad estructural. En condiciones normales, este fenómeno equilibrado permite regenerar entre el 5 y el 10% del hueso total por año (Fernández - Tresguerras et al., 2006) ya que el mantenimiento del sistema óseo garantiza el bienestar y la calidad de vida de las personas (Karlmanangla et al., 2018).

La densidad mineral ósea (DMO) es un indicador esencial para el diagnóstico de muchas enfermedades que afectan el metabolismo óseo; se refiere a la cantidad de mineral óseo que se encuentra en la estructura ósea. La DMO y el metabolismo óseo se ven alterados por factores genéticos, endocrinos, mecánicos y nutricionales, incluidas las interacciones entre estos (Susan, 2000; Karsenty & Olson, 2016). Por ejemplo, los trastornos de la homeostasis mineral como el raquitismo, la osteomalacia, el hiperparatiroidismo, el hipogonadismo, el hipertiroidismo, la diabetes mellitus tipo I y la enfermedad de Cushing, entre otros, podrían modificar negativamente la DMO (Bordbar et al., 2019). Los trastornos relacionados con el desequilibrio de la remodelación ósea, como la enfermedad de Paget, la osteoporosis y la displasia esclerosante (osteopetrosis) son otras causas de las variaciones de la DMO (Walsh, 2015). También hay alteraciones del colágeno como osteogénesis imperfecta, escorbuto, síndrome de Marfan y Ehlers-Danlos. Finalmente, los medicamentos también pueden causar porosidad ósea como los glucocorticoides y medicamentos como la fenitoína

y el fenobarbital utilizados para tratar la epilepsia (Brandi, 2009; Leib, 2016; Kanis et al., 1992).

Debido a la evidencia de una gran cantidad de afecciones que afectan el hueso, es necesario detectar y controlar los cambios de DMO en las primeras etapas. Actualmente, las técnicas más mencionadas en la literatura son la absorciometría de rayos X de energía dual (DXA), la tomografía computarizada cuantitativa (QCT) (Genant, 2008) y la densitometría de ultrasonido (BUA) (Hans & Baim, 2017). Según Ibáñez (2003), una medida real de DMO requiere un densitómetro tridimensional, y la medición de densidad volumétrica más precisa se obtiene con QCT. Desafortunadamente, QCT tiene la radiación más alta (60 mRem) y el costo más alto. DXA es la técnica más utilizada porque su porcentaje de precisión es adecuado, pero es una técnica que utiliza radiación ionizante y su costo no es accesible para todos (Chugh et al., 2013). Por otro lado, BUA no usa radiación y su costo no es tan alto, su desventaja es en términos de precisión y exactitud porque depende de la accesibilidad de los sitios de medición (Fogelman & Blake, 2000; Hans & Baim, 2017). En general, las técnicas mencionadas son capaces de cuantificar la masa ósea en diferentes lugares, pero aún son invasivas y su accesibilidad está restringida para la mayoría de la población. La Organización de las Naciones Unidas (ONU) informa que las áreas rurales presentan un nivel muy bajo de infraestructura y equipo médico; Esto hace que se reduzca el acceso al diagnóstico precoz de las enfermedades óseas (Montero, 2017). Por lo tanto, se deben explorar métodos alternativos para evaluar las alteraciones de la densidad ósea.

En este capítulo se describe el proceso que se llevó a cabo para efectuar mediciones de impedancia electromecánica en especímenes de hueso trabecular obtenidos de cadera de res, utilizando el sensor piezo-dispositivo. El estudio consistió en realizar tres experimentos en especímenes de hueso trabecular de diferentes dimensiones y con dientes de diferente anatomía acoplados como sondas que actúan como interfaces de acople entre el hueso y el sensor piezo-dispositivo usando el equipo analizados de impedancia KEYSIGHT E4990A para excitar, realizando un barrido en la frecuencia en el rango de 1-20 kHz. Los experimentos se realizaron efectuando mediciones en los especímenes en condición sana (sin daño) y posteriormente se efectuaron mediciones induciendo secuencias de daño con

perforaciones mecánicas en los especímenes. Finalmente se correlacionan las pérdidas de masa de cada muestra con un índice RMSD con el fin de cuantificar los daños ocurridos en el hueso.

4.2 Materiales y métodos

4.2.1 Mediciones de impedancia electromecánica

La técnica electromecánica se basa en mediciones eléctricas de elementos transductores con propiedades capacitivas, inductivas y resistivas. La capacidad de transformar la energía mecánica en energía eléctrica proporciona ventajas cuando estos elementos se incorporan a las estructuras, tanto que Liang et al. (1997) demostró que las propiedades mecánicas de la estructura de alojamiento están acopladas con el elemento electromecánico. Por lo tanto, cualquier cambio en la estructura de alojamiento modificará las propiedades eléctricas de la misma. Una gran oportunidad para observar variaciones en la estructura de alojamiento puede llevarse a cabo mediante mediciones de impedancia eléctrica. Liang et al. (1997) propusieron el siguiente modelo de admitancia eléctrica para explicar el efecto de acoplamiento electromecánico, como sigue

$$Y_P^E(\omega) = \frac{2\omega jw_p}{h_p} \left[e_{33} - d_{31}^2 \bar{y}^E + \left(\frac{Z_p^M(\omega)}{Z_p^M(\omega) + Z_s^M(\omega)} \right) d_{31}^2 \bar{y}^E \left(\frac{\tan(kl_p)}{kl_p} \right) \right], \quad (1)$$

donde h_p representa el grosor, l_p la longitud, w_p el ancho de una lámina piezoeléctrica, d_{31} es el coeficiente de deformación piezoeléctrica correspondiente a las coordenadas $x(1) - z(3)$, $\bar{y}^E = y^E(1 + \eta)$ es el módulo de Young complejo en un campo eléctrico constante y $\bar{y}^\sigma = y^\sigma(1 + \eta)$ es la permisividad eléctrica compleja del material piezoeléctrico en tensión constante. η y δ denota tanto la pérdida mecánica como los factores de pérdida dieléctrica, es el número de onda. $Z_s^M(\omega)$ representan las impedancias mecánicas de la lámina piezoeléctrica y la estructura del huésped.

4.2.2 Configuración experimental y metodología

El sensor electromecánico piezo-actuado diseñado y presentado previamente en (Tinoco et al., 2019) fue utilizado como dispositivo sensor para evaluar su operatividad y funcionamiento en una aplicación bio-estructural. Para este propósito, tres experimentos fueron conducidos usando tres muestras como se observa en la Figura 21. Cada muestra está compuesta de dientes humanos que actúan como sondas (interfaces de acople) entre el piezo-dispositivo y los especímenes de hueso. El ensamblaje de cada muestra se hizo embebiendo cada diente dentro de un agujero que representa la cavidad alveolar de un hueso maxilar. Los dientes fueron integrados al hueso aplicando una capa de silicona liviana que representa la presencia del ligamento periodontal. Las cavidades de los dientes fueron hechas previamente por perforaciones de taladro hasta alcanzar una geometría proporcional de cada raíz del diente. Los tres experimentos fueron preparados de la siguiente manera; el primer experimento fue ensamblado con un diente (un molar), el segundo con dos (un molar y un premolar) y el tercero con tres dientes (un molar y 2 premolares); Las dimensiones de las muestras son detalladas en la Figura 21.

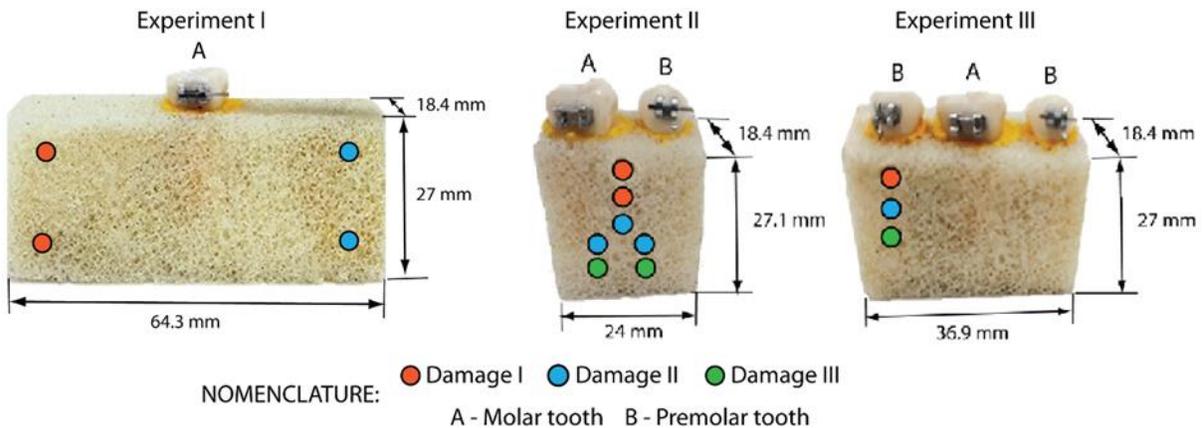


Figura 21 Descripción de las muestras fabricadas, representación de las secuencias de daño y dimensiones de las muestras.

Las pruebas experimentales fueron diseñadas para monitorear una condición de daño inducida por perforaciones mecánicas que representan físicamente una pérdida de masa y un cambio en la rigidez de la muestra. Sin embargo, en este trabajo la característica física a

estudiar es la pérdida de masa. En las muestras, el orden de las perforaciones es representado por colores que indican la etapa del daño, de esta manera fueron inducidos tres como nivel máximo de daño y estos fueron hechos con una broca de 2.5 mm de diámetro. El daño acumulado en cada muestra fue definido con una restricción de pérdida de material total menor que 80 mg. La justificación para definir esta restricción es que, en aplicaciones reales, normalmente la degradación del hueso es baja; por lo cual se decide inducir pequeños cambios másicos que puedan ser evaluados con el sensor piezo-dispositivo. En cada muestra, las localizaciones de daño fueron definidas con el objetivo de evaluar la sensibilidad en una región alejada del diente (experimento 1), para evaluar la sensibilidad de dientes vecinos y la relación entre ellos.

El procedimiento experimental fue desarrollado de la siguiente manera; las tres muestras fueron fijadas en una prensa mecánica y posteriormente se realizaron los daños con perforaciones como se indica en la Figura 21. En cada etapa de daño, las señales de resistencia eléctrica fueron medidas usando un analizador de impedancia (E4990A, Agilent, Palo Alto, CA), ambos electrodos son conectados en una configuración invertida como es ilustrado en la Figura 21. La técnica basada en medidas de impedancia consiste en excitar ambos transductores piezoeléctricos por un voltaje armónico mientras la corriente es adquirida simultáneamente, los detalles pueden ser revisados en (Tinoco et al., 2019). Para nuestra aplicación se generó una señal de voltaje de barrido lineal en el ancho de banda 5 a 20 kHz con 1601 puntos de resolución. Adicionalmente, se tomaron las medidas de masa para cada etapa de daño en todos los experimentos como se detalla; experimento 1 con dos etapas, y tres etapas para los otros dos experimentos (Experimento 2 y 3). Todas las muestras fueron posicionadas en la prensa mecánica durante los experimentos para evitar desplazamientos laterales y garantizar estabilidad

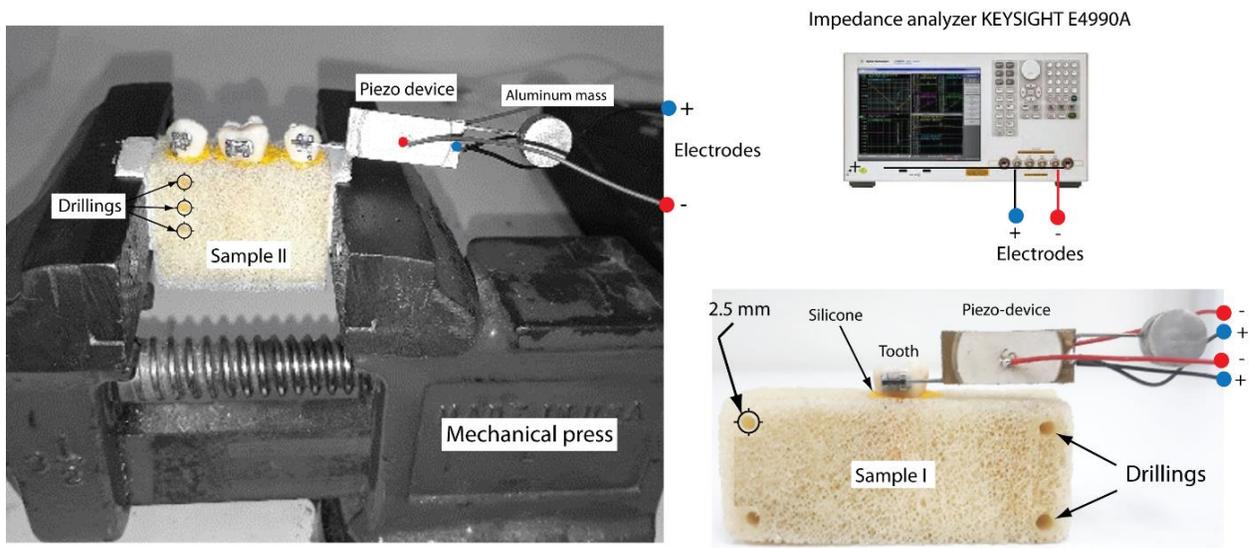


Figura 22 Configuración experimental de las pruebas efectuadas en las tres muestras.

4.3 Resultados y Discusión

4.3.1 Resistencia eléctrica del experimento 1 para perforaciones en los extremos de la muestra.

En la Figura 4.3 a) se muestra el resultado de las mediciones de resistencia eléctrica realizadas en el ancho de banda (5-20 kHz) con el piezo-dispositivo acoplado al espécimen de hueso 1 usando un diente molar (A) como interface de acople. Para las tres señales adquiridas (hueso sano, daño 1, daño 2) se evidencian tres picos de resonancia característicos del piezo-dispositivo y se presenta un desplazamiento de la señal de resistencia eléctrica hacia abajo, causado por los daños inducidos. Con base a lo anterior fue posible inferir que los picos de resonancia propios del piezo-dispositivo, no variaron de forma dramática y se evidencia que la impedancia mecánica del sensor se mantiene como estructura principal de la señal. Este trabajo se basa en la hipótesis de que, independientemente de la ubicación del daño, el piezo-dispositivo pueda detectar las variaciones estructurales proporcionalmente con los cambios en las señales de resistencia eléctrica que son monitoreadas, cuando se usa un diente molar (A) como interface de acople.

Después de analizar las curvas, se encontró una ventana de observación en la cual la señal fue sensible a los daños (hueso sano, daño 1, daño 2). La ventana de observación fue elegida entre los 13.8-14.4 kHz y se encuentra ubicada entre el segundo y tercer pico de la señal (A-A); el enfoque de la señal es mostrado en la Figura 23 b). Se evidencia un desplazamiento de la señal hacia abajo proporcional con cada nivel de daño, lo cual valida la sensibilidad del piezo-dispositivo para detectar los cambios que generan los daños en una zona alejada del diente.

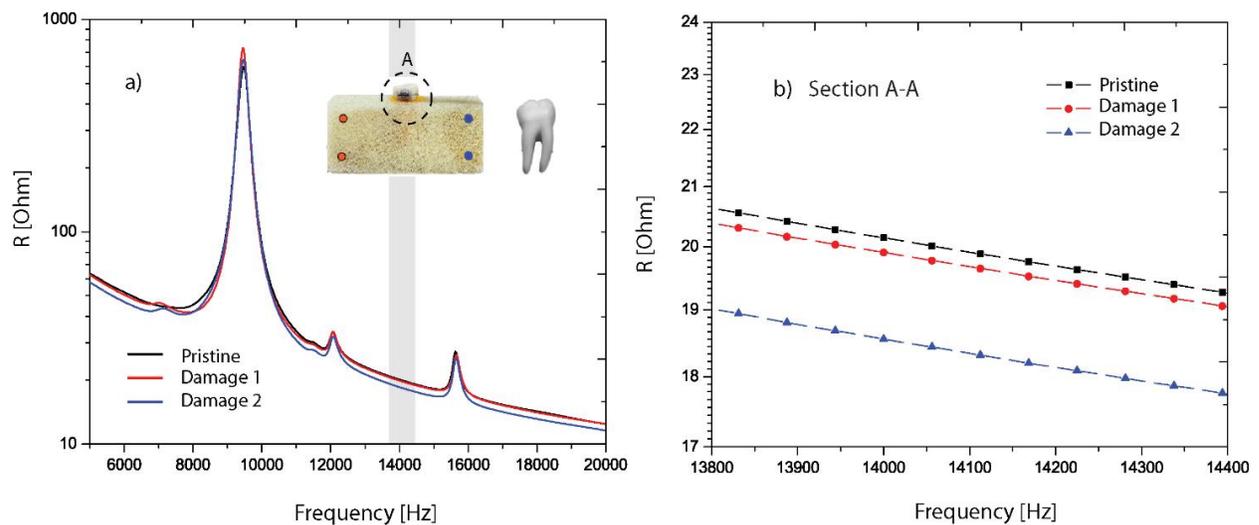


Figura 23 Señales de resistencia eléctrica en el rango (a) 1-20 kHz, experimento 1. (b) 1-20 kHz experimento 1.

4.3.2 Resistencia eléctrica del experimento 2. Perforaciones en los extremos de la muestra.

Para el experimento 2 (muestra con dos dientes) se obtuvieron las mediciones de resistencia eléctrica en el rango 5-20 kHz, evaluando tres condiciones de daño en la muestra 2 usando dos dientes diferentes (molar A, premolar B); para ambos casos las señales adquiridas son representadas en la Figura 24 a) y c), respectivamente.

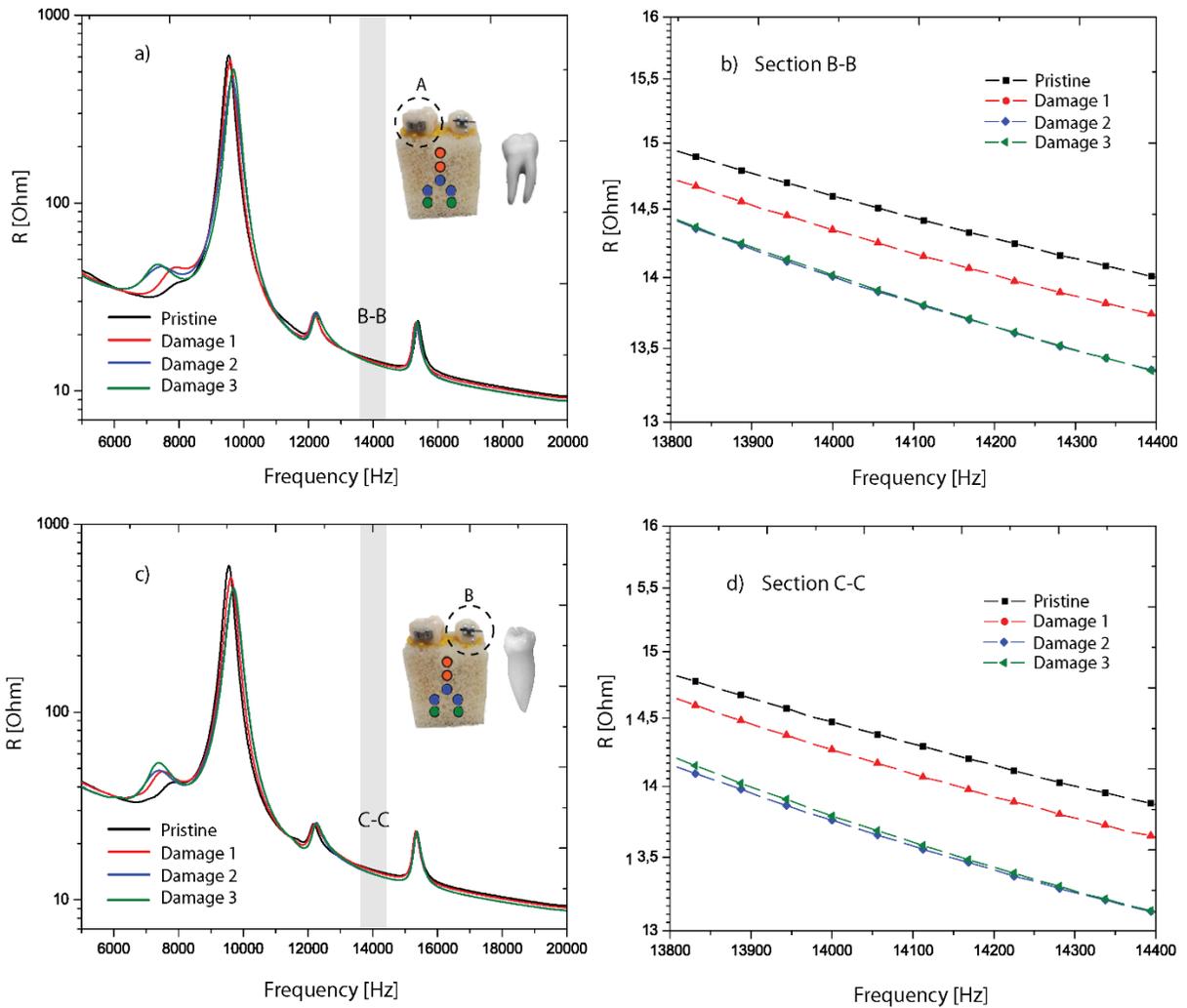


Figura 24 Señales de resistencia eléctrica en el rango (a) 1-20 kHz experimento 2 (diente molar A). (b) 13.8-14.4 kHz experimento 2 (diente molar A). (c) 1-20 kHz experimento 2 (diente premolar B). (d) 13.8-14.4 kHz experimento 2 (diente premolar B)

Para ambos casos se evidencia que las señales tomadas conservan la estructura de los 3 picos característicos del piezo-dispositivo y al igual que en el caso del experimento 1 los picos no varían mucho. Para ambas mediciones se eligió la ventana de observación 13.8-14.4 kHz, y fue posible observar las mediciones efectuadas usando ambos dientes como sondas presentaron tendencias casi iguales. En las gráficas representadas en la Figura 24 b) y d) se observa que las señales de resistencia eléctrica correspondientes con el daño 1 y 2 presentan un desplazamiento hacia abajo con respecto a la condición de hueso sano cuando se efectúan mediciones con los dos dientes en el mismo hueso. Sin embargo, la medición

del daño 3 presentó un leve desplazamiento hacia arriba con respecto a la señal del daño 2. En la Figura 24 b) se observa que este desplazamiento es casi similar en todo el rango de frecuencia, aunque la señal presenta más separación entre los 13.9-14 kHz. También, En la Figura 24 d) se puede apreciar que este desplazamiento es más pronunciado cuando la medición se realizó con el diente premolar (A); en este caso la señal inicia con un desplazamiento mayor a los 13.8 kHz y termina casi unida a la señal del daño 2 a los 14.4 kHz.

4.3.3 Resistencia eléctrica del experimento 3. Sensibilidad a los daños cuando se efectúan mediciones con dientes vecinos.

Los resultados de las mediciones de resistencia eléctrica para el experimento 3 (muestra con 3 dientes embebidos), son mostrados en la Figura 25 a), c) y e) para un primer diente premolar (A), un diente molar (B) y un segundo diente premolar (A), respectivamente. El enfoque de este experimento es evaluar la sensibilidad de los daños cuando se usan dientes vecinos, es decir, se efectuaron mediciones con un diente posicionado directamente en el lugar del daño (primer diente premolar A), y posteriormente se adquirieron las medidas con los dientes restantes (molar B, y segundo diente premolar) los cuales están en una posición más alejada de la zona de daño. Para este experimento, las señales adquiridas presentan los picos de resonancia propios del piezo-dispositivo y se eligió la misma ventana de observación en el rango 13.8-14.4 kHz.

La Figura 25 b), muestra las señales de resistencia eléctrica para la medición realizada por medio del primer diente premolar (A); y en este caso se evidencia un desplazamiento hacia abajo de la señal para todos los niveles de daño. Por otro lado, en la Figura 25 d) se evidencia que las señales tomadas con el diente molar (B) se desplazan hacia abajo hasta el nivel de daño 2, mientras la señal del daño 2 inicia con un desplazamiento hacia abajo con respecto al daño 1 desde los 13.8 kHz hasta los 14.2 kHz y a partir de esta frecuencia se entrecruza con la señal del daño 1 terminando con un desplazamiento hacia arriba con respecto al daño 1 al final del rango en 14.4 kHz. Sin embargo, la señal del daño 3 presentó un desplazamiento hacia arriba con respecto a los daños 1 y 2.

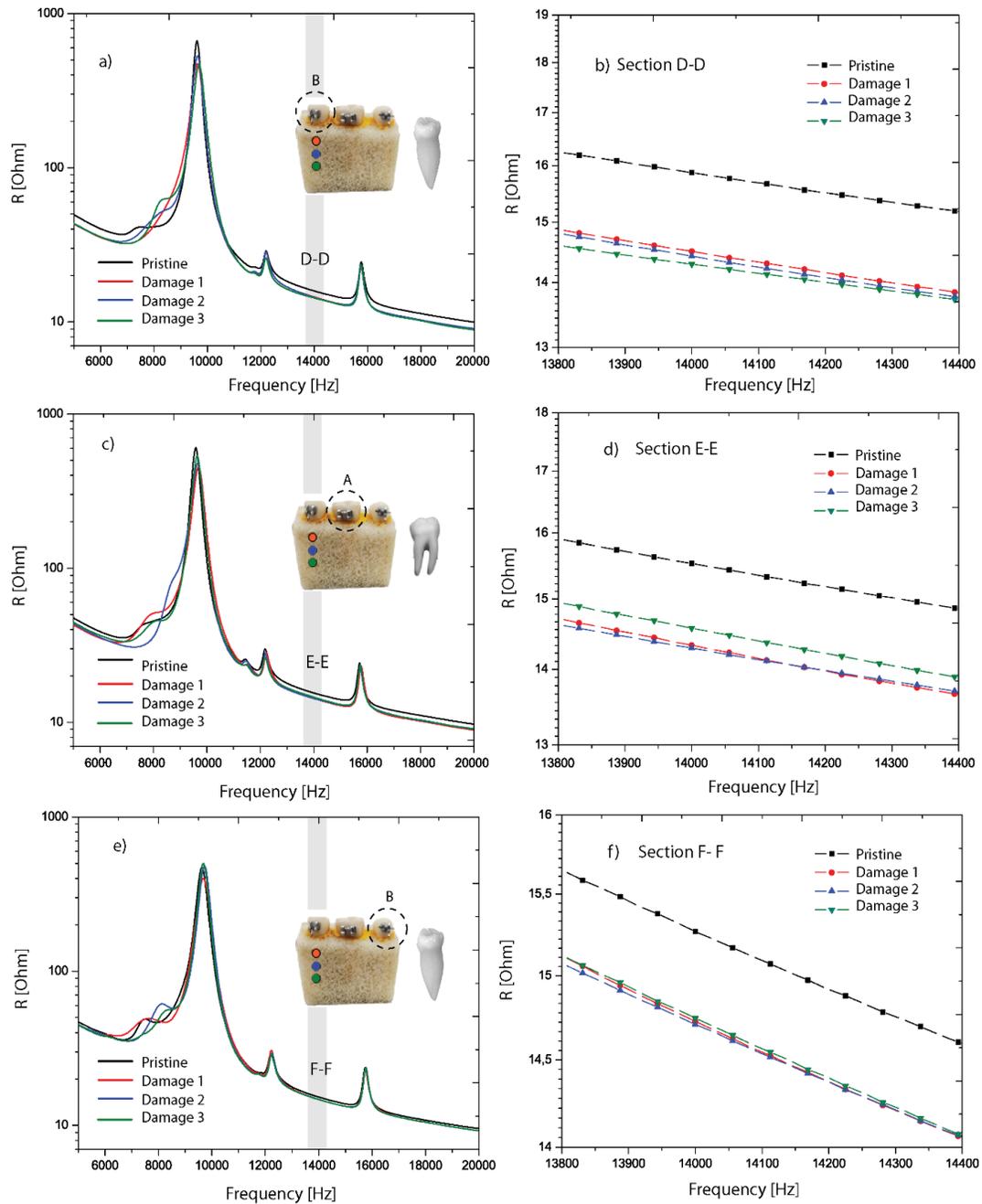


Figura 25 Señales de resistencia eléctrica en el rango (a) 1-20 kHz experimento 3 (primer diente premolar B). (b) 13.8-14.4 kHz (primer diente molar B). (c) 1-20 kHz (diente molar A). (d) 13.8-14.4 kHz (diente molar A). (e) 1-20 kHz experimento 3 (segundo diente premolar B). (f) 13.8-14.4 kHz (segundo diente premolar B)

Finalmente, en la Figura 25 f) se representan las señales obtenidas para la medición efectuada con el segundo diente premolar (A). Se evidencia un desplazamiento de la señal hacia abajo hasta el nivel de daño 2, aunque las señales del daño 1 y 2 se empiezan a

acercar desde los 14.15 kHz y terminan uniéndose al final del rango en los 14.4 kHz. Al igual que la medición anterior, la señal de resistencia eléctrica correspondiente al nivel de daño 3 presentó un desplazamiento hacia arriba con respecto a los niveles de daño 1 y 2.

CAPÍTULO V

5 CORRELACIÓN EXPERIMENTAL ENTRE LOS ÍNDICES DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA Y LA ALTERACION ÓSEA

5.1 Introducción

En este capítulo se describe una prueba experimental que demuestra la correlación entre la densidad ósea e impedancia eléctrica que permite monitorear la pérdida de densidad en muestras de hueso usando los dientes como sondas. Para la caracterización de las muestras, micro-tomografía computarizada (micro-CT) de rayos X fue aplicada para cuantificar la densitometría, morfología trabecular, contenido mineral óseo entre otros parámetros. Durante el experimento muestras de hueso fueron descalcificadas localmente con ácido clorhídrico con el fin de observar los cambios en la impedancia eléctrica durante el proceso degradación ósea. Los resultados de las evaluaciones eléctricas hechas por el dispositivo, evidencian cómo gradualmente las señales de impedancia son afectadas en ciertos intervalos de frecuencia. Estos desfases fueron cuantificados a través de índices que a su vez se correlacionaron linealmente con la pérdida de densidad, el resultado sintetiza los efectos de los cambios sobre las señales eléctricas del dispositivo cuando la descalcificación ocurre por los efectos de la pérdida de densidad local.

5.2 Experimento de degradación ósea sobre 5 muestras sometidas a diferentes tiempos de descalcificación por ácido clorhídrico

En la Figura 5.1 a) se observan cinco muestras de hueso preparadas con los protocolos mostrados en el Capítulo III. Las muestras fueron sumergidas en 3 ml de sustancia descalcificante TBD-1 (base de ácido clorhídrico) de la siguiente manera: 4 Muestras de réplica (1, 2, 3, 4) fueron sumergidas a diferentes tiempos en el líquido de menor a mayor tiempo como se detalla en la Figura 5.1 a); y una quinta llamada muestra principal (5) la cual fue usada para efectuar las mediciones de impedancia eléctrica con el piezo-dispositivo desde un tiempo inicial $t=0$ hasta un tiempo final de $t_f:8520s$. Las mediciones fueron registradas en 13 intervalos de tiempo mientras el ácido degradaba la muestra 5. La

zona de ataque de la muestra es la superficie opuesta a la perforación que representa el alvéolo como se describe en la parte central de la Figura 26 b). El analizador de impedancia KEYSIGGHT E49990A fue usado para obtener las medidas de impedancia eléctrica, pero equipos como el Generador de funciones Tektronix AFG1000, Osciloscopio Tektronix TBS1072B y Fuente de alimentación de poder de salida múltiple 2231A-30-3, fueron usados para calibrar el sensor y el experimento.

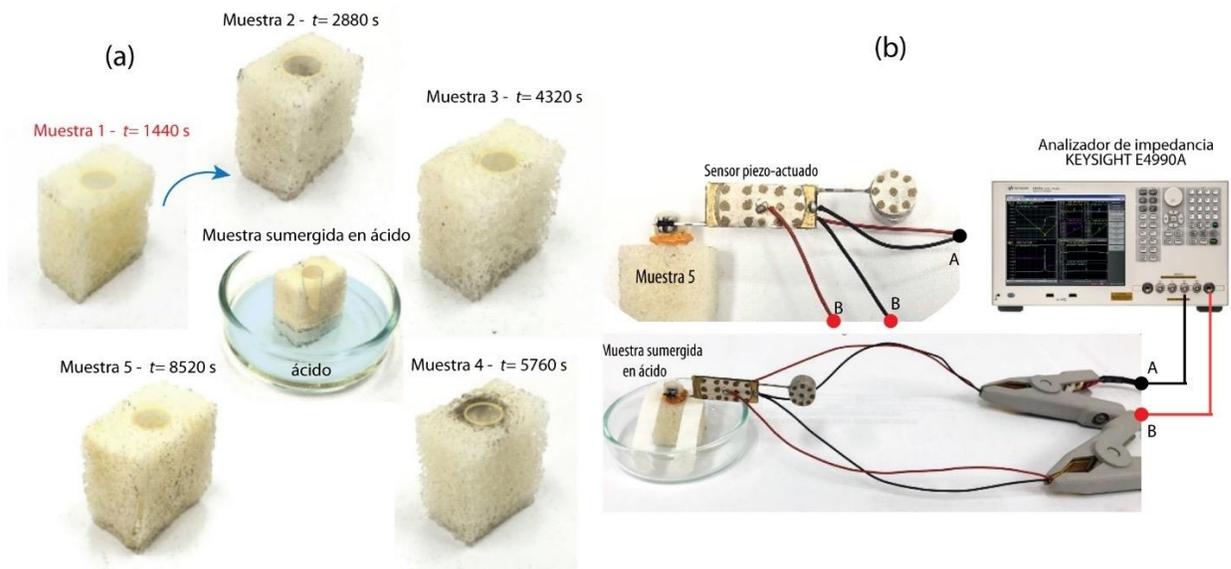


Figura 26 Muestras de hueso sometidas a un proceso de descalcificación para diferentes tiempos de exposición en ácido.

Cada muestra fue expuesta al ácido en los siguientes tiempos:

- TDB-1 (1): (Tiempo de inmersión: 1440 s)
- TBD-1 (2): (Tiempo de inmersión: 2880 s)
- TBD-1 (3): (Tiempo de inmersión: 4320 s)
- TBD-1 (4): (Tiempo de inmersión: 5760 s)
- TBD-1 (5): (Tiempo de inmersión: 8520 s)

De igual manera después de cada experimento, el ácido extraído a las muestras de hueso fue dispuesto en recipientes herméticos numerados en la misma secuencia y corresponden con los tiempos de exposición descritos anteriormente, esto para un análisis químico.

5.3 Análisis por Micro CT

Después de realizar los experimentos, las muestras fueron enviadas a **CTLAB** x-ray computed tomography perteneciente al CENTRAL EUROPEAN INSTITUTE OF TECHNOLOGY localizada en Brno, Republica Checa. Mediciones de densidad ósea fueron realizadas por el laboratorio, resultado de una propuesta de investigación que fue aprobado por el laboratorio. El siguiente equipo de Microtomografía computarizada (micro-CT) fue utilizado en la medición:

RIGAKU nano3DX

- Sample stage: automatic 5-axis stage
- Stage rotation axis accuracy: $<0.5 \mu\text{m}$
- Detector: X-ray CCD camera
- Dynamic range: 16 bit
- Number of pixels: 3300×2500
- Linear pixel size: $0.27 \mu\text{m}$, $0.54 \mu\text{m}$, $1.08 \mu\text{m}$, $2.16 \mu\text{m}$
- Field of view: $0.7 \times 0.9 \text{ mm}$, $1.4 \times 1.8 \text{ mm}$, $2.8 \times 3.6 \text{ mm}$, $5.6 \times 7.2 \text{ mm}$
- Rotatory target: Cr, Cu and Mo
- Tube voltage: 20 to 50 kV
- Tube current: up to 30 mA

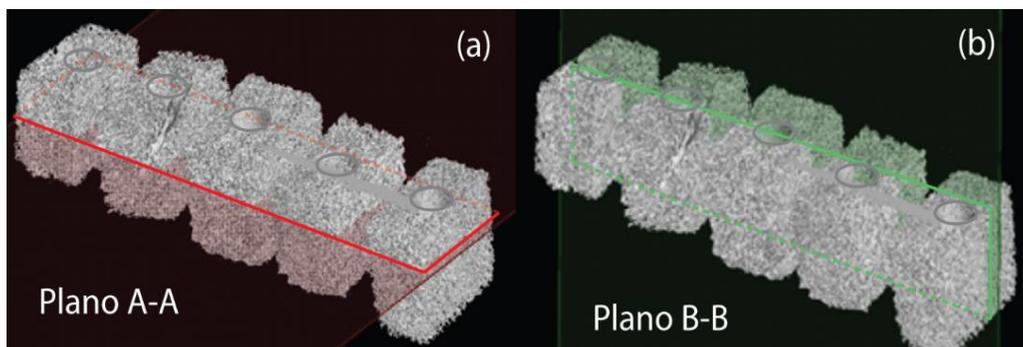


Figura 27 Planos de corte en los modelos de hueso reconstruidos computacionalmente con el micro-CT. a) Plano transversal. b) Plano vertical.

En la Figura 27 podemos observar los gráficos en 3D de cada muestra de hueso que corresponden con un archivo STL (formato de Computer aided design/CAD) con el objetivo de visualizarlos. Para observar las estructuras internas y morfología ósea, los planos de corte A-A y B-B fueron definidos como planos de observación. La segmentación de los planos es mostrada en imágenes planas organizadas en la Figura 28; por ejemplo, en el plano A-A podemos evidenciar claramente la circunferencia que dejó la herramienta usada para crear el alveolo. Pero, en el plano B-B, el perfil del alveolo se distingue de forma más detallada, el cual muestra que el alveolo no fue hecho de forma cilíndrica si no con la bio-forma para el diente premolar usado. La forma alveolar fue recreada con el procedimiento constituido en el Capítulo III.

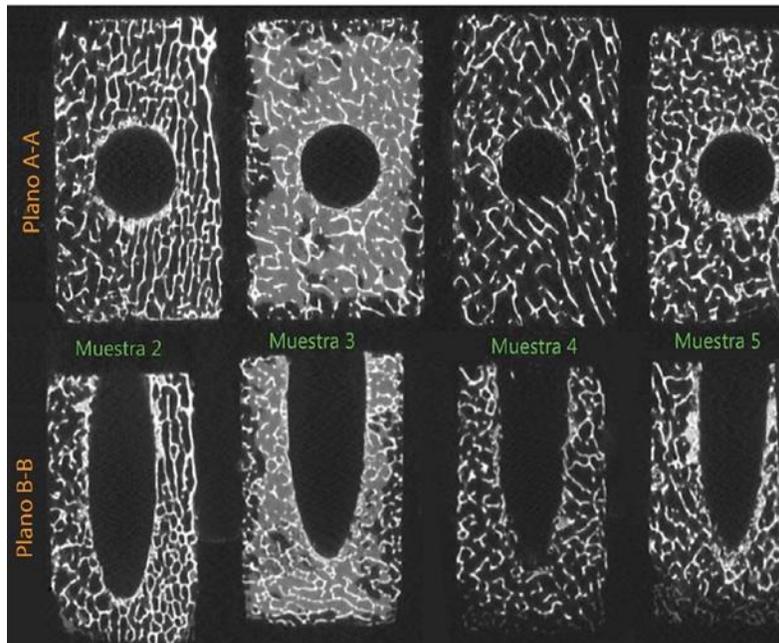


Figura 28 Segmentación de los planos A-A y B-B para el análisis del material óseo.

Podemos observar que la estructura trabecular de cada muestra difiere entre todas, por ejemplo, la muestra 2 presenta espacios trabeculares más estructurados y de menor tamaño que la otras. La muestra 3 contiene no solo hueso si no un residuo orgánico ya que este se ve con un gris claro, eso puede significar que el procedimiento de limpieza no fue suficiente. Sin embargo, para emitir parámetros de comparación, un análisis cuantitativo es

realizado en las secciones posteriores. Como descripción final, en la sección del plano B-B, se puede determinar que las regiones donde el ácido degradó el hueso corresponden con las morfologías de color gris oscuro, estas regiones son más visibles en las muestras 4 y 5, específicamente en su parte inferior. La segmentación de las imágenes permite diferenciar a través del color lo que es hueso y lo que representa su estructura interna, que en el caso de las imágenes presentadas es blanco para hueso y gris para la estructura residual después de la descalcificación por ácido. Para tener un parámetro de comparación de la segmentación, en la Figura 29 a) vemos la comparación de las muestras 1 y 5, las regiones azul oscuro corresponden con el ataque por ácido y las blancas son asociadas a la estructura trabecular sana.

Para cuantificar parámetros morfológicos de las muestras, regiones particulares son seleccionadas para este propósito. La idea es comparar tres regiones en cada muestra, estas regiones serán denominadas como A (superior), B (inferior alveolo) y C (inferior ácido). Las regiones A, B y C fueron seleccionadas como lo describe la Figura 29 b).

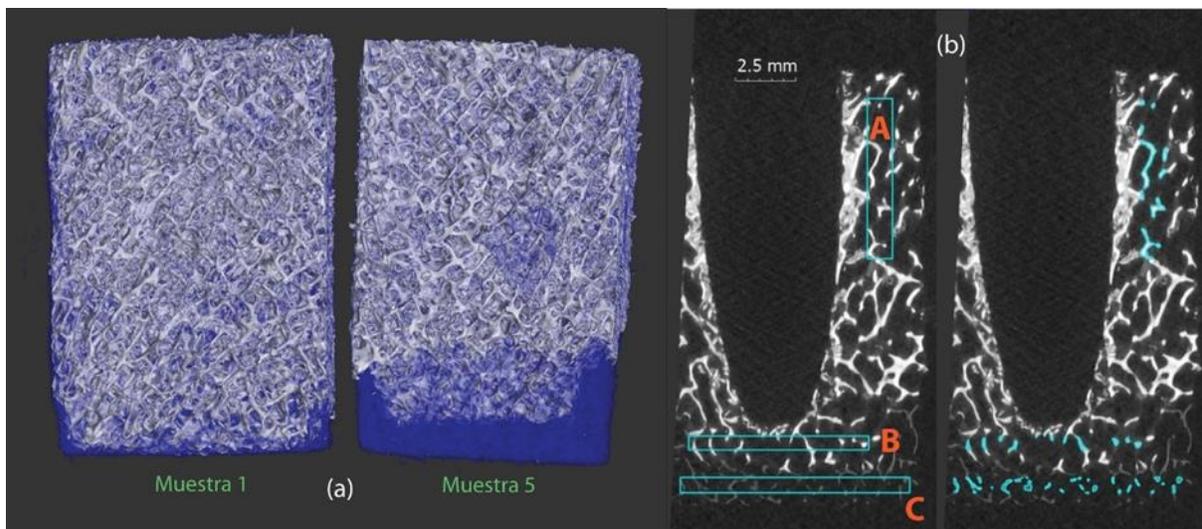


Figura 29 (a) Segmentación de las muestras 1 y 5. (b) Determinación de regiones sobre la segmentación ósea, muestra 5.

De acuerdo a las capacidades tecnológicas del equipo de micro-CT, los datos listados en la Tabla 1 fueron calculados por el proceso de análisis en las regiones de estudio A, B y C. Donde las siguientes características son analizadas; volumen total, volumen de contenido

mineral óseo y espesor de trabécula. Para las regiones C, solo el espesor de la trabécula no pudo ser calculado porque la segmentación no pudo determinar mineral de hueso en esta región.

En la Figura 30, se ilustra como el espesor trabecular es caracterizado por medio de un análisis de variación aplicado en las zonas A y B, los valores listados en la tabla corresponden con las medias aritméticas del espesor trabecular. Para comparar los parámetros cuantitativos obtenidos por el micro-CT, adicionalmente parámetros cualitativos también fueron determinados. Con este objetivo, un microscopio óptico ZEISS Axio Zoom V16 fue usado para fotografiar la morfología de cada muestra para comparar sus estructuras internas. Podemos observar que la morfología trabecular de las muestras 1, 2 y 3 presenta mayor densidad que la densidad trabecular de las muestras 4 y 5, las cuales se ven más porosas y estructuradas.

Tabla 3 Resultados obtenidos por el Micro-CT análisis.

Región/muestra	Volumen Total [mm³]	Volumen hueso [mm³]	Relación [%]	Espesor de trabécula [um]	Desviación del espesor [um]
1A	118	28	24	231	64
1B	54	11	21	221	63
1C	62	12	20	-	-
2A	118	31	26	185	66
2B	54	13	24	148	42
2C	43	10	22	-	-
3A	118	28	24	194	61
3B	54	14	25	176	52
3C	98	22	23	-	-
4A	118	15	13	149	50
4B	54	5	10	137	45
4C	98	6	6	-	-

5A	118	20	17	165	50
5B	54	8	15	148	42
5C	98	9	10	-	-

En la Figura 31, se observa el valor del espesor medio para las regiones A y B con el cual una comparación entre regiones determinará, que en la misma muestra el tipo de estructura ósea es relativamente igual. Esto es realizado con el fin de demostrar que no hay diferentes distribuciones trabeculares en la muestra, ya que como es sabido el hueso es un material graduado y las muestras no deben contener estos gradientes de material. Podemos mencionar que la muestra 1 (231 μm) contiene trabéculas de mayor espesor y que la muestra 4 (139 μm) es la de menor espesor.

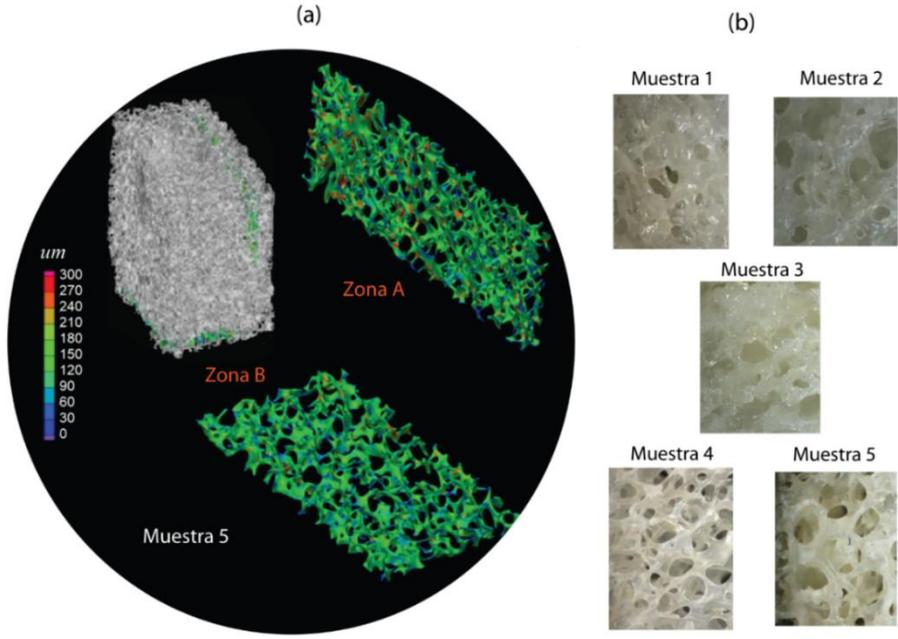


Figura 30(a) Caracterización computacional de la pared trabecular. (b) Análisis de imágenes tomadas por microscopio óptico ZEISS Axio Zoom.V16

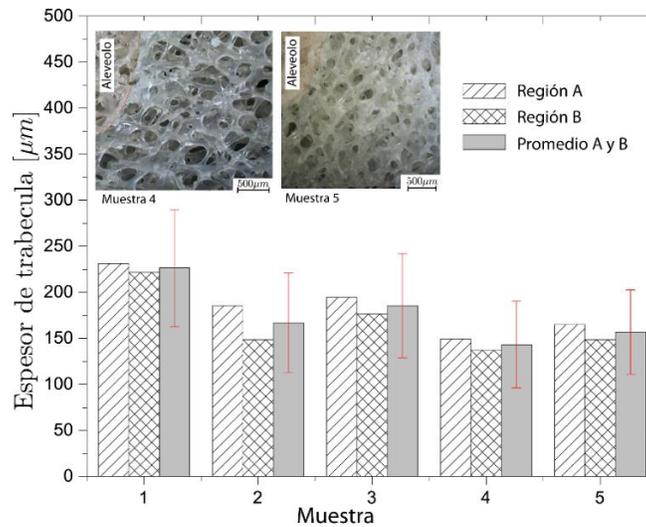


Figura 31 Espesor medio de las trabéculas de cada muestra.

Básicamente, el análisis cuantitativo confirma la descripción realizada anteriormente por medio de las imágenes. La comparación entre regiones A y B evidencian que las muestras presentan una isotropía en cuanto a la morfología trabecular se refiere, es decir, que estas están definidas por una homogeneidad estructural en todo su volumen. La única muestra que sale fuera de la similitud es la muestra 2 que tiene un 25% (de la región A) menos de espesor en la región B, ya que todas las demás presentan diferencias trabeculares menores del 10%. Como conclusión, la Figura 5.6 confirma que la muestras presentan divergencias morfológicas entre ellas por el hecho que estas fueron tomadas de lugares diferentes de la cadera bovina, sin embargo, como se describe en el Capítulo III, los lugares de extracción permitieron que estas conservaran cierta isotropía como se confirma en el análisis.

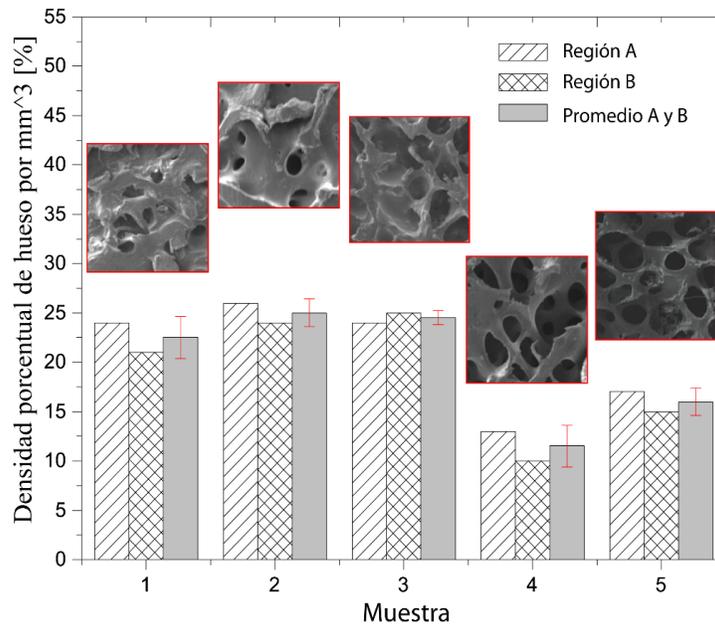


Figura 32 Densidad porcentual de mineral óseo en las regiones A y B.

En la Figura 32 se puede apreciar la densidad porcentual de mineral óseo en las regiones A y B, como también algunas imágenes tomadas por microscopía de barrido electrónico (SEM) realizadas con un LYRA3 TESCAN perteneciente al Institute of physics of Materials de Brno en Republica Checa. Para tomar las imágenes por SEM, las muestras fueron sometidas a un recubrimiento de carbón por una técnica llamada sputtering. Las imágenes obtenidas tienen una escala de 1mm x 1mm. En los datos se puede analizar lo siguiente, muestras 1, 2 y 3 presentan densidades entre el 21% y 25%, esto significa que, para cualquier volumen tomado dentro las muestras, el 21-25% corresponde a mineral óseo. La muestra 4 contiene el 11.5% y la muestra 5 un promedio del 16%.

La información de contenido mineral volumétrico es muy relevante para determinar la razón de pérdida de densidad ósea ocasionada por el ácido, ya que, a mayores volúmenes de mineral, el ácido disminuye la densidad a tasas más altas. Esto es porque el ácido puede tener una mayor superficie de acción, como lo demuestran los cálculos listados en la Tabla 4.

Tabla 4 Razón de degradación por tiempo.

Muestra	Tiempo o [s]	Masa ósea perdida [mg]	Razón de ataque [mg/min]
1	1440	40.34	1.68083
2	2880	83.68	1.74333
3	4320	51.64	0.71722
4	5760	96.18	1.00188
5	8520	167.42	1.17901

Los resultados de la tabla confirman que las densidades minerales obtenidas en cada muestra se correlacionan con la degradación calculada, a excepción de la muestra 3. Como se mencionó anteriormente, la muestra 3 presentaba material orgánico adicional al mineral de hueso identificado, esto evidentemente debió evitar que el ácido inundara las trabéculas, y por lo tanto, su tasa de degradación no fuera comparable con las otras muestras. De acuerdo con el análisis, la tasa de descalcificación debe oscilar entre 1.68 y 1.75 mg/min y no de 0.71 mg/min. Pero, todos los parámetros calculados son usados en un análisis posterior.

Para determinar la pérdida de densidad ósea fue necesario comparar las regiones A y B con la zona C. Los parámetros correspondientes con la pérdida de masa y porcentaje de mineral perdido en un volumen definido son mostrados en la Tabla 5.

Tabla 5 Pérdida de masa y volumen en las muestras por el ácido

Muestra	Pérdida de masa [mg]	Pérdida de volumen óseo [%]	Masa sumergida Est. [mg]	Volumen sumergido exp. [mm³]	Densidad inicial [mg/mm³]	Perdida de densidad [mg/mm³]
1	40.34	11.11	363.06	407.96	0.894	0.098
2	83.68	12	697.33	376.65	1.851	0.222
3	51.64	6.12	843.45	414.25	2.036	0.124

4	96.18	47.827	201.10	355.12	0.566	0.270
5	167.42	37.5	446.45	591.38	0.754	0.283

En la Tabla 5, los cálculos más relevantes se encuentran en la columna 6, que evidencian la disminución de la densidad en el tiempo, el cálculo fue realizado para cada muestra. Las variaciones fueron correlacionadas con la densidad inicial usando las mediciones directas obtenidas en cada experimento (pérdida de masa de las muestras) como también las cuantificaciones hechas por el micro-CT. Por lo tanto, el siguiente modelo exponencial es aproximado para representar el ataque de ácido de la muestra 5 en el tiempo,

$$\rho_h = \rho_0 + A_1 \cdot e^{t/h}, \quad (2)$$

Donde ρ_h es la pérdida de densidad ósea, t es el tiempo y los valores de las constantes son listado en la Tabla 6.

En la Figura 33 podemos observar la curva de pérdida de mineral de hueso reconstruida para la muestra 5 desde las otras muestras, usando los parámetros de las otras cuatro. Es importante mencionar que la independencia de los experimentos radica en que el ácido presenta una función de ataque sobre cada muestra, y esta función debe ser independiente de las muestras usadas. Con el modelo podemos observar cómo es realizado el proceso de degradación de mineral, ya que este actúa con una tasa que varía en el tiempo. Las imágenes mostradas dentro de la Figura 34 comparan las muestras 3, 4 y 5; antes de ser expuestas al ácido y después, esto significa que las zonas A y C son comparadas.

Tabla 6 Constantes del modelo de la ecuación 1

Muestra	Valor	Error estándar
----------------	--------------	-----------------------

ρ_0	0.313	0.135
t	-3965.272	0.129
A_1	-0.307	3966.870

En las imágenes, es visto como las trabéculas son adelgazadas en todas las muestras, por ejemplo, las de la muestra 3 comienzan a perder la forma. Para las muestras 4 y 5 el proceso de pérdida ósea es perceptible en el sentido que sus trabéculas son más delgadas y el espacio trabecular aumentó.

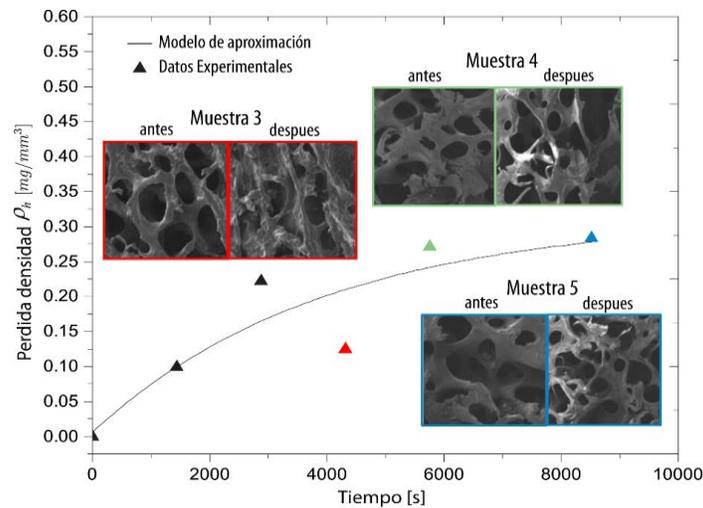


Figura 33 Densidad de pérdida de mineral de hueso en el tiempo.

Las mediciones de resistencia eléctrica tomadas para la muestra 5 en 13 intervalos de tiempo son reportadas en la Figura 33 a). Se puede apreciar la naturaleza dinámica del piezo-dispositivo que presenta diversos picos resonantes en el intervalo de frecuencia de estudio, de 5 kHz hasta 50 kHz. Sin embargo, analizar todo el espectro de frecuencia no es determinante, ya que diferentes cambios en la señal no pueden ser propiamente asociados con los cambios de pérdida de densidad. Para esto, una estrategia de análisis fue establecida a través de la búsqueda de pequeños intervalos de frecuencia donde las variaciones de densidad afectan la señal base de forma gradual. Por tanto, cinco intervalos o ventanas de análisis fueron encontrados. El criterio de selección está basado en la progresión de la señal

con respecto al tiempo de exposición. Por ejemplo, en la Figura 33 (b) es graficado el intervalo A, vemos como la señal cambia en la medida que el tiempo transcurre. El análisis muestra que la señal se mueve hacia la derecha con cada pérdida de densidad; Pero para poder cuantificar este efecto, el siguiente índice es propuesto como parámetro de medida, tal que

$$\varphi = 100 \cdot \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left(\frac{R_m - R_r}{R_r} \right)^2}, \quad (11)$$

Donde R_m es la medida de monitoreo y R_r es la medida de referencia.

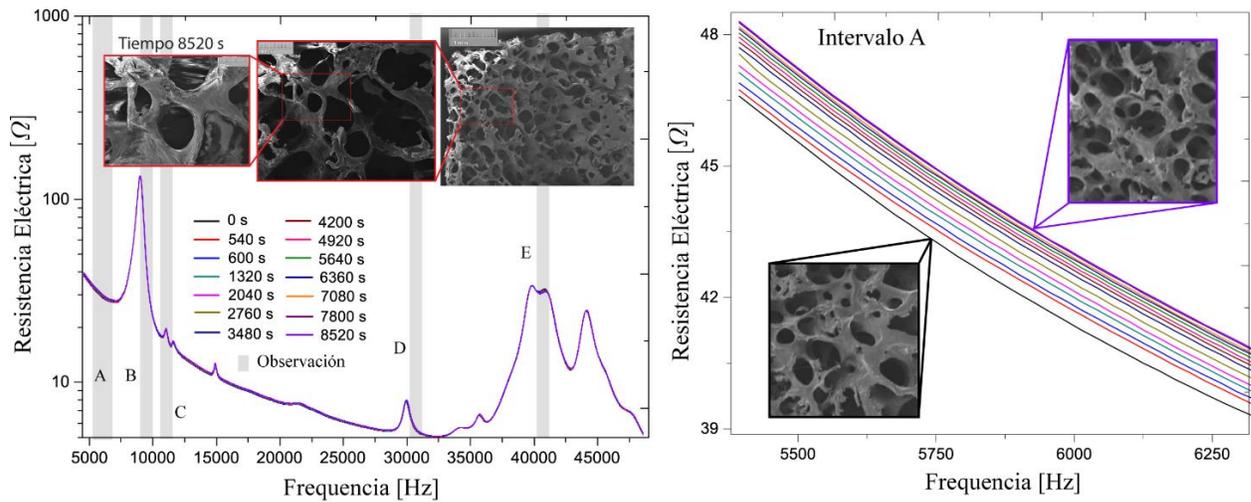


Figura 34 a) Mediciones de resistencia eléctrica para 13 intervalos de tiempo, imágenes SEM de la muestra 5. b) Intervalo de frecuencia A, imágenes SEM de la muestra 5.

Podemos observar en la Figura 35 (a) que la naturaleza del índice calculado para los diferentes intervalos presenta un comportamiento exponencial. Esto demostraría el comportamiento exponencial que presentó el modelo de pérdida ósea, sin embargo, es analizado que tres de los cinco intervalos en frecuencia (A, B y E) perciben los mismos cambios en términos porcentuales (variaciones pequeñas). Los resultados ilustran que es posible medir cambios estructurales muy pequeños en el hueso asociados con la pérdida ósea. Para cuantificar esta correlación, las medidas de pérdida de masa y de la pérdida de

densidad fueron correlacionados desde los modelos de aproximación y graficadas en la Figura 35 b). Se puede apreciar la linealidad de las señales, es decir que hay una relación entre las variaciones densitométricas con medidas directas de la resistencia eléctrica. Para una aplicación real, la idea es determinar qué porcentaje de cambio en la señal indicaría una disminución de densidad ósea que fuese considerable para un diagnostico tradicional, esto sería realizado a través de umbral porcentual. En la gráfica también se observa la comparación de las zonas descalcificadas por el ácido cerca al alveolo de la muestra 4, y se observa que el ácido no actuó de forma distribuida. Cabe resaltar que independiente de la distribución los intervalos en la señal detectaron los cambios óseos aducidos y localizados en cada muestra.

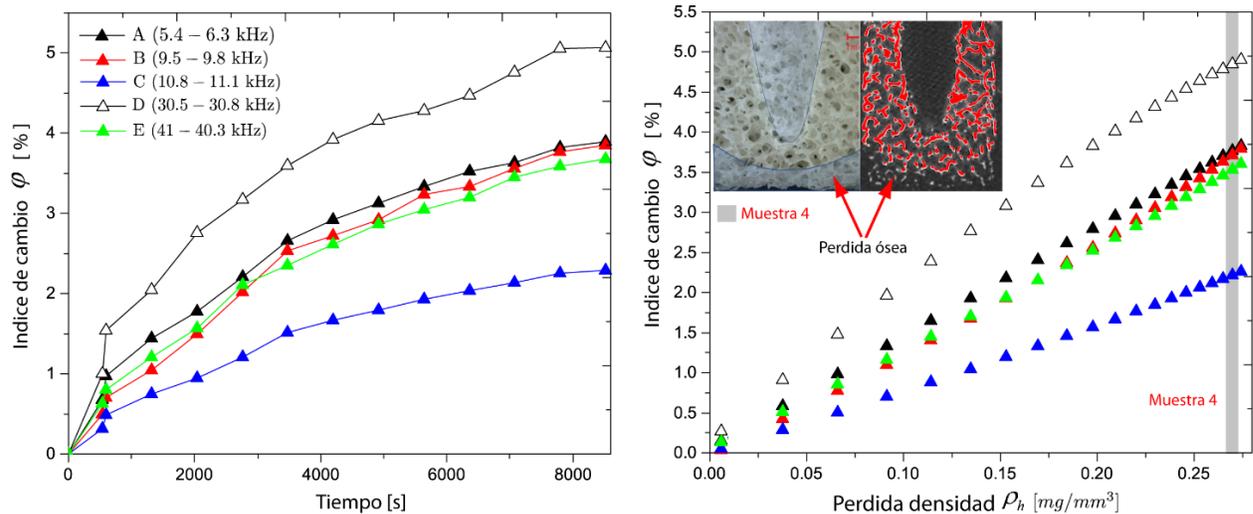


Figura 35 (a) Índice de cambio ϕ . (b) Correlación entre ϕ y el cambio de densidad ósea.

6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En este proyecto se mostró un estado del arte orientado a la explicación de las diversas técnicas densitométricas usadas para evaluar la densidad mineral ósea (DMO), la mayoría de estas técnicas son utilizadas en el diagnóstico óseo aplicando tecnología de radiación ionizante. Dentro del análisis realizado se evidencia la necesidad de desarrollar nuevos métodos de análisis que permitan una mayor frecuencia de observación de la DMO. De acuerdo a la literatura clínica, los métodos actuales utilizan radiación ionizante y esto restringe la exposición de los pacientes debido a las limitaciones biológicas del ser humano. Las nuevas técnicas deben permitir una evaluación de los cambios de la DMO de manera repetida a lo largo del tiempo, por consiguiente, este proyecto fue realizado como un punto de partida. Los resultados principales fueron divididos en tres etapas; preparación de las muestras óseas, desarrollo del sistema diente-hueso y metodología experimental.

En la preparación de las muestras óseas fueron utilizadas tres sustancias de estudio, un protocolo de limpieza fue desarrollado y probado en diferentes especímenes de hueso bovino, donde fue posible concluir las siguientes apreciaciones: usando el método de hipoclorito de sodio, las muestras obtenidas se degradaron, esto significa que presentaron pérdida de material óseo con lo cual se evidenció un deterioro estructural en varias zonas de la muestra. Por lo tanto, este método fue descartado. Adicionalmente, la limpieza con bicarbonato de sodio presentó una efectividad similar sobre las muestras que se limpiaron con peróxido de hidrógeno. La comparación fue hecha sensitivamente ya que las muestras limpiadas con bicarbonato presentaban un mayor contenido graso, por lo tanto, se concluyó que el método de limpieza más efectivo fue el del peróxido de hidrógeno. Con este método la muestra de hueso quedó con una apariencia visual presentable, sin residuos orgánicos, casi totalmente libre de grasa y conservando integridad estructural del material óseo. Como recomendación, se sugiere que el protocolo seleccionado de limpieza sea mejorado con otros procedimientos ya que las muestras no quedaron totalmente libres de material graso.

Posterior a la preparación ósea, la técnica de preparación del ligamento periodontal artificial mostró que el recubrimiento de silicona cumplía con los requisitos dimensionales

necesarios para la estabilidad de la inclusión del diente en el hueso. Esto significa que el ligamento sirvió de acople elástico a la muestra y este no afectó la estructura de la cavidad alveolar al ser insertado.

En la etapa experimental, fueron realizados dos tipos de experimentos con el fin de modificar las estructuras óseas de las muestras, uno alterando las estructuras óseas con perforaciones (Capítulo 4) y otro degradando el hueso con ácido TBD-1 (Capítulo 5). En el capítulo 4, tres experimentos en especímenes de hueso trabecular fueron preparados acoplando dientes como sondas. La resistencia eléctrica fue establecida como parámetro de medida en las mediciones de los especímenes en condición sana (sin daño) y en condición de daño (perforaciones mecánicas). Los resultados mostraron que cuando las perforaciones (pérdida de masa ósea) fueron realizadas, las señales de resistencia eléctrica detectaron los cambios en las muestras. Esto permitió evidenciar la posibilidad de usar los dientes para transmitir información estructural del hueso.

En el capítulo 5, muestras de hueso fueron descalcificadas localmente con ácido clorhídrico con el fin de observar los cambios en la impedancia eléctrica durante el proceso de degradación ósea, donde se evidenció un gran avance en la determinación de la disminución de la densidad ósea de muestras de hueso preparadas para este propósito. Esto fue posible por las mediciones de resistencia eléctrica obtenidas desde el piezo-dispositivo usado en este estudio. Los resultados evidenciaron la naturaleza exponencial de la pérdida de mineral a través del tiempo, como también se evidenciaron las cuantificaciones eléctricas asociadas a estas pérdidas. Los intervalos de frecuencia sensitivos a los cambios inducidos en el hueso fueron capturados por las señales de resistencia eléctrica. Como un trabajo futuro y buscando una aplicación real, un umbral de pérdida ósea se debe establecer con los índices de cambio porcentual diseñados en este estudio. Ya que con la técnica que se propone solo se podrían hacer diagnósticos al momento de tener un hueso sano como referencia, y por lo tanto, las mediciones posteriores son las que determinarían la variación de la densidad del hueso.

7 REFERENCIAS

Albright, F., Smith, P. H., & Richardson, A. M. (1941). Postmenopausal osteoporosis: its clinical features. *Journal of the American Medical Association*, 116(22), 2465-2474.

Amorim, M. A. L., Takayama, L., Jorgetti, V., & Pereira, R. M. R. (2006). Comparative study of axial and femoral bone mineral density and parameters of mandibular bone quality in patients receiving dental implants. *Osteoporosis international*, 17(10), 1494-1500.

Annamdas, V.G.M.; Soh, C.K.(2010). Application of electromechanical impedance technique for engineering structures: Review and future issues. *J. Intell. Mater. Syst. Struct.*, 21, 41–59.

Arana-Fernández de Moya, E., Buitrago-Vera, P., Benet-Iranzo, F., & Tobarra-Pérez, E. (2006). Tomografía computarizada: introducción a las aplicaciones dentales. *RCOE*, 11(3), 311-322.

Bachrach, L. (2007). Consensus and controversy regarding osteoporosis in the pediatric population. *Endocrine Practice*, 13(5), 513-520.

Barba Evia, J. R. (2011). Marcadores de remodelado óseo y osteoporosis. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 58(3), 113-137.

Bayo, N. (2001). Reacción celular ante la radiación. *Radiobiología*, 1(1), 9-11.

Benítez, j. f. g., Fernandez, p. l., & Rodríguez, r. m. g. (2014). tema 7: Unidad funcional del movimiento: la articulación. *Biomecánica articular. El cuerpo humano en movimiento*, 67.

Bhalla, S., & Suresh, R. (2013). Condition monitoring of bones using piezo-transducers. *Meccanica*, 48(9), 2233-2244.

Bilbao, J. N., Sánchez, A. C., & Gil-Antuñano, S. P. (2011). Regulación del metabolismo óseo a través del sistema RANK-RANKL-OPG. *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral*, 3(2), 105-112.

Bossio, N., & Capiglioni, R. (2015). Densitometría mineral ósea por tomografía computada. *Rev. Ateneo Argent Odontol*, 19-22.

Bordbar, M., Haghpanah, S., Zekavat, O. R., Saki, F., Bazrafshan, A., & Bozorgi, H. (2019). Effect of different iron chelation regimens on bone mass in transfusion-dependent thalassemia patients. *Expert review of hematology*, 1-7.

- Brandi, M. L. (2009). Microarchitecture, the key to bone quality. *Rheumatology (United Kingdom)*, 48(SUPPL.4), IV3, IV8.
- Caeiro, J., González, P., & Guede, D. (2013). Biomecánica y hueso (y II): Ensayos en los distintos niveles jerárquicos del hueso y técnicas alternativas para la determinación de la resistencia ósea. *Rev Osteoporos Metab Miner*, 5(2), 99–108.
- Camargo, A. J., Arita, E. S., de Fernández, M. C. C., & Watanabe, P. C. A. (2015). Comparison of Two Radiological Methods for Evaluation of Bone Density in Postmenopausal Women/Comparación de Dos Métodos Radiológicos para Evaluación de Densidad Ósea en Mujeres Posmenopausica. *International Journal of Morphology*, 33(2), 732-737.
- Cano-Sánchez, J., Campo-Trapero, J., Restoy-Lozano, A., & Bascones-Martínez, A. (2008). Mecano biología de los huesos maxilares: III. Regeneración ósea. *Avances en Odontostomatología*, 24(3), 227-237.
- Carrere, M. T. A., & Álvarez, C. D. (2010). Biomecánica clínica. *Biomecánica del músculo. REDUCA (Enfermería, Fisioterapia y Podología)*, 2(3).
- Christiansen, B. A., Emami, A. J., Fyhrie, D. P., Satkunanthan, P. B., & Hardisty, M. R. (2015). Trabecular bone loss at a distant skeletal site following noninvasive knee injury in mice. *Journal of biomechanical engineering*, 137(1), 011005.
- Chugh, T., Jain, A. K., Jaiswal, R. K., Mehrotra, P., & Mehrotra, R. (2013). Bone density and its importance in orthodontics. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 3(2), 9297.
- Clarke, B. (2008). Normal bone anatomy and physiology. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*, 3(Supplement 3), S131-S139.
- Cleek, T. M., Reynolds, K. J., & Hearn, T. C. (2007). Effect of screw torque level on cortical bone pullout strength. *Journal of orthopedic trauma*, 21(2), 117-123.
- Collins, C. J., Andriotis, O. G., Nedelkovski, V., Frank, M., Katsamenis, O. L., & Turner, P. J. (2019). Bone micro-and nanomechanics.
- Cosman, F., de Beur, S. J., LeBoff, M. S., Lewiecki, E. M., Tanner, B., Randall, S., & Lindsay, R. (2014). Clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis. *Osteoporosis international*, 25(10), 2359-2381.
- Corten, F. G. A., Van't Hof, M. A., Buijs, W. C. A. M., Hoppenbrouwers, P., Kalk, W., & Corstens, F. H. M. (1993). Measurement of mandibular bone density ex vivo and in vivo by dual-energy X-ray absorptiometry. *Archives of oral biology*, 38(3), 215-219.

Cummings, S. R., Bates, D., & Black, D. M. (2002). Clinical use of bone densitometry: scientific review. *Jama*, 288(15), 1889-1897.

Cunningham, J. L., Fordham, J. N., Hewitt, T. A., & Speed, C. A. (1996). Ultrasound velocity and attenuation at different skeletal sites compared with bone mineral density measured using dual energy X-ray absorptiometry. *The British journal of radiology*, 69(817), 25-32.

Del Carmen, G. C. A. (2017). Unidad de competencia II : Tejido conectivo especial: Tejido óseo, universidad autónoma del estado de México.

Díaz, I. R. R. (2014). Imágenes diagnósticas: Conceptos y generalidades. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas*.

Díaz López, J. B., Gómez Alonso, C., & Cannata Andía, J. B. (1996). Radiología de la fractura vertebral osteoporótica. *Osteoporosis en Atención Primaria*, 1, 11-5.

Drage, N. A., Palmer, R. M., Blake, G., Wilson, R., Crane, F., & Fogelman, I. (2007). A comparison of bone mineral density in the spine, hip and jaws of edentulous subjects. *Clinical oral implants research*, 18(4), 496-500.

Elsubeihi, E. S., & Heersche, J. N. (2004). Quantitative assessment of post-extraction healing and alveolar ridge remodelling of the mandible in female rats. *Archives of Oral Biology*, 49(5), 401-412.

Fanuscu, M. I., & Chang, T. L. (2004). Three-dimensional morphometric analysis of human cadaver bone: microstructural data from maxilla and mandible. *Clinical oral implants research*, 15(2), 213-218.

Fernández-Tresguerres Hernández-Gil, I., Alobera Gracia, M. A., Canto Pingarrón, M. D., & Blanco Jerez, L. (2006). Bases fisiológicas de la regeneración ósea I: Histología y fisiología del tejido óseo. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal (Internet)*, 11(1), 47-51.

Fernández, R. D., Vélez, J. U., Sosa, V. R., Carrodegua, R. G., Pelayo, Z. C., Rodríguez, E. I., & Hernández, M. R. (2006). Evaluación anatomopatológica experimental de la implantación en hueso de la Hidroxiapatita sintética (Apafill-G). *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 5(4), 1-8.

Florencio-Silva, R., Sasso, G. R. D. S., Sasso-Cerri, E., Simões, M. J., & Cerri, P. S. (2015). Biology of bone tissue: structure, function, and factors that influence bone cells. *BioMed research international*, 2015.

Flores Rentería, M. Á., & Ayala Ruiz, Á. (2012). Efectos en la Remodelación Ósea Debido a la Aplicación de Tornillos en Fémur Proximal. *Ingeniería mecánica, tecnología y desarrollo*, 4(2), 43-50.

Fogelman, I., & Blake, G. M. (2000). Different approaches to bone densitometry. *Journal of Nuclear Medicine : Official Publication, Society of Nuclear Medicine*, 41(12), 2015–2025.

Fuchs, R. K., Thompson, W. R., & Warden, S. J. (2019). Bone biology. In *Bone Repair Biomaterials* (pp. 15-52). Woodhead Publishing.

García-Garduño, M. V., & Reyes-Gasga, J. (2006). La hidroxiapatita, su importancia en los tejidos mineralizados y su aplicación biomédica. *TIP Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 9(2), 90-95.

García-Martin, A., Reyes-García, R., García-Castro, J. M., & Muñoz-Torres, M. (2013). Diabetes y osteoporosis: acción de las hormonas gastrointestinales sobre el hueso. *Revista clinica española*, 213(6), 293-297.

Genant, H. K., Engelke, K., & Prevrhal, S. (2008). Advanced CT bone imaging in osteoporosis. *Rheumatology (Oxford, England)*, 47 Suppl 4(Suppl 4), iv9–iv16. doi:10.1093/rheumatology/ken180

Giner Ruiz, V. (2014). *Osteoporosis: Manejo, Prevencion, Diagnóstico y Tratamiento*.

Gómez-Alonso, C., & Díaz-López, J. B. (2002). Métodos de determinación de la densidad mineral ósea. *Sociedad Española de Medicina Interna*.

González, L. A., Vásquez, G. M., & Molina, J. F. (2009). Epidemiología de la osteoporosis. *Revista colombiana de reumatología*, 16(1), 61-75.

Griffith, J. F., & Genant, H. K. (2008). Bone mass and architecture determination: state of the art. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*, 22(5), 737-764.

Hans, D., & Baim, S. (2017). Quantitative ultrasound (QUS) in the management of osteoporosis and assessment of fracture risk. *Journal of Clinical Densitometry*, 20(3), 322-333.

Hawkins, F., Guerra, G. M. D., & Guadalix, S. (2012). Protocolo diagnóstico de la osteoporosis. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 11(16), 989-993.

Henríquez, M. S., & Hernández, D. H. (2014). Protocolo de actuación ante dos situaciones en osteoporosis frecuentes en Atención Primaria: cuándo tratar siempre y cuándo

evitar un tratamiento innecesario. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 11(60), 3567-3570.

Ibáñez, R. (2003). Técnicas de medida de densidad de masa ósea. In *Anales del Sistema Sanitario de Navarra* (Vol. 26, pp. 19-27). Gobierno de Navarra. Departamento de Salud.

Johannesdottir, F., & Bouxsein, M. L. (2018). Overview of Bone Structure and Strength. In *Genetics of Bone Biology and Skeletal Disease* (pp. 197-208). Academic Press.

Johannesdottir, F., & Bouxsein, M. L. (2018). *Bone Structure and Biomechanics*.

Júnior, A. C. F., Antenucci, R. M. F., de Almeida, E. O., Rocha, E. P., & da Silva, E. M. M. (2008). El sistema masticatorio y las alteraciones funcionales consecuentes a la pérdida dentaria. *Acta Odontológica Venezolana*, 46(3).

Kanis, J. A., Johnell, O., Gullberg, B. O., Allander, E., Dil?en, G., Gennari, C., Miravet, L. (1992). Evidence for efficacy of drugs affecting bone metabolism in preventing hip fracture. *Bmj*, 305(6862), 11241128.

Karsenty, G., & Olson, E. N. (2016). Bone and muscle endocrine functions: unexpected paradigms of inter-organ communication. *Cell*, 164(6), 1248-1256.

Karlamangla, A. S., Binkley, N., & Crandall, C. J. (2018). 17 Psychosocial Life Histories and Biological Pathways to Bone Health. *The Oxford Handbook of Integrative Health Science*, 237.

Khan, M., Sirdeshmukh, S. P. S. M. A., & Javed, K. (2016). Evaluation of bone fracture in animal model using bio-electrical impedance analysis. *Perspectives in Science*, 8, 567-569.

Lacroix, D. (2019). Biomechanical aspects of bone repair. In *Bone repair biomaterials* (pp. 53-64). Woodhead Publishing.

Lafita, J. (2003). Fisiología y fisiopatología ósea. In *Anales del sistema sanitario de Navarra* (Vol. 26, pp. 7-17). Gobierno de Navarra. Departamento de Salud.

Leib, E. S., & Winzenrieth, R. (2016). Bone status in glucocorticoid-treated men and women. *Osteoporosis International*, 27(1), 39-48.

Lewiecki EM, Watts N, Mc Klung M, Petak S, Bachrak L, Sheperd J, et al. (2004). Official Positions of the International Society for Clinical Densitometry. *J Clin Endocrinol Metab*, 89:3651-5.

Liang, C., Sun, F. P., & Rogers, C. A. (1997). Coupled electro-mechanical analysis of adaptive material systems-determination of the actuator power consumption and system energy transfer. *Journal of intelligent material systems and structures*, 8(4), 335-343.

Luna, J. L. P. (2008). Factores de riesgo y prevalencia de osteoporosis. Estudio por ultrasonometría del calcáneo. *Medicina Interna de México*, 24(4), 278-283.

Marco, M. D. V. G., Santana, S. G., Pescador, A. M., Rodríguez, E. G., Padilla, E. G., & Henríquez, M. S. (2010). Enfermedades metabólicas óseas: introducción, remodelado óseo y pérdida ósea. *Medicine: Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 10(60), 4109-4116.

Merchán Morales S. (2013) Estudio densitométrico en maxilar y mandíbula con tomografía computarizada cuantitativa. Tesis doctorado. Madrid. España. Universidad Complutense de Madrid; p. 230.

Miller, P. D. (2003). Bone mineral density--clinical use and application. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 32(1), 159-79.

Miranda, V. E., Muñoz, C. S., Paolinelli, G. P., & Astudillo, A. C. (2013). Densitometría ósea. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 24(1), 169-173.

Montero, L., García, J., & Francesa, C. R. (2017). Panorama multidimensional del desarrollo urbano en América Latina y el Caribe.

Moro-Álvarez, M. J., & Díaz-Curiel, M. (2010). Diagnóstico y tratamiento de la osteoporosis en mayores de 75 años. *Revista Española de Geriatria y Gerontología*, 45(3), 141-149.

Muñoz-Torres, M., De la Higuera, M., Fernández-García, D., Alonso, G., & Reyes, R. (2005). Densitometría ósea: indicaciones e interpretación. *Endocrinología y Nutrición*, 52(5), 224-227.

Na,W.; Baek, J. A review of the piezoelectric electromechanical impedance based structural health monitoring technique for engineering structures. *Sensors* 2018, 18, 1307.

Neira, L. V., León, E. C., Fernández, C. R., & Laurel, W. M. (2004). Comparación entre los valores de densidad mineral ósea obtenidos por densitometría dual de rayos X, con los parámetros de ultrasonido del calcáneo. *Rev. Soc. Per. Med. Inter*, 17(1), 9.

O. D., Muñoz-Torres, M., Varsavsky, M., Avilés Pérez, M. D., Nogués Solán, X., Guerri, R., ... & Mirallave Pescador, A. (2010). Epidemiología, Osteoporosis y Metabolismo Mineral. *Revista osteoporosis y metabolismo mineral*, vol. 2; Cap. 5.

Orueta, R., & Gómez-Caro, S. (2010). Interpretación de la densitometría ósea. *SEMERGEN-Medicina de Familia*, 36(1), 27-30.

Owen, R., Sherborne, C., Paterson, T., Green, N. H., Reilly, G. C., & Claeysens, F. (2016). Emulsion templated scaffolds with tunable mechanical properties for bone tissue engineering. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 54, 159-172

Pacifici, R., Rupich, R., Griffin, M., Chines, A., SUSMAN, N., & AVIOLI, L. V. (1990). Dual energy radiography versus quantitative computer tomography for the diagnosis of osteoporosis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 70(3), 705-710.

P. A. Downey and M. I. Siegel. (2006). "Bone biology and the clinical implications for osteoporosis". *Physical Therapy*, vol.86, no.1, pp.77-91.

Park, G.; Inman, D.J. Structural health monitoring using piezoelectric impedance measurements. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. A Math. Phys. Eng. Sci.* 2007, 365, 373-392.

Planas, J., & Morote, J. (2006). La densitometría ósea: un nuevo método diagnóstico para el urólogo. *Archivos Españoles de Urología (Ed. impresa)*, 59(10), 1031-1040.

Pérez García, L. M., & Garmas Castillo, Y. (2011). Mini Implants, an option for orthodontic anchorage. *Gaceta Médica Espirituana*, 13(3).

Prasad, K. N., Cole, W. C., & Hasse, G. M. (2004). Health risks of low dose ionizing radiation in humans: a review. *Experimental Biology and Medicine*, 229(5), 378-382.

Ralston, S. H. (2013). Bone structure and metabolism. *Medicine*, 41(10), 581-585.

Ramos, R. L., Armán, J. A., Galeano, N. A., Hernández, A. M., Gómez, J. G., & Molinero, J. G. (2012). Absorciometría con rayos X de doble energía. *Fundamentos, metodología y aplicaciones clínicas. Radiología*, 54(5), 410-423.

Rho, J. Y., Kuhn-Spearing, L., & Zioupos, P. (1998). Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. *Medical engineering & physics*, 20(2), 92-102.

Rodríguez Palomo, D., & Ramírez Zamora, J. (2009). Técnica de conservación de huesos en peróxido de hidrógeno.

Rozé, J., Babu, S., Saffarzadeh, A., Gayet-Delacroix, M., Hoornaert, A., & Layrolle, P. (2009). Correlating implant stability to bone structure. *Clinical oral implants research*, 20(10), 1140-1145.

Sales, E., da Silva, C. E. R., Letichevsky, S., dos Santos, R., Pinto, L. A. T., dos Santos, C. T., ... & dos Anjos, M. (2019). Study of composition and structure of demineralized bone using X-ray techniques. *Radiation Physics and Chemistry*.

Schett, G., Saag, K. G., & Bijlsma, J. W. (2010). From bone biology to clinical outcome: state of the art and future perspectives. *Annals of the rheumatic diseases*, 69(8), 1415-1419.

Schott, A. M., Weill-Engerer, S., Hans, D., Duboeuf, F., Delmas, P. D., & Meunier, P. J. (1995). Ultrasound discriminates patients with hip fracture equally well as dual energy X-ray absorptiometry and independently of bone mineral density. *Journal of Bone and Mineral Research*, 10(2), 243-249.

Seeram, E. (2015). *Computed Tomography-E-Book: Physical Principles, Clinical Applications, and Quality Control*. Elsevier Health Sciences.

Sodek, J., & Mckee, M. D. (2000). Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontology 2000*, 24(1), 99-126

Sokołowski, D., & Kamiński, M. (2018). Homogenization of carbon/polymer composites with anisotropic distribution of particles and stochastic interface defects. *Acta Mechanica*, 229(9), 3727–3765.

Srivastava, S., Bhalla, S., & Madan, A. (2017). Assessment of human bones encompassing physiological decay and damage using piezo sensors in non-bonded configuration. *Journal of Intelligent Material Systems and Structures*, 28(14), 1977-1992.

Srivastava, S., & Bhalla, S. (2019). Numerical evaluation of nonbonded piezo sensor for biomedical diagnostics using electromechanical impedance technique. *International journal for numerical methods in biomedical engineering*, 35(2), e3160.

Sturtridge, W., Lentle, B., & Hanley, D. A. (1996). The use of bone density measurement in the diagnosis and management of osteoporosis. *Can Med Assoc J*, 155(7), 924-929.

Susan A New, Simon P Robins, Marion K Campbell, James C Martin, Mark J Garton, Caroline Bolton-Smith, David A Grubb, Sue J Lee, David M Reid, Dietary influences on bone mass and bone metabolism: further evidence of a positive link between fruit and vegetable consumption and bone health?, *The American Journal of Clinical Nutrition*, Volume 71, Issue 1, January 2000, Pages 142–15.

Tinoco, H. A., Gomez, J. P., Torres, J., & Velasco, M. A. (2016). Structural differentiation of tooth supporting substances with the electromechanical impedance technique. *Int. J. Mech. Mechatron. Eng*, 16, 8-15.

Tinoco, H., Cardona, C., Peña, F., Gomez, J., Roldan-Restrepo, S., Velasco-Mejia, M., & Barco, D. (2019). Evaluation of a piezo-actuated sensor for monitoring elastic variations of its support with impedance-based measurements. *Sensors*, 19(1), 184.

Torregrosa, J. V., Bover, J., Cannata Andía, J., Lorenzo, V., de Francisco, A. M., Martínez, I., ... & Martín-Malo, A. (2011). Recomendaciones de la Sociedad Española de Nefrología para el manejo de las alteraciones del metabolismo óseo-mineral en los pacientes con enfermedad renal crónica (SEN-MM). *Nefrología*, 31, 3-32.

Vizcaino, M. C., Saldaña, A. G., & Collado, R. C. (2001). Diagnóstico de osteoporosis en menopausia. Servicio de Ginecología clínica y Quirúrgica. Hospital universitario del mar. *UAB*, 2(2):84-89

VON WOVERN, N. I. N. A. (1985). Dual-photon absorptiometry of mandibles: in vitro test of a new method. *European Journal of Oral Sciences*, 93(2), 169-177.

VON WOWER, N. I. N. A. (1985). In vivo measurement of bone mineral content of mandibles by dual-photon absorptiometry. *European Journal of Oral Sciences*, 93(2), 162-168.

Walsh, J. S. (2015). Normal bone physiology, remodelling and its hormonal regulation. *Surgery (Oxford)*, 33(1), 1-6.

Yang, Y.; Lim, Y.Y.; Soh, C.K. Practical issues related to the application of the electromechanical imperant technique in the structural health monitoring of civil structures: I. Experiment. *Smart Mater. Struct.* 2008, 17, 035008.

Yerby MS. Special consideration for women with epilepsy (2000). *Pharmacotherapy*; 20 (8Pt2): 159-70.

8 ANEXO A . Registro fotográfico

A.1 Fotografías tomadas con microscopio óptico ZEISS Axiolab 5 (Central European Institute of Technology CEITEC, Brno, Republica Checa)

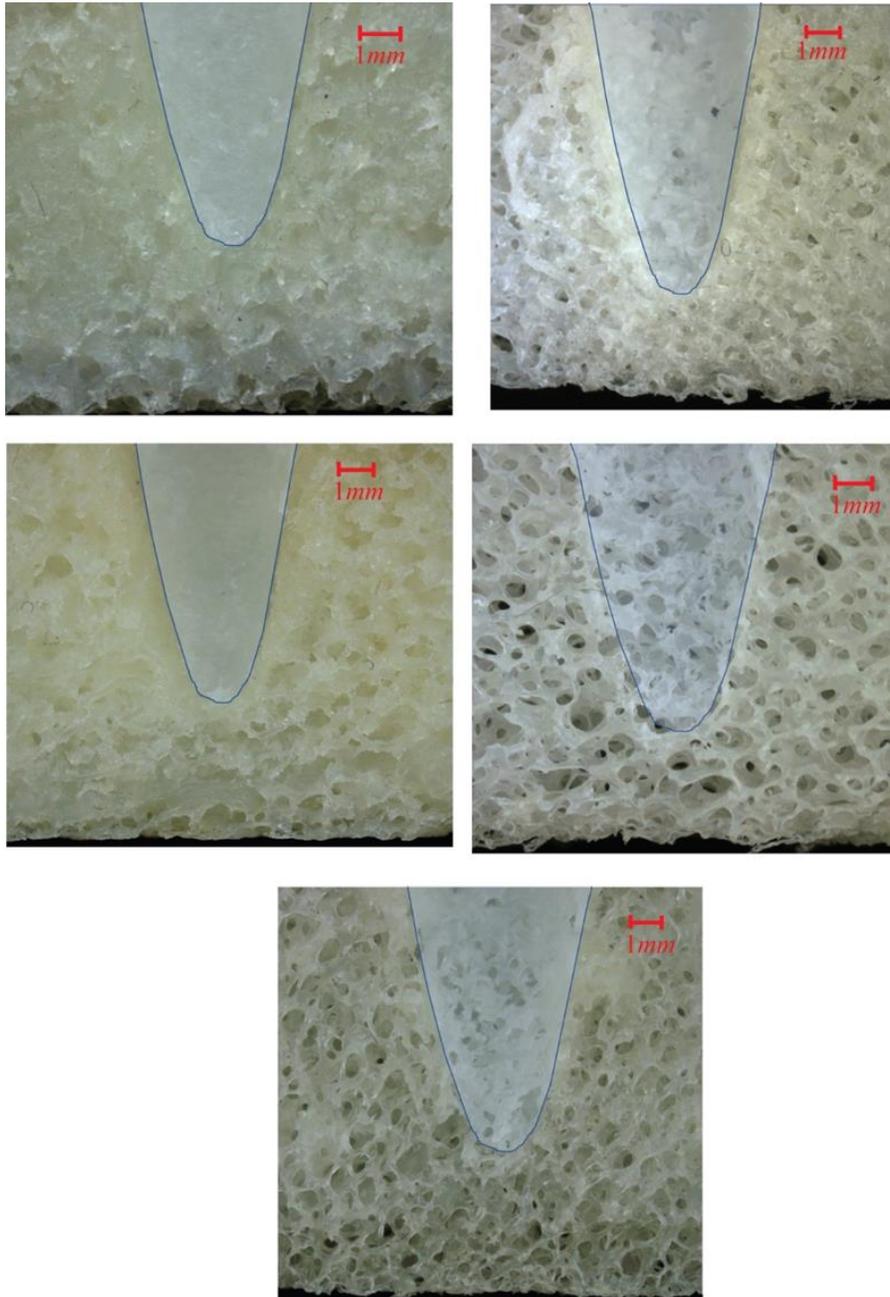


Figura A1. Imágenes de las muestras 1 a 5, con corte transversal pasando por el alveolo.

A.2 Imágenes tomadas con microscopia de barrido electrónico (SEM) LYRA3 TESCAN (Institute of physics of Materials, Brno, Republica Checa)

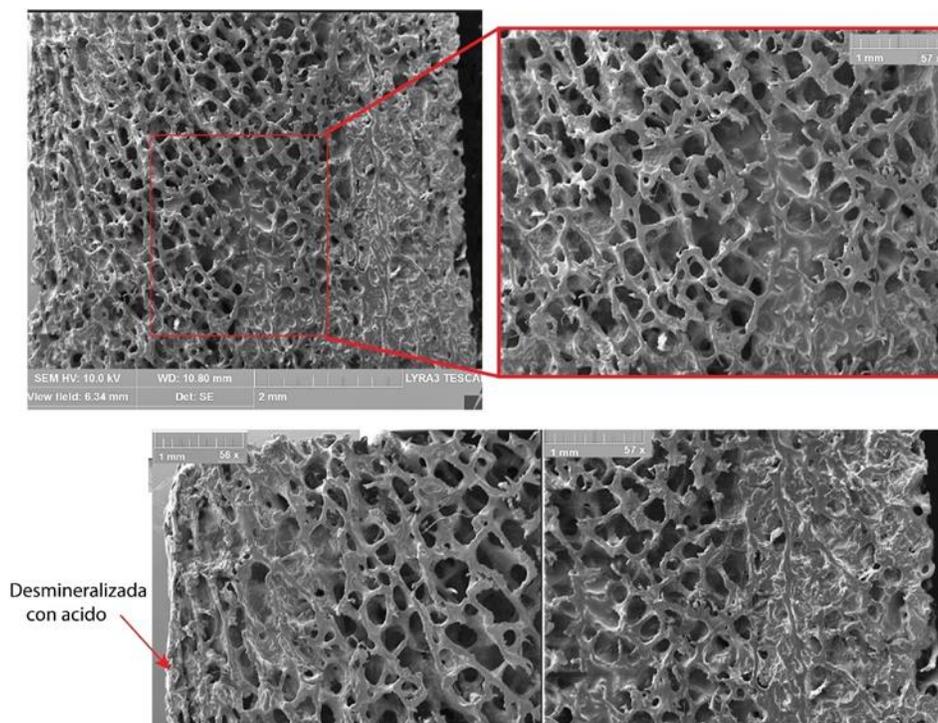


Figura A2. Imágenes de la muestra 3

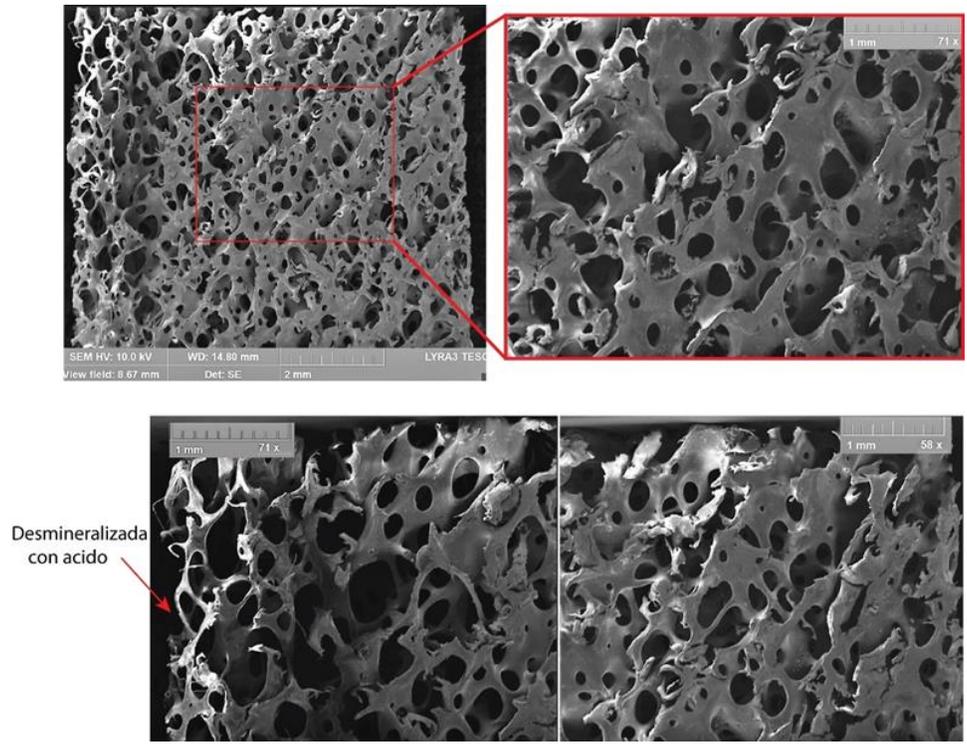
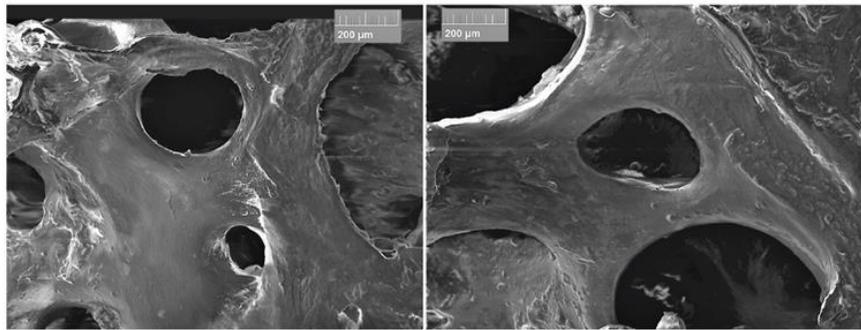
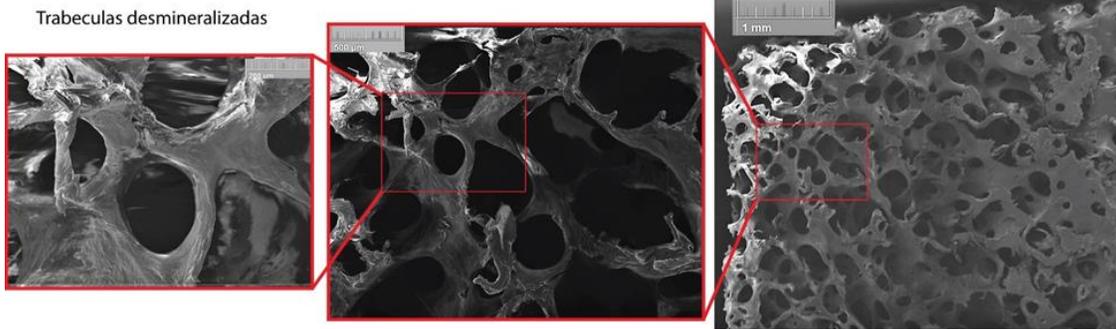
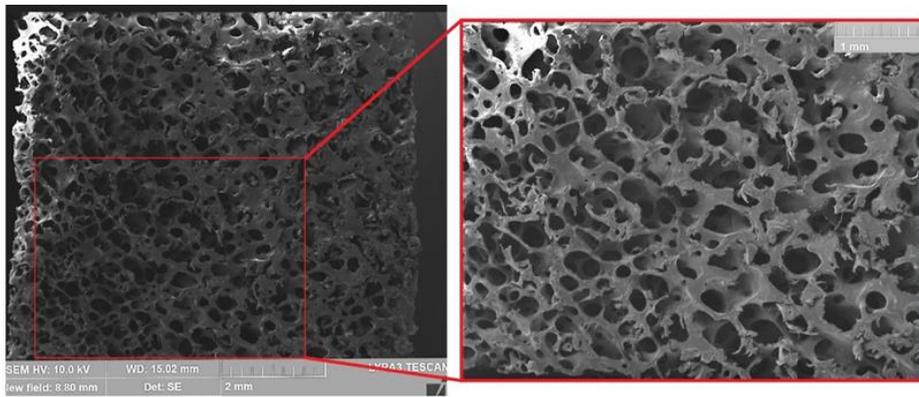


Figura A3. Imágenes de la muestra 4



Trabeculas sin desmineralizar

Figura A4. Imágenes de la muestra 5