



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS
AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
Unidad Monterrey**

**Caracterización de las Propiedades Mecánicas de
Hueso Trabecular con Características Indicativas de
Osteoporosis**

Tesis que presenta

Wendy Ruth Lemus Martínez

para obtener el grado de

**Maestra en Ciencias con Especialidad en Ingeniería y Física
Biomédicas**

Director de tesis: **Dr. David Gutiérrez Ruiz**

Codirector de tesis: **Dr. Gerardo Presbítero Espinosa**

Resumen

La resistencia ósea está definida como la fuerza necesaria para desencadenar el fracaso biomecánico del hueso y es el resultado de la integración de dos variables: cantidad y calidad.

En la actualidad existen equipos sofisticados para evaluar la cantidad, la cual se basa en la medición de la densidad mineral ósea (DMO). Esta métrica es muy utilizado sobre todo en personas de edad avanzada para el diagnóstico de osteoporosis. No obstante la osteoporosis es una patología que se caracteriza por afectar directamente a la resistencia ósea. De tal manera que existen otros parámetros además del DMO que pertenecen al rubro de la calidad y que es importante considerar anexarlos para la determinación de un diagnóstico confiable.

La microestructura es una variable de calidad, y dentro de ésta se encuentran la porosidad, el grosor y el espacio trabecular. A la fecha, no existe algún equipo que permita obtener estas variables *in vivo*, por lo que en este proyecto de tesis se propone un método que posibilite incorporar parámetros post-mortem de calidad a la actual técnica de diagnóstico para osteoporosis. Esto se llevó a cabo mediante la recolección de 13 especímenes de hueso, que constan de cortes de cuello de fémur de cadáveres humanos, donados por el Banco de Hueso y Tejidos del Hospital Universitario de Nuevo León.

Los huesos pasaron por un proceso de maquinado para construir probetas cúbicas, las cuales serían sometidas a las distintas pruebas. Primeramente, para la adquisición de los valores que corresponden a las variables de microarquitectura, se tomaron fotografías de alta resolución y posteriormente fueron analizadas por distintos métodos de procesamiento de imágenes. Así mismo, para definir los valores reales de estas variables microestructurales, las probetas también fueron analizadas por equipo de micro-CT. Comparando ambos resultados (análisis de fotografías y micro-CT), se logró obtener una calibración adecuada de las imágenes mediante un proceso de erosión que aproximó eficientemente los datos del análisis de fotografías a los valores de referencia.

Finalmente, se realizaron ensayos mecánicos de compresión a todas las probetas. Mediante estas pruebas se obtuvieron las propiedades mecánicas siguientes: esfuerzo último ($\sigma_{m\acute{a}x}$), módulo de Young (E), deformación última (ϵ_u), esfuerzo de cedencia (σ_y), resiliencia (E_R) y tenacidad (E_T).

Mediante este proyecto se logró observar que existe una gran diferencia entre el DMO obtenido en clínica (hueso completo) y el DMO solo para hueso trabecular, lo cual indica que, para aumentar la confiabilidad de diagnóstico, se deberían diferenciar ambos tejidos, compacto y esponjoso. Además, en base a los resultados de densitometría ósea, microarquitectura y ensayos mecánicos, se encontró que existe una mayor relación de las variables de microarquitectura con la respuesta a las propiedades mecánicas obtenidas de los ensayos de compresión, a diferencia del DMO, cuya sensibilidad es limitada. Esto podría sugerir la importancia que tiene la calidad ante la resistencia ósea.

Abstract

Bone strength is defined as the required load to cause a biomechanical failure, and it is the result of the integration of two variables: bone mass and bone quality.

Nowadays there are sophisticated devices that measure the bone mass or bone mineral density (BMD). Such technology is widely used especially in elderly people in order to diagnose osteoporosis. However, osteoporosis is a pathology which is characterized by affecting directly bone strength. Hence, there are other parameters besides BMD belonging to the quality and it is important to take them in consideration for a trustworthy diagnosis.

The microstructure is a variable which belongs to bone quality, and it is fully described by other variables as porosity, trabecular thickness and trabecular space. It does not exist any kind of technological device that allows obtaining the bone quality parameters *in vivo*. For this reason, this project proposes a method that incorporates estimates of the quality parameters, obtained from post-mortem studies to the current technique for the osteoporosis diagnosis.

For this purpose we used thirteen samples, consisted of human femoral necks cuts, which were donated by the Bone and Tissue Bank of the University Hospital of Nuevo Leon.

A machining process was performed in order to turn the bones into cubic specimens which were subjected to different tests. Firstly, the values that correspond to the microarchitecture variables were acquired by a 2D image processing analysis of high resolution photographs of the faces of the specimens. In order to define the actual values of these microstructural variables, some of the samples were also analyzed by a micro-CT device. Comparing both results (2D image analysis and micro-CT), a proper calibration of images was obtained through a process of image erosion that efficiently approached the 2D image analysis to the data obtained through micro-CT.

Finally, compression tests were performed on all samples. Through these tests, the following mechanical properties were obtained: ultimate stress (σ_{max}), Young's modulus (E), ultimate strain (ϵ_u), yield stress (σ_y), resilience (E_R) and toughness (E_T).

This project allowed to observe that there is a difference between the BMD obtained by clinical practice and BMD only for trabecular bone. This indicates that in order to increase the reliability of diagnosis, the method should differentiate between the compact and spongy tissues.

Furthermore, based on the results of bone density, microarchitecture, and mechanical tests, it was found that there is a better relationship between microarchitecture variables and the mechanical properties obtained from compression tests, rather than those obtained through BMD. This suggests the importance of quality parameters in characterizing bone strength.

Agradecimientos

Agradezco sobre todo a Cinvestav Monterrey por haberme aceptado a este programa de maestría. Un agradecimiento especial a Conacyt por el financiamiento otorgado a través del Proyecto de Ciencia Básica no. 220145 y por el apoyo económico brindado durante mi estancia. De igual forma a mi tutora la Dra. Dania Gutiérrez por haber estado dispuesta a trabajar conmigo en un área nueva. A mi co-tutor el Dr. Gerardo Presbítero quien mediante su propuesta de proyecto me dio la oportunidad de trabajar y aprender más sobre mi área de interés. En general, les agradezco a ambos por haber estado apoyándome en todo momento para lograr terminar esta tesis.

A mis padres

ÍNDICE

Resumen.....	I
Abstract.....	II
Agradecimientos.....	III
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 ESQUELETO.....	1
1.1.1 Composición del Hueso.....	2
1.1.2 Tipos de Tejido Óseo.....	4
1.1.3 Remodelado Óseo.....	5
1.2 RESISTENCIA MECÁNICA DEL HUESO.....	6
1.2.1 Cantidad	6
1.2.2 Calidad.....	8
1.2.2.1 Microestructura Cortical.....	8
1.2.2.2 Microestructura Trabecular.....	9
1.3 OSTEOPOROSIS.....	10
1.3.1 Riesgo de Fractura.....	11
1.3.2 Diagnóstico: Densitometría Ósea.....	13
2. HIPÓTESIS	16
3. OBJETIVOS.....	16
3.1 OBJETVO GENERAL	16
3.2 OBJETIVOS PARTICULARES.....	16
4. MÉTODOS.....	17
4.1 DESCRIPCIÓN DE ESPECÍMENES	17
4.2 MAQUINADO DE PROBETAS	18
4.3 DENSITOMETRÍA ÓSEA	20
4.4 ANÁLISIS DE IMÁGENES	21

4.4.1 Porosidad 2D	22
4.4.2 Porosidad 3D: Micro CT	24
4.4.3 Comparación y Calibración	26
4.4.4 Grosor y Espacio trabecular	28
4.5 PRUEBAS MECÁNICAS.....	29
5. RESULTADOS.....	34
5.1 DENSITOMETRÍA ÓSEA	34
5.2 COMPARACIÓN Y CALIBRACIÓN.....	35
5.3 PORCENTAJE DE POROSIDAD.....	40
5.4 GROSOR Y ESPACIO TRABECULAR.....	43
5.5 PRUEBAS DE COMPRESIÓN	47
6. DISCUSIÓN.....	52
6.1 DESVENTAJA DE LA DENSITOMETRIA ÓSEA.....	52
6.2 DMO CLÍNICO VS DMO TRABECULAR.....	53
6.3 DMO VS POROSIDAD.....	54
6.4 MÓDULO DE YOUNG.....	55
6.5 ESFUERZO ÚLTIMO Y ESFUERZO DE CEDENCIA.....	58
6.6 CONECTIVIDAD TRABECULAR.....	60
7. CONCLUSIÓN.....	62
8. Bibliografía.....	65

Lista de figuras

Figura 1. Composición del hueso

Figura 2. Designación de zonas en huesos largos

Figura 3. Muestra de fémur en la cual se señala al tejido trabecular y al cortical

Figura 4. Evolución de masa ósea con la edad, en hombres y mujeres

Figura 5. Representación de la sección de un hueso en la cual se señalan las estructuras que conforman al hueso cortical

Figura 6. Imagen de microestructura trabecular señalando a las trabéculas y a los poros

Figura 7. Incidencia promedio de las fractura de cadera en hombres y mujeres mexicanos (2000-20006)

Figura 8. Equipo para densitometría ósea: DXA

Figura 9. Cortes transversales de cuello de fémur. A) Fotografía proximal del hueso M 25 años. B) Fotografía distal del hueso M 25 años. C) Fotografía proximal del hueso F 68 años. D) Fotografía distal del hueso F de 68 años

Figura 10. Maquinado de probetas. A) Molde tipo marco. B) Agregación de mezcla de yeso y agua. C) Incrustación del corte de cuello femoral. D) Probeta cúbica de tejido esponjoso

Figura 11. Medio biológico. A) Características del maquinado de acrílico. B) Probeta inmersa en el bloque de acrílico colocada sobre el equipo DXA

Figura 12. Binarización de imagen. A) Fotografía original de una de las paredes marcadas de negro. B) Imagen binarizada

Figura 13. Detección de objetos. A) Imagen binarizada. B) Imagen que muestra los poros detectados

Figura 14. Ejemplificación del conjunto de imágenes dadas por Micro-CT

Figura 15. Erosión de imágenes. A) Imagen a la que se le aplicará la erosión. B) Elemento estructural. $A \ominus B$) Imagen erosionada

Figura 16. Grosor local $\tau(p)$ de una estructura dada Ω determinado por el máximo círculo inmerso en la estructura

Figura 17. Estructura trabecular sometida a compresión. A) Trabéculas con carga 0 y longitud inicial l_i . B) Las trabéculas adquieren una longitud final l_f al aplicarles una fuerza F

Figura 18. Diagrama esfuerzo-deformación

Figura 19. Determinación de esfuerzo de cedencia mediante el método “offset”

Figura 20. A) Máquina para ensayos mecánicos. B) Herramental utilizado en las pruebas de compresión. C) Platos instalados en el pistón de la máquina

Figura 21. Resultados de densidad mineral ósea y T-score

Figura 22. Reconstrucción tridimensional. A) Probeta H3.1 del donador masculino de 64 años. B) Probeta H4 del donador masculino de 57 años

Figura 23. Porcentaje de error para la comparación de porosidad 2D con 3D, dado para diferentes técnicas de erosión aplicadas a las imágenes

Figura 24. Resultados del porcentaje de porosidad

Figura 25. Histograma del número de poros clasificados por su área. Corresponde al control M 25 años

Figura 26. Histograma del número de poros clasificados por su área. Corresponde al donador F de 68 años

Figura 27. Método de grosor local. A) Imagen binarizada. B) Mapa para grosor trabecular. C) Mapa de espacio trabecular

Figura 28. Resultados de grosor trabecular

Figura 29. Resultados de espacio trabecular

Figura 30. Comparación de dimensiones para grosor trabecular y espacio trabecular

Figura 31. Diagramas esfuerzo-deformación obtenidos para cada una de las probetas

Figura 32. Resultados de ensayos mecánicos en relación a la resiliencia

Figura 33. Resultados de ensayos mecánicos en relación a la tenacidad

Figura 34. Comparación de la distribución de valores para DMO clínico (recta superior) vs DMO trabecular (recta inferior)

Figura 35. Datos obtenidos para DMO, porosidad, grosor y espacio trabecular, contrastados con las respuestas mecánicas: esfuerzo último y módulo de Young

Figura 36. Conectividad trabecular. Fotografía microscópica de la estructura trabecular en la cual se especifican los conceptos de “nodo” y “término”

Lista de tablas

Tabla 1. Clasificación del diagnóstico en una densitometría ósea de acuerdo al T-score calculado

Tabla 2. Características del total de las probetas obtenidas de acuerdo al género y edad

Tabla 3. Resultados para el esfuerzo máximo, módulo de Young, esfuerzo de cedencia y deformación última

Tabla 4. Valores obtenidos de resiliencia y tenacidad para cada uno de los donadores

Tabla 5. Diagnóstico clínico respecto a los rangos dados por DMO

1. INTRODUCCIÓN

Los huesos pueden ser definidos como estructuras vivas capaces de transmitir cargas, predominantemente de compresión, flexión y torsión, ofreciendo una alta rigidez y, consiguiendo todo ello con el mínimo peso y la máxima eficacia. Tanto es así que la estructura ósea ha sido utilizada numerosas veces como modelo para diseñar estructuras mecánicas ligeras. [1]

Cuando el esqueleto está brindando su máxima capacidad, éste genera su propia autoreparación y morfología. Y no sólo eso, sino que también desempeña funciones básicas del cuerpo como: reserva iónica, función hematopoyética e influye activamente en el sistema endócrino [1].

Sin embargo, la edad es el primer factor que viene a crear desequilibrio en todas estas funciones. La falta de mineralización y el remodelado deficiente afectan directamente a la resistencia ósea.

Las fracturas, en personas de la tercera edad, tienen lugar en huesos que presentan ciertos tipos de enfermedades y cuya resistencia mecánica es menor que en huesos sanos y jóvenes. Estos huesos no llegan a repararse si no se trata el origen de debilitación ósea [1]. Y una de estas causas de fracturas patológicas es la osteoporosis, la cual se define por un trastorno esquelético silencioso que compromete a la resistencia ósea y predispone a un mayor riesgo de fractura.

1.1 ESQUELETO

El esqueleto es el sistema que proporciona sostén contra la fuerza de gravedad y protección para los órganos internos. Además el esqueleto también otorga flexibilidad, proporcionando al cuerpo un alto número de grados de libertad de movimiento.

Este armazón ha evolucionado para cubrir nuestras necesidades. Es por ello que cada hueso y cada grupo de huesos tienen funciones especializadas. Al esqueleto se le puede considerar como un conjunto de eslabones que componen un mecanismo complejo construido de un material inteligente, ya que además de tener la capacidad de regenerarse ante una fractura o fisura, tiene la capacidad de detectar los estímulos del ambiente y responder a estos, es decir, es capaz de modificar su tamaño, forma y estructura según las demandas mecánicas que se le imponen [1].

1.1.1 Composición del Hueso

El material que constituye al hueso es el tejido óseo, el cual está compuesto por células y componentes extracelulares calcificados que forman la matriz ósea. Si bien no todos los huesos son iguales en tamaño, forma y consistencia, en promedio, su composición es la siguiente:

El tejido óseo está formado de 20% de agua y el 80% restante es peso seco (hueso). Este peso seco tiene dos fases, la orgánica que aporta el 23% y la inorgánica con el 77%. La fase orgánica a su vez está formada en su mayoría por colágeno (89%) y el resto lo forman proteínas, lípidos y carbohidratos. Finalmente, la fase inorgánica (mineral) está formada por cristales de hidroxiapatita (ver **Figura 1**) [1].

La fase mineral del hueso lleva a cabo dos tipos de funciones [2]:

- Reserva iónica, ya que es un almacén metabólico que funciona como moderador de la concentración e intercambio de sales de calcio y fósforo.
- Determina, en gran medida, las características mecánicas del tejido por su gran abundancia en el esqueleto y además porque es un cristal que crece y se compacta para dar resistencia suficiente.

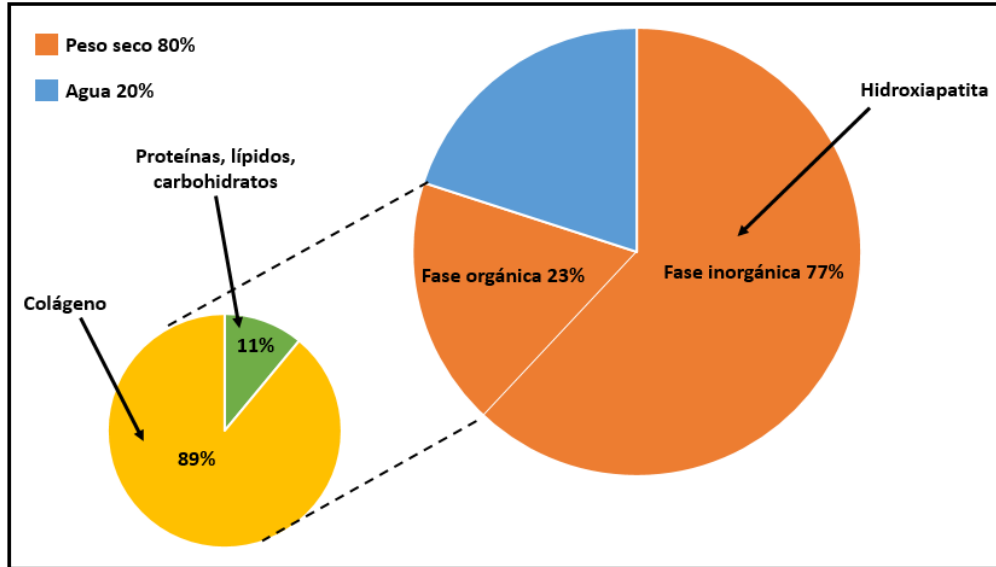


Figura 1 Composición del hueso

Los huesos largos (húmero, fémur, tibia, etcétera) sirven como el modelo clásico para la estructura macroscópica del hueso. Un hueso largo y adulto típicamente consiste en un eje cilíndrico (diáfisis) y dos extremos redondeados y gruesos (epífisis), como se muestra en la **Figura 2**:

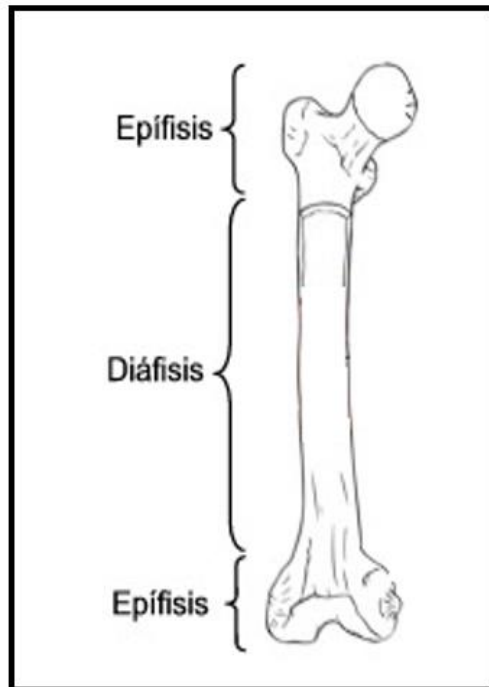


Figura 2 Designación de zonas en huesos largos. Tomado de: [3]

1.1.2 Tipos de Tejido Óseo

A nivel macroscópico existen dos formas de tejido óseo: compacto (cortical) y esponjoso (trabecular).

El hueso cortical es un material denso y sólido formado por canales microscópicos. Éste forma aproximadamente el 80% de un esqueleto humano adulto, y corresponde a la pared externa de todos los huesos, como se muestra en la **Figura 3**. Además es responsable de las funciones de apoyo y protección del esqueleto. La mayor parte de hueso cortical se encuentra en el eje (diáfisis) de los huesos largos [1,4].

El 20% del resto de masa ósea es hueso esponjoso (trabecular), y está formado por un enrejado de vértices y varillas, llamadas trabéculas, las cuales se encuentran dentro del hueso, comúnmente en las epífisis de huesos largos (ver **Figura 3**). Este tipo de microestructura está inteligentemente ubicada en las zonas del esqueleto que necesitan soportar mayor carga. El tejido trabecular está especialmente diseñado para absorber la energía procedente de impactos transmitidos a través de articulaciones. Por ello, éste depende de su estructura para brindar la mayor fuerza mecánica en estas zonas. Un caso interesante es el fémur, el cual es sometido a una gama amplia de cargas como compresión, tracción, flexión y torsión [1,4].

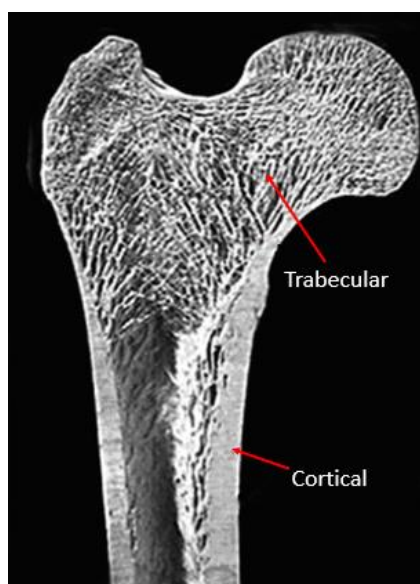


Figura 3 Muestra de fémur en la cual se señala el tejido trabecular y el cortical. Tomado de: [5]

1.1.3 Remodelado Óseo

El remodelado óseo es un fenómeno equilibrado de reestructuración de hueso existente que está en constante formación y reabsorción. Este proceso permite renovar desde un 5 hasta un 10% del hueso total al año. Según los índices normales para un hueso adulto, el hueso cortical tiene una vida media de 20 años y el hueso trabecular varía de 1 a 5 años [4]. Este ciclo de regeneración de hueso ayuda a mantener el comportamiento de la estructura ante cargas y la capacidad del esqueleto para regular la homeostasis de calcio, hematopoyesis y reparar el daño, adaptando su microestructura a los esfuerzos locales [6].

Las unidades básicas multicelulares o BMU (*basic multicellular units*) son áreas microscópicas tanto de hueso cortical como de trabecular en donde se lleva a cabo el remodelado óseo. El ciclo de vida de la unidad realiza cinco estados consecutivos: quiescente, de activación, reabsorción, formación y mineralización. A continuación se detallan aspectos importantes de cada uno de esos estados [6]:

Fase quiescente: El hueso se encuentra en condiciones de reposo. Este hueso está cubierto por una capa no mineralizada (0.1-0.5 μm de grosor) de tejido conectivo con pocas fibras de colágeno.

Fase de activación: Ocurre un encogimiento de los osteoblastos maduros que se encuentran en la superficie endóstica y además esta membrana endóstica es digerida por las colagenasas (enzima que rompe los enlaces de los colágenos). Así queda expuesta la superficie mineralizada provocando que los osteoclastos de los alrededores sean atraídos.

Fase de reabsorción: Cuando los osteoclastos toman contacto con la superficie del hueso, éstos comienzan a erosionarlo, formando cavidades. Esta fase puede durar de 1 a 3 semanas.

Fase de formación: En las zonas que fueron reabsorbidas se agrupan preosteoblastos, los cuales son atraídos por los factores de crecimiento que fueron

liberados en la fase anterior. Los preosteoblastos sintetizan un cemento sobre el que se adhiere el nuevo tejido. Los preosteoblastos pasan a ser osteoblastos y sintetizan una sustancia llamada osteoide que llenará las zonas previamente excavadas.

Fase de mineralización: El osteoide depositado después de 30 días empieza a mineralizarse, terminando a los 130 días para hueso cortical y 90 para el trabecular.

1.2 RESISTENCIA MECÁNICA DEL HUESO

Recientemente la Organización Mundial de Salud (OMS) ha definido que la resistencia ósea es la fuerza necesaria para desencadenar el fracaso biomecánico del hueso y se considera que ésta depende básicamente de dos variables: la cantidad y la calidad ósea [7,8].

Mientras que la cantidad del hueso depende directamente de la densidad mineral ósea (DMO), la calidad del mismo dependerá de variables como la microestructura, que a la vez tiene que ver con características como el grado de porosidad, grosor y espacio trabecular [8].

1.2.1 Cantidad

El DMO depende de la cantidad de mineral que el hueso adquiere durante el proceso de desarrollo y maduración. Esta cantidad de masa ósea evoluciona de acuerdo a la edad.

Durante la etapa embrionaria se lleva a cabo un proceso de osificación. El proceso inicia con la aparición de una plaqueta primitiva de tejido embrionario pero no se forma hueso sino que aparece en una fase intermedia cartilaginosa. En esta fase se forma una placa de cartílago porque las células mesenquimales (células madre) se

diferencian a condroblastos y a partir de aquí (séptima semana embrionaria) aparecen osteoblastos que empezarán a osificar la zona [9].

La mineralización comienza semanas antes del nacimiento, habiendo una aceleración importante durante la pubertad, tanto en hombres como en mujeres. Pasando esta etapa viene el punto máximo alrededor de los 30 años. Después de esto aparece un desequilibrio en el remodelado óseo, en el cual, la cantidad de hueso destruido es mayor que el hueso formado, disminuyendo en mayor proporción la masa ósea de las mujeres, durante la etapa de menopausia. Esta declinación progresiva puede dar lugar a valores de masa ósea muy disminuida de acuerdo al sexo y edad, clasificándolos dentro del rango de patologías de deficiencia ósea. A continuación, se explica mediante la **Figura 4**.

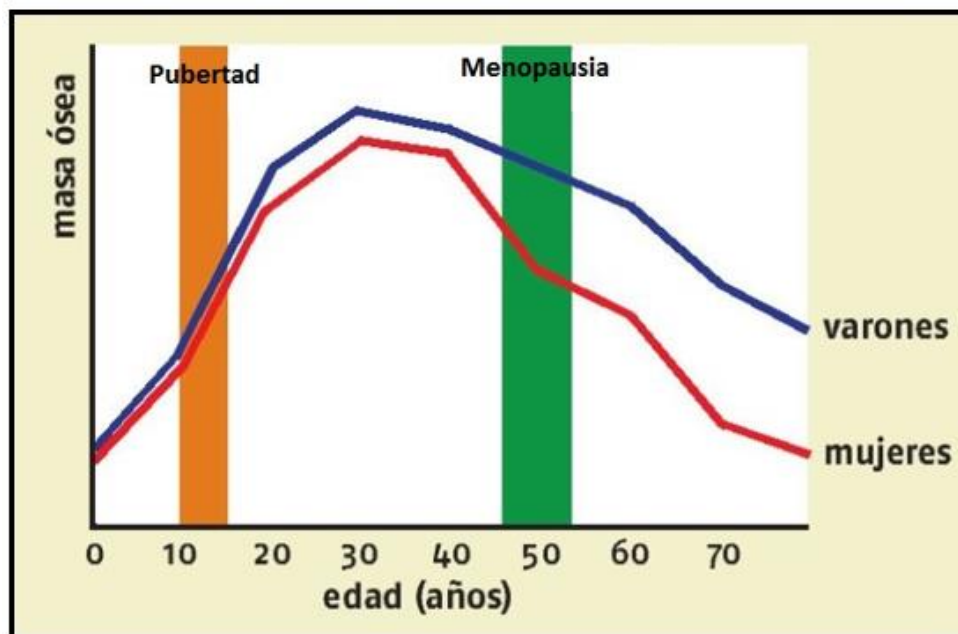


Figura 4. Evolución de masa ósea con la edad, en hombres y mujeres. Tomado de: [10]

1.2.2 Calidad

La calidad ósea está definida como el conjunto de aquellas variables independientes del DMO y que son las propiedades intrínsecas del hueso que lo hacen capaz de resistir fuerzas a la fractura. Dentro de éstas variables se encuentra la microestructura integrada por la porosidad, el grosor y el espacio trabecular.

1.2.2.1 Microestructura Cortical

La unidad fundamental del hueso cortical está formada por estructuras óseas cilíndricas llamadas sistemas de Havers, señalados en la **Figura 5**. Estas estructuras se disponen de manera compacta y longitudinal al hueso, proporcionándole a éste gran rigidez y por lo tanto alta resistencia a cargas pero con un bajo porcentaje de deformación [1].

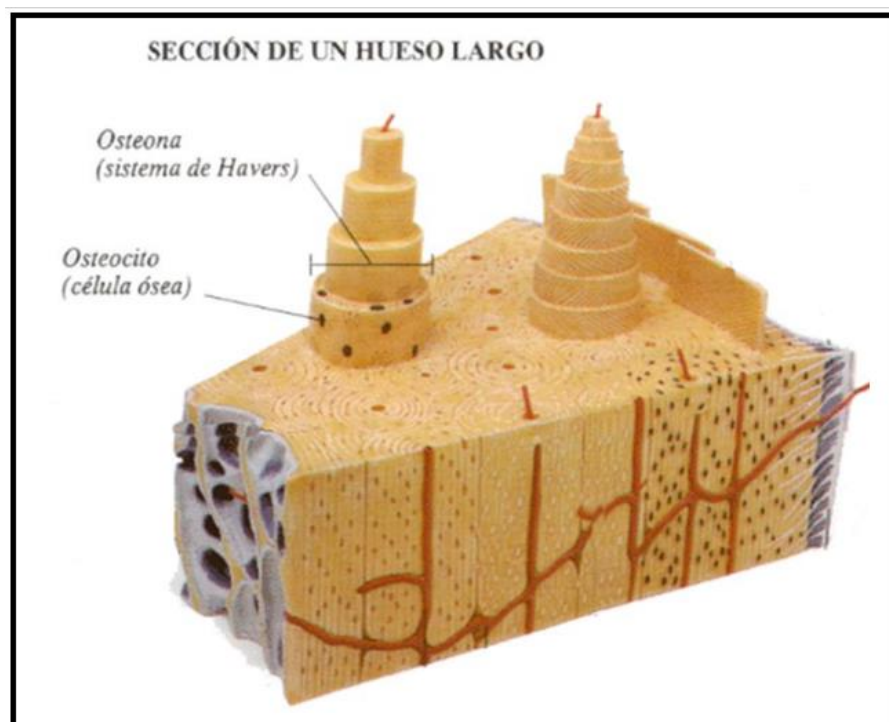


Figura 5 Representación de la sección de un hueso largo en la cual se señalan las estructuras que conforman al hueso cortical. Tomado de: [1]

1.2.2.2 Microestructura Trabecular

Las unidades estructurales del hueso esponjoso se denominan trabéculas y su distribución genera un comportamiento biomecánico diferente al del hueso cortical. Este tipo de diseño estructural (ver **Figura 6**) soporta menos carga debido a que su porosidad disminuye la cantidad de material y además de que su objetivo principal es el de funcionar como amortiguador de impactos. Por ello el hueso esponjoso tiene resistencias menores al del hueso cortical, sin embargo tiene la gran ventaja de ser mucho más elástico, con un mayor porcentaje de deformación.

La organización de las trabéculas es heterogénea, lo que le da la características de soportar cargas en diferentes direcciones. De manera que al hueso esponjoso se le considera dentro de las estructuras ortotrópicas, que tienen dos o tres ejes ortogonales entre sí y generalmente sus propiedades mecánicas son diferentes en las direcciones de cada uno de estos ejes [4].

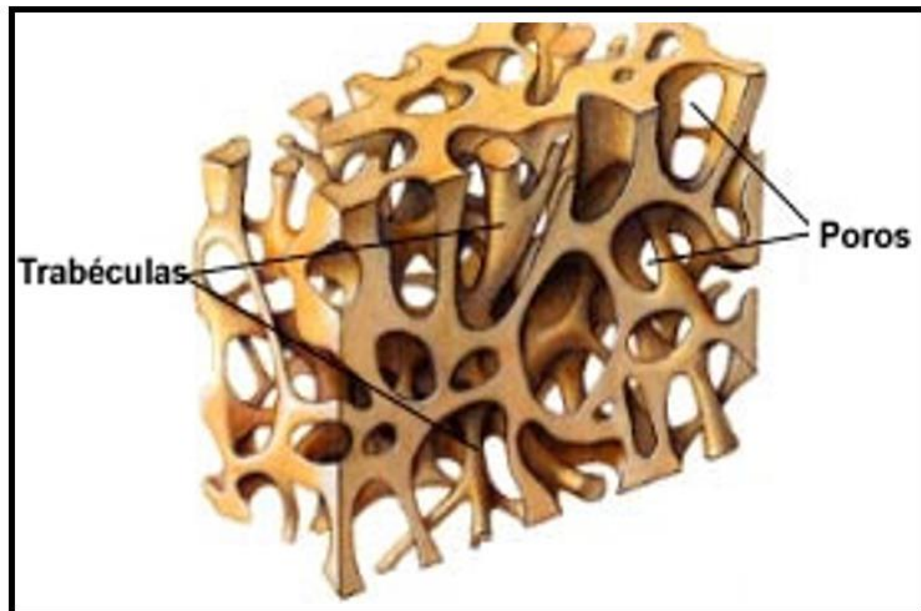


Figura 6. Imagen de microestructura trabecular señalando a las trabéculas y a los poros. Tomado de: [12]

El hueso trabecular tiene una característica principal: su porosidad. La mineralización, el tamaño de los poros, la separación entre trabéculas y el grosor de éstas son los factores de mayor importancia de la resistencia ósea. De tal forma que si disminuye el grosor trabecular se puede llegar a perder hasta un 30% de su resistencia [14,15,16].

La ventaja de estudiar al hueso desde un enfoque biomecánico es que ayuda a entender las fuerzas que se aplican al esqueleto mediante actividades cotidianas y las alteraciones que éstas producen en la microestructura ósea.

1.3 OSTEOPOROSIS

La osteoporosis es un trastorno esquelético silencioso provocado por un desequilibrio en el proceso de remodelado del hueso, en donde disminuye la densidad de tejido óseo, formando cavidades, por lo que aumenta su grado de porosidad.

Esta disminución de masa ósea afecta tanto a tejido cortical como trabecular, aunque en distinta proporción. Estudios previos han demostrado que el hueso trabecular es más sensible a los cambios bioquímicos, hormonales y nutricionales, a comparación del hueso compacto (cortical) [17]. De manera que el hueso trabecular se ve mayormente afectado durante la osteoporosis.

En la estructura trabecular, la osteoporosis provoca un adelgazamiento de las trabéculas y por lo tanto un aumento en el espacio trabecular y porosidad. Estas causas pueden generar una disminución en la resistencia ósea de hasta un 65% [18,19].

En etapas jóvenes, cuando existe alguna microlesión en el esqueleto, provocada por cargas cíclicas, se activa el remodelado óseo y todo es reparado eficientemente. Pero en etapas adultas, sumándole la deficiencia ósea de osteoporosis, esas microfracturas que se van formando ya no son eliminadas, creando una acumulación de éstas. Todo esto reduce aún más la resistencia ósea (hasta en un 20%) provocando

fractura total en los huesos [18, 19,20]. A este fenómeno se le conoce como falla por fatiga, por lo que las fracturas en personas de la tercera edad no ocurren por el impacto de una caída, si no que se fracturan por un exceso de microfracturas en su tejido trabecular [20,21]. Por esta razón, es lógico encontrar que la mayoría de las fracturas de tipo osteoporótico ocurran en zonas de los huesos en donde existe mayor cantidad de tejido trabecular como en las vértebras y epífisis en huesos largos (fémur, radio, cúbito, etcétera).

1.3.1 Riesgo de Fractura

A mayor edad no sólo hay una pérdida progresiva de masa ósea, sino que también existen problemas de movilidad y dependencia. Además, de acuerdo a estudios en pacientes que sufrieron fractura osteoporótica, se encontró que presentaron un desencadenamiento de comorbilidades, lo cual sugiere que éstas están directamente implicadas en la consecución de una fractura [22]. De tal manera, las fracturas osteoporóticas amenazan no solo a la calidad de vida del paciente, sino también su esperanza de vida.

Se dice que la osteoporosis es una de las enfermedades que generará mayor impacto socioeconómico en los próximos años debido principalmente a las fracturas [22,23].

En México, del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) y de la Secretaría de Salud (SS), se recaudaron los casos de fractura registrados en el año 2000. Se observó que 169 mujeres y 98 hombres de cada 100,000 individuos sufren fracturas de cadera todos los años y estos números aumentan de manera exponencial respecto a la edad en ambos sexos: una de cada 12 mujeres y uno de cada 20 hombres mayores de 50 años sufrirán una fractura de cadera. Este fenómeno se muestra en la **Figura 7** [24,25]. De este mismo estudio se hizo la proyección hasta el año 2050, en el cual se espera

que la cantidad anual de fracturas aumentará de un 29.37% en 2005 a 155.87% en 2050 [25].

Las fracturas de cadera también generan un impacto económico ya que esto incluye cirugía, prótesis o fijación, hospitalización, estudios de laboratorio e imágenes, entre otros, lo cual en 2006 se superó la cantidad de USD 97 millones para 22,000 casos, sólo para fractura de cadera [25].

La tasa de mortalidad después de sufrir una fractura de cadera es muy elevada: duplica la de las personas de la misma edad sin fractura, y de las diferentes fracturas osteoporóticas que existen, ésta es la que mayor mortalidad provoca. Para la población en conjunto, el hecho de sufrir una fractura de cadera reduce la expectativa media de vida restante del paciente en un 25% [25, 26].

En general, los costos de fractura por fragilidad son altos en México y es de vital importancia llevar a cabo esfuerzos para la prevención a la mayor brevedad posible, esto con la finalidad de evitar una futura epidemia de fracturas por fragilidad y su impacto económico.

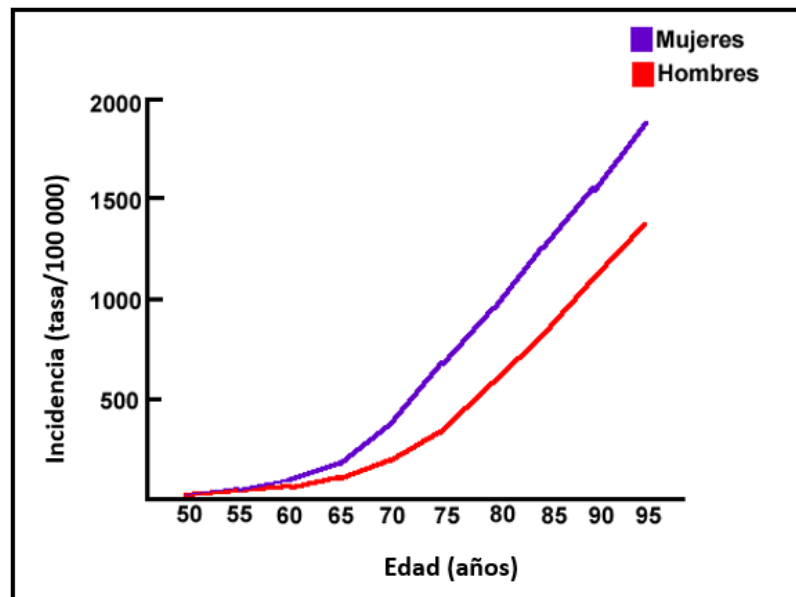


Figura 7. Incidencia promedio de las fracturas de cadera en hombres y mujeres mexicanos (2000-2006)

1.3.2 Diagnóstico: Densitometría Ósea

Gracias al desarrollo de tecnología, existen diversas técnicas usadas para el diagnóstico de osteoporosis, las cuales se basan en la cuantificación de DMO el cual mide la cantidad de mineralización (contenido de hidroxapatita) en g/cm^2 . A estas pruebas se les conoce como densitometría ósea y una tecnología muy utilizada para llevarlas a cabo es la absorciometría de rayos X de energía dual (DXA, por sus siglas en inglés).

El principio físico fundamental en que se basa la DXA es la medición de la absorción de rayos X con energías fotónicas altas y bajas (de 70 y 40 keV) a través de la zona a explorar. Puesto que la atenuación de los rayos X depende de la estructura que atraviesan y de la energía de los fotones, la medición de los factores de transmisión en dos energías permite determinar las densidades del hueso y del tejido blando [27,28,29].

En este examen, el paciente se recuesta en una camilla. Un generador de rayos X de bajas dosis de radiación (0.001miliSievert) se encuentra ubicado debajo del paciente y un dispositivo de imágenes, o detector, se posiciona arriba. Estos pueden moverse longitudinalmente sobre un riel (ver **Figura 8**). El detector pasa lentamente por el área a medir, generando imágenes en un monitor de computadora. La energía absorbida por el hueso se relaciona con el grado de mineralización del mismo, obteniendo un valor de DMO [29].

Utilizando el DMO, se realiza el cálculo para determinar el valor del parámetro que definirá el diagnóstico del paciente, llamado T-score. Dicha métrica compara la densidad ósea del paciente con la de un adulto joven y sano de 30 años mediante la siguiente ecuación:

$$T - score = \frac{DMOp - DMOprom}{SD} , \quad (1)$$

donde DMO_p corresponde al DMO del paciente, DMO_{prom} es el DMO promedio de la población joven y SD es la desviación estándar.

De esta forma el T-score es ubicado según su valor en las diferentes clasificaciones, generando así un diagnóstico como es mostrado en la **Tabla 1**.

Las cifras de DMO para un diagnóstico normal oscilan entre 0.97 y 1.28 g/cm^2 . Las de osteopenia van de 0.75 a 0.85 g/cm^2 . Y finalmente para osteoporosis, los valores de DMO están por debajo de los 0.65 g/cm^2 .

Como se puede observar, este método de diagnóstico solamente está evaluando la *cantidad* (DMO), no contempla la *calidad* y se sabe que la relación del DMO y la resistencia ósea no siempre es proporcional. Es por esto que existe un número importante de casos en pacientes que sufrieron de fractura a pesar de haber sido diagnosticados, respecto a valores de DMO, en el intervalo no osteoporótico.

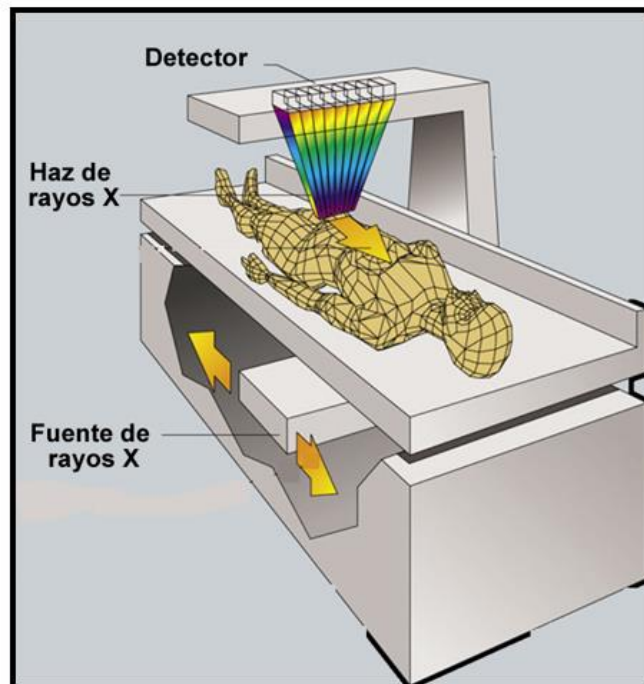


Figura 8. Equipo para densitometría ósea: DXA. Tomado de: [30]

Esto confirma que existen factores independientes al DMO que están relacionados con la resistencia ósea. Y estos factores de calidad son los que hacen falta contemplar en el diagnóstico confiable de osteoporosis y que además es de vital importancia añadirlos con la finalidad de prescribir el medicamento adecuado para evitar fracturas.

Diagnóstico	T-score
Normal	$T\text{-score} > -1.0$
Osteopenia	$-2.5 < T\text{-score} < -1.0$
Osteoporosis	$T\text{-score} < -2.5$

Tabla 1. Clasificación del diagnóstico en una densitometría ósea de acuerdo al T-score calculado

2.HIPÓTESIS

La incorporación de métricas de las propiedades mecánicas al estudio clínico actual del hueso con signos de osteoporosis coadyuvará al mejor entendimiento de la progresión y diagnóstico de dicho padecimiento.

3.OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Determinación de las propiedades mecánicas de hueso trabecular de individuos con signos de osteoporosis.

3.2 Objetivos Particulares

- Medición de densidad mineral de hueso mediante equipo DXA para la confirmación de osteoporosis en el donador y para obtener el valor de DMO.
- Obtención de métodos y datos para la microestructura:
 - Cálculo de porosidad y comparación con micro-CT.
 - Grosor y espacio trabecular
- Obtención de esfuerzo último, esfuerzo de cedencia, deformación última, módulo de Young, resiliencia y tenacidad, mediante ensayos mecánicos de compresión para evaluar la resistencia ósea.
- Realizar un análisis comparativo entre parámetros de calidad y cantidad, para determinar su relación respecto a los parámetros de resistencia ósea.

4. MÉTODOS

En este capítulo se explicará la metodología que se utilizó para obtener y analizar las características mecánicas de especímenes de hueso trabecular humano.

Así pues, primero se describirá el proceso de preparado de muestras, después los exámenes de densitometría ósea a las que se sometieron. Posteriormente se ilustrará sobre el análisis de imágenes en dos y tres dimensiones, así como sobre la comparación y calibración respecto a micro-CT. En seguida se hablará sobre el método del cálculo para grosor y espacio trabecular. Finalmente se explicará el proceso de los ensayos mecánicos y la obtención de propiedades mecánicas.

4.1 DESCRIPCIÓN DE ESPECÍMENES

Los especímenes fueron donados por el Banco de Hueso y Tejidos del Hospital Universitario de la Universidad Autónoma de Nuevo León. En total fueron 13 cortes de cuello femoral provenientes de 7 cadáveres: un control masculino de 25 años, y respecto a los de edad avanzada se tuvieron 3 cortes de género masculino de 50, 57 y 64 años de edad; y tres donadores de sexo femenino de 45, 52 y 68 años de edad. Todos los cortes de hueso pasaron por un proceso de liofilización, el cual elimina la materia orgánica del hueso y consiste en una rápida congelación del tejido a muy bajas temperaturas para posteriormente someter la muestra a un ligero calentamiento en una cámara al vacío. Este método permitió trabajar con las muestras a temperatura ambiente y así conservarlas sin tener que recurrir a la refrigeración, ya que si el hueso aún contiene la materia orgánica es necesaria la refrigeración para evitar su descomposición.

La **Figura 9** muestra dos de los cortes femorales liofilizados que se donaron. Las imágenes superiores corresponden al donador masculino de 25 años y las imágenes inferiores pertenecen al donador femenino de 68 años.

4.2 MAQUINADO DE PROBETAS

Para este proceso de corte primeramente se construyeron moldes tipo marcos cuadrados de aluminio de 4cm por lado del área interior y 4cm de altura. Estos moldes se colocaban en una base lisa para agregarles una mezcla de yeso y agua. A continuación, se introducía el corte de hueso femoral y se dejaba un tiempo para que secase. Una vez seco, se llevaba a la máquina de corte controlado por computadora (CNC), en la cual mediante un código se programaron las coordenadas requeridas para lograr obtener de manera precisa las probetas cúbicas de 10 mm por lado. Esta fase se ejemplifica en la **Figura 10**.

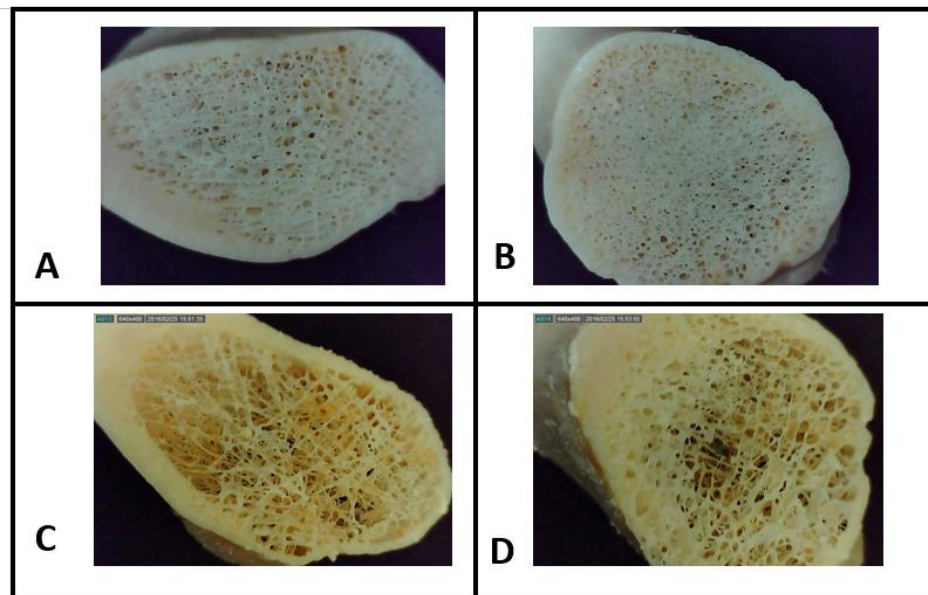


Figura 9. Cortes transversales de cuello de fémur. A) Fotografía proximal del hueso M 25 años. B) Fotografía distal del hueso M 25 años. C) Fotografía proximal del hueso F 68 años. D) Fotografía distal del hueso F de 68 años.

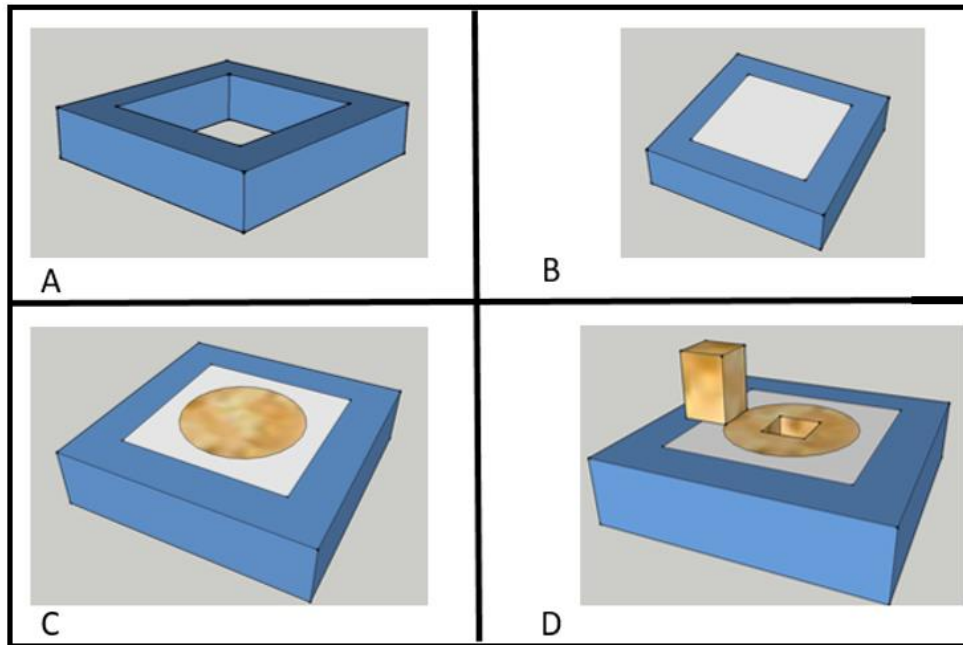


Figura 10. Maquinado de probetas. A) Molde tipo marco. B) Agregación de mezcla de yeso y agua. C) Incrustación del corte de cuello femoral. D) El CNC hace un corte para formar una probeta cúbica de tejido esponjoso.

A través de este proceso se lograron obtener 16 probetas que fueron clasificadas tal y como se muestra en la **Tabla 2**:

Donador	Sexo	Edad	Probeta
Control	M	25	H10.1
			H10.2
1	F	45	H7.1
			H7.2
2	M	50	H8
3	F	52	H2.1
			H2.2
			H5.1
			H5.2
4	M	57	H1
			H4
5	M	64	H3.1
			H3.2
			H6
6	F	68	H9.1
			H9.2

Tabla 2. Características del total de las probetas obtenidas de acuerdo al género y edad

4.3 DENSITOMETRÍA ÓSEA

Para evaluar el grado de mineralización del hueso y para comprobar si el donador presentaba osteoporosis, cada una de las probetas se sometió a exámenes de densitometría ósea. Estas pruebas se llevaron a cabo en el Centro de Osteoporosis del Hospital Universitario de Nuevo León utilizando el equipo DXA de Hologic modelo Discovery W.

Debido a que este equipo irradia dos haces de rayos X, uno de baja energía para detectar tejido blando y otro de alta energía para hueso, se tuvo que simular un medio biológico en el cual estuviera inmersa la probeta. Para construir este medio biológico se tomaron en cuenta dos cosas importantes:

- Material del tejido blando. El acrílico es comúnmente usado como un material de densidad equivalente a la del tejido blando, por lo tanto se seleccionó éste para la construcción del medio biológico.
- Grosor del tejido blando. Existen estudios que indican que un grosor moderado puede ir de 5 a 15 cm, y a estas profundidades DXA es capaz de arrojar resultados más consistentes y precisos. Sin embargo a altas profundidades de tejido blando (20 -25 cm), en el caso de personas obesas, la cantidad de grasa y mineralización se sobreestiman, provocando errores importantes en la medición [31].

Con estas dos características se construyó una placa de acrílico de 10cm por lado y 6cm de profundidad. Y en el centro de esta placa se hizo una cavidad cúbica en donde serían colocadas las probetas, como se muestra en la **Figura 11**.

Este bloque fue colocado sobre la camilla de DXA para llevar a cabo las mediciones correspondientes de DMO y obtener el valor para T-score utilizando la ecuación (1).

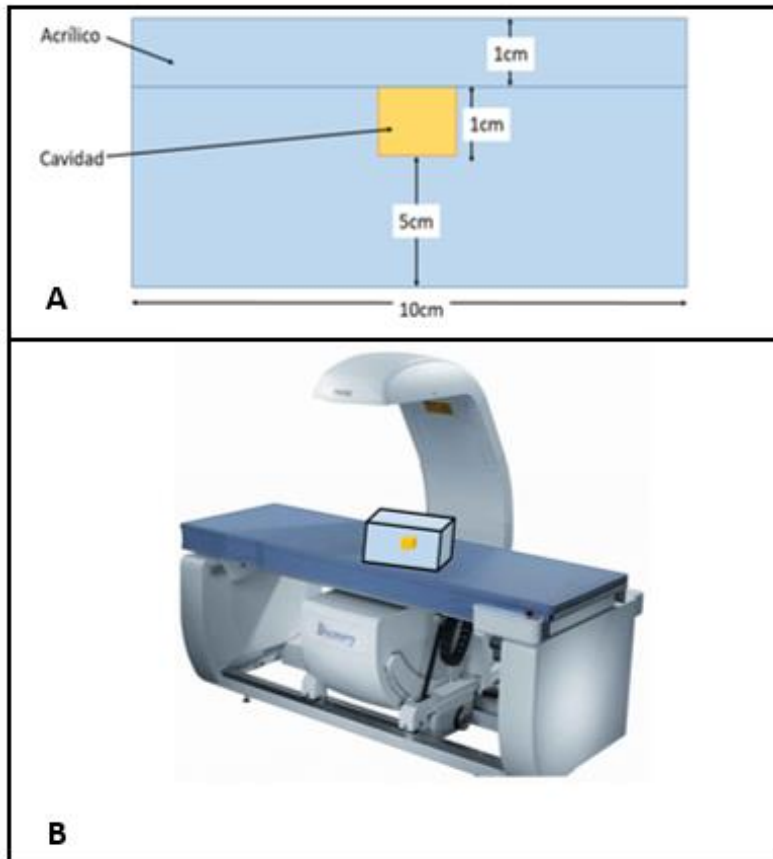


Figura 11. Medio biológico. A) Características del maquinado de acrílico. B) Probeta inmersa en el bloque de acrílico colocada sobre el equipo DXA

4.4 ANÁLISIS DE IMÁGENES

La calidad es un factor importante del cual depende la resistencia ósea. Dentro de la calidad está la microarquitectura trabecular. Para analizar algunas características de esta microarquitectura se llevó a cabo un procesamiento de imágenes en dos y tres dimensiones. Estos dos análisis fueron necesarios para hacer una comparación entre ellos y verificar si sería posible obtener un valor de porosidad aproximado a valores reales solamente contemplando las 6 caras de las probetas y no todo el volumen. Esto último se hizo con una calibración de imágenes a través de un proceso de erosión.

Una vez que se calibraron las imágenes, se prosiguió con un análisis del grosor y espacio trabecular, que también forman parte de la microarquitectura. Los códigos

diseñados para estos análisis fueron programados en Matlab. A continuación se detallan cada uno de estos procesos.

4.4.1 Porosidad 2D

Para el análisis en 2D del porcentaje de porosidad, se tiñeron con marcador negro las 6 caras de las probetas y se tomaron fotografías de alta resolución (0.3 Mp) con la cámara Dino-Lite Digital Microscope Basic.

El programa diseñado (en código Matlab) para cuantificar la porosidad, de manera general, opera de la siguiente manera:

1. Toma la fotografía original y mediante la función *im2bw* la convierte en una imagen binaria, en la cual los pixeles de valor 0 (negro) representan hueso y los de valor 1 (blanco) corresponden a los poros. Un ejemplo representativo de estas imágenes se muestra en la **Figura 12**.
2. Una variable *PV* es utilizada para almacenar el número de pixeles blancos, que se normalizará a mm². El valor de esta variable corresponde al área de los poros.
3. Se utiliza la función *size* que guarda las dimensiones de la imagen en pixeles en una variable *X* para la dirección horizontal y en una variable *Y* para la dirección vertical.
4. Para obtener el total de número de pixeles de la imagen que representa el área total de ésta, se calcula el producto de las variables *X* y *Y*; e igualmente se normaliza a mm².
5. Finalmente, la porosidad está dada en porcentaje, por lo que se calcula mediante la relación del área de poros y el área total, dada por:

$$\%Porosidad = \frac{\text{Área}_{-}poros[mm^2]}{\text{Área}_{-}total[mm^2]} \times 100, \quad (2)$$

en la cual el área total está dada por:

$$\text{Área}_{total}[\text{mm}^2] = XY \quad . \quad (3)$$

Este procesamiento se aplicó a cada una de las 6 caras de las probetas y a continuación se determinó un promedio de porcentaje de porosidad por probeta.

Adicionalmente a este análisis, se estudió más a detalle el tamaño de cada poro observado en las imágenes. Para esto se aplicó la función *bwlabel*, que actúa como un detector de objetos en la imagen binarizada. Nuevamente los pixeles con valor 1 representan poros y los de valor 0 representan hueso. En la **Figura 13** se muestra un ejemplo de esta detección de poros, en la cual cada poro es representado por un color. A través de esta detección de objetos se cuenta el total de número de poros de las 6 caras de la probeta y se evalúa el área de cada uno. Con esto se hizo un análisis de la distribución de porosidad mediante histogramas.

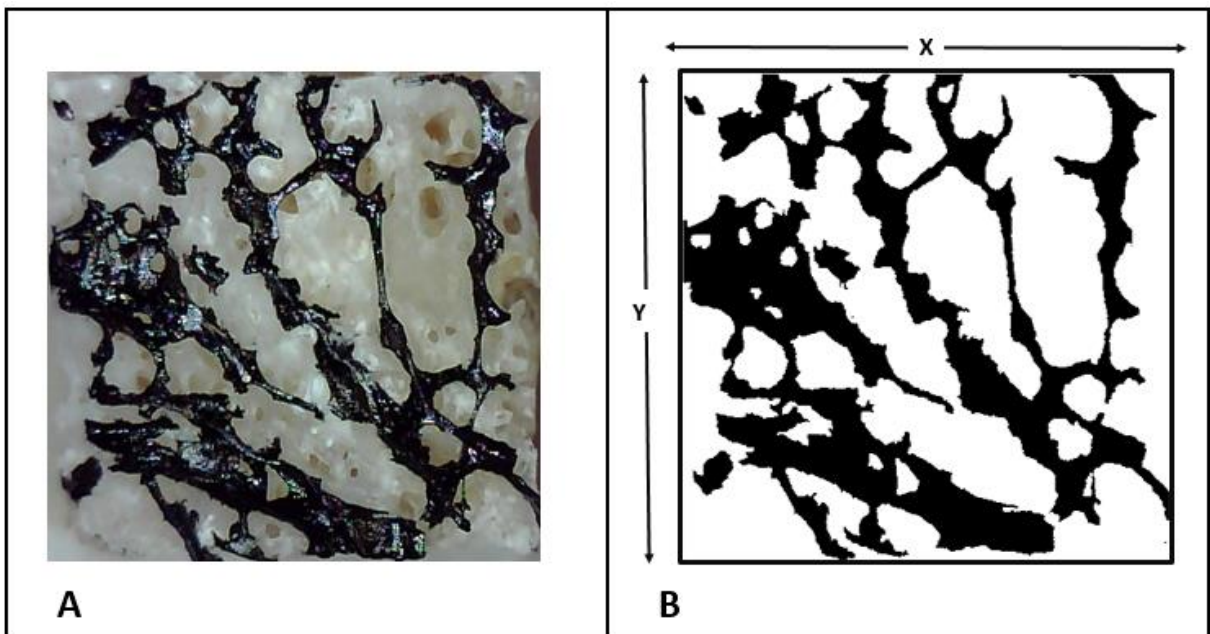


Figura 12. Binarización de imagen. A) Fotografía original de una de las paredes marcadas de negro. B) Imagen binarizada

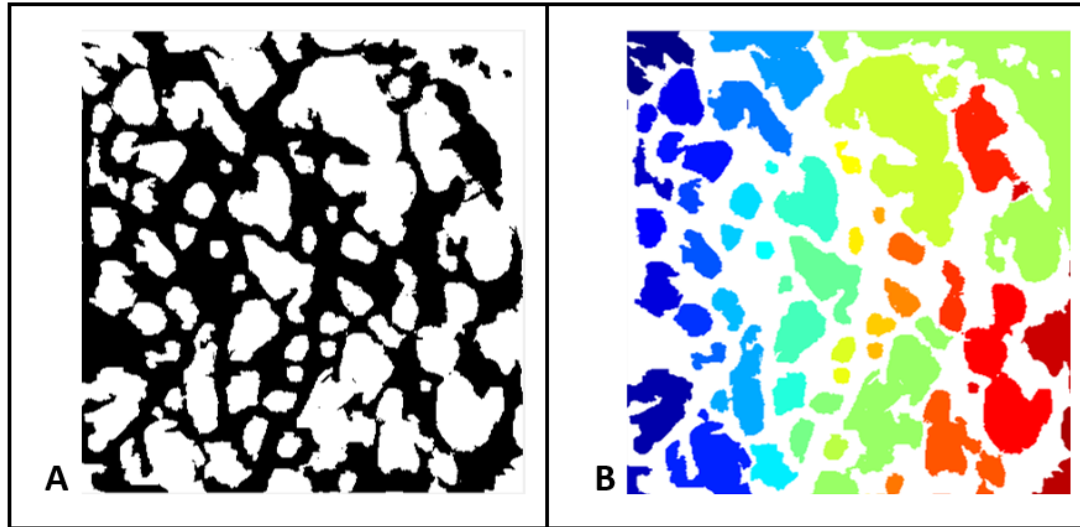


Figura 13. Detección de objetos. A) Imagen binarizada. B) Imagen que muestra los poros detectados

4.4.2 Porosidad 3D: Micro-CT

La técnica de microtomografía computarizada (micro-CT) es utilizada en aplicaciones tanto de imagenología médica como en la microtomografía computarizada industrial. Esta tecnología permite crear modelos virtuales de objetos mediante la radiación de rayos X a la muestra, de tal manera que es una prueba no destructiva, ya que no afecta de ninguna manera al hueso. Estos escáneres de rayos X son de alta resolución, sin embargo su uso está limitado a animales pequeños o muestras biomédicas, fósiles, materiales, entre otros.

Para el caso del análisis de porosidad en 3D de los especímenes de hueso, se hicieron exámenes de micro-CT para 6 probetas. El equipo de micro-CT utilizado no es comercial y fue un diseño realizado por el Dr. Arnulfo Martínez Dávalos y colaboradores del Instituto de Física de la UNAM. Este equipo tiene una resolución por unidad de volumen (voxel) de $35\mu\text{m}$ por lo que de cada probeta se obtuvieron aproximadamente 200 imágenes (ver *Figura 14*).

Un nuevo código se programó para calcular el porcentaje de porosidad en 3D y su algoritmo es muy similar al cálculo de porosidad en 2D, pero para este caso en lugar de analizar por pixel, se analizó por voxel en donde ahora se tiene una variable Z que representa la dimensión de la probeta en el eje "z". Así que una vez contando con el conjunto de imágenes para cada probeta, nuevamente se binarizaron éstas, en las cuales el voxel de valor 0 representa hueso y el de valor 1 representa poro. Se procedió a determinar el porcentaje de porosidad con:

$$\%Porosidad = \frac{Volumen_poros[mm^3]}{Volumen_total[mm^3]} \times 100 \quad . \quad (4)$$

En donde el volumen total será el producto de las dimensiones de la probeta en las direcciones X, Y y Z:

$$Volumen_total[mm^3] = XYZ \quad . \quad (5)$$

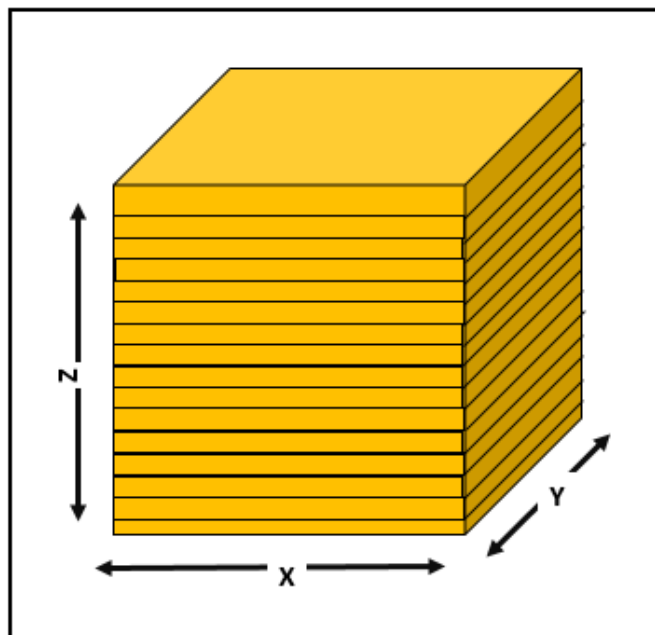


Figura 14. Ejemplificación del conjunto de imágenes dadas por Micro-CT

4.4.3 Comparación y Calibración

Debido a que micro-CT es una tecnología costosa y de difícil acceso, es necesario encontrar algún método que permita aproximar los valores del porcentaje de porosidad obtenidos mediante técnicas de baja resolución (como la propuesta en la Sección 4.4.1) para que se acerquen lo más posible a aquellos obtenidos con técnicas de alta resolución, en este caso micro-CT. De esta forma, la metodología aquí propuesta tiene como objetivo que en trabajo futuro se puedan determinar estos valores sin tener que depender totalmente de este tipo de equipos. Para esto se llevó a cabo una comparación de la porosidad aquí analizada en 2D contra la porosidad analizada en 3D.

En una primera aproximación, las imágenes tomadas con la microcámara se compararon con las imágenes obtenidas de micro-CT correspondientes a la misma cara de la probeta. De esto se observó que una imagen en 2D (fotografías de alta resolución) era la superposición de aproximadamente 7 a 9 imágenes de micro-CT. De tal manera que para eliminar esa información de planos inferiores se aplicó una técnica de erosión a las imágenes.

La erosión es una de las operaciones morfológicas cuya función es la de simplificar imágenes y conservar las principales características de forma de los objetos. Ésta trabaja con la teoría de conjuntos la cual nos dice que dada una imagen A , y un elemento estructural B (ambas imágenes binarias con fondo blanco), la erosión de una imagen A por un elemento estructural B , es el conjunto de todos los elementos para los cuales B trasladado por x está contenido en A : [32]

$$A \ominus B = \{x \mid B_x \subseteq A\} \quad . \quad (6)$$

Una manera más didáctica y simple de verlo se muestra en la **Figura 15**, en donde A es la imagen binarizada y B es el elemento estructural, que para este ejemplo es una línea horizontal de dos píxeles. Luego B se superpone a cada uno de los píxeles en A ,

y en donde se detecte que todos los elementos de B se encuentran dentro de A entonces le da valor de 0 (negro) a ese pixel, de lo contrario es 1 (blanco).

Para comprobar que la morfología de la imagen erosionada tenía alto porcentaje de semejanza, se hizo otro programa: este código considera las dos imágenes a comparar (imagen de fotografía erosionada e imagen de micro-CT). Ya que las imágenes son del mismo tamaño, el principio fundamental de este programa es el de comparar el valor de un pixel dado con una coordenada (x,y) para ambas imágenes. Si en la coordenada (x,y) el valor del pixel en la imagen erosionada es igual al valor del pixel en la imagen de micro-CT en (x,y) , entonces se suma 1 al contador de pixeles con valores iguales, de lo contrario, no se toma en cuenta. Con esto se puede obtener un valor de porcentaje de semejanza haciendo una relación del número de pixeles con valores iguales y el número total de pixeles de la imagen:

$$\%Semejanza = \frac{\text{Número_de_pixeles_iguales}}{\text{Número_total_de_pixeles}} \cdot \quad (7)$$

Así pues, el número de erosiones necesarias en las imágenes 2D se determinó maximizando el porcentaje de semejanza definido en (7).

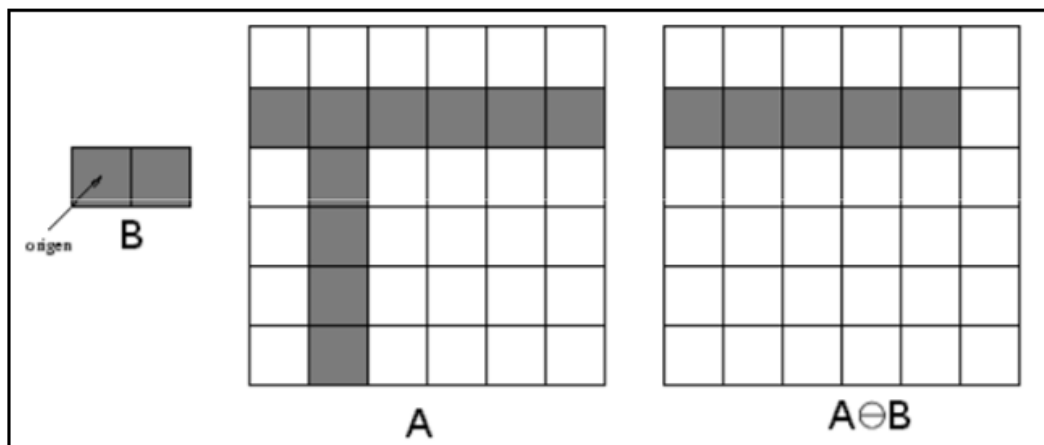


Figura 15. Erosión de imagen. A) Imagen a la que se le aplicará la erosión. B) Elemento estructural. $A \ominus B$) Imagen erosionada. Tomado de: [34]

4.4.4 Grosor y Espacio Trabecular

El hueso trabecular consiste en un enrejado de columnas y vigas que proporcionan la resistencia mecánica del esqueleto. Es muy importante conocer el grosor de estas columnas y el espacio que hay entre ellas, ya que es parte de la microarquitectura trabecular, que es otra componente de la calidad. Para calcular el grosor y el espacio trabecular existe la teoría de Hildebrand y Rüegsegger llamada “grosor local”, la cual sugiere que el grosor en un punto dado de la estructura está definido como el diámetro máximo de un círculo que se puede trazar dentro de la estructura [4,33].

Supongamos que Ω es el conjunto de puntos que forman cierta estructura amorfa. Así el grosor local está dado por la siguiente expresión:

$$\tau(p) = 2 \max(\{r \mid p \in \text{cir}(x, r) \subseteq \Omega, x \in \Omega\}) \quad , \quad (8)$$

donde $\tau(p)$ es el diámetro del círculo máximo que contiene el punto p el cual está completamente dentro de la estructura y $\text{cir}(x, r)$ son el conjunto de puntos dentro del círculo con centro en x y radio r (ver **Figura 16**).

Por lo que el grosor promedio de la estructura ser a el diámetro promedio de todos los círculos dentro de la estructura.

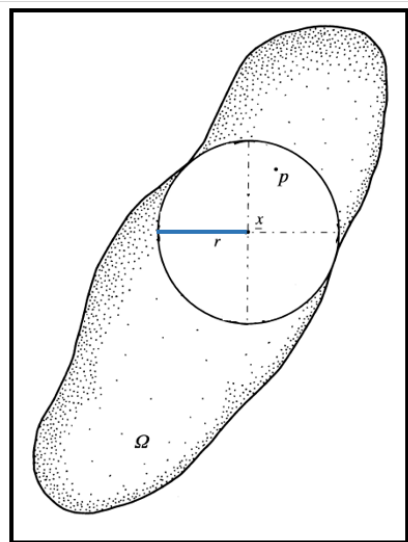


Figura 16. Grosor local $\tau(p)$ de una estructura dada Ω determinado por el máximo círculo inscrito en la estructura. Tomado de: [33]

4.5 PRUEBAS MECÁNICAS

Como ya se ha mencionado en capítulos anteriores, al hueso se le puede considerar como un material, de tal forma que se le puede estudiar en el contexto de la ciencia de materiales. Y para analizarlo mecánicamente se llevaron a cabo ensayos de compresión, los cuales son un análisis muy usados para obtener propiedades mecánicas básicas y poder después usarlas en simulaciones mecánicas de otros tipos de ensayos, tanto de estructuras óseas como de hueso completo.

Un elemento estructural, como lo es en el caso del tejido trabecular, contiene esfuerzos internos sobre una sección transversal plana y estos se definen como el conjunto de fuerzas estáticamente equivalentes a la distribución de tensiones internas sobre el área de esa sección. El esfuerzo σ se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\sigma = \frac{F}{A} \quad , \quad (9)$$

donde F es la fuerza aplicada y A es el área de la sección transversal, dando lugar a unidades de N/m² o Pascales (Pa) [4].

Cuando un cuerpo o estructura se encuentra sometido a compresión, las fuerzas que se aplican en este caso tienden a aplastarlo, causando una deformación en la muestra del material que se ve reflejado en la longitud o altura de ésta, ya que decreció, como se describe en la **Figura 17**. Así, la deformación ε está dada por la siguiente ecuación:

$$\varepsilon = \frac{l_i - l_f}{l_i} \quad , \quad (10)$$

donde l_i representa la longitud inicial de la muestra y l_f es la longitud final de la misma. Esto arroja valores adimensionales que pueden ser reportados en términos de porcentaje de deformación. [4]

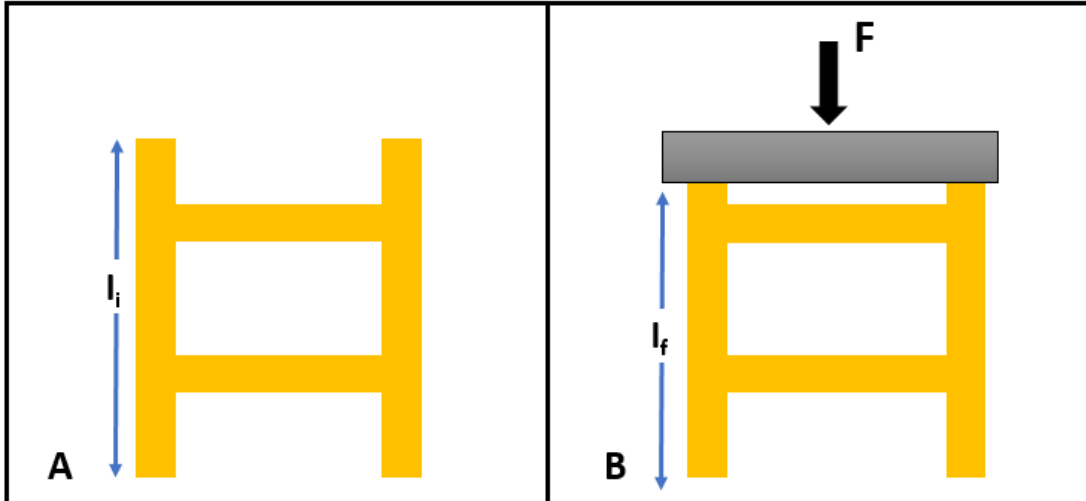


Figura 17. Estructura trabecular sometida a compresión. A) Trabéculas con carga 0 y longitud inicial l_i . B) Las trabéculas adquieren una longitud final l_f al aplicarles una fuerza F .

Los ensayos mecánicos de materiales permiten conocer sus propiedades mecánicas como: esfuerzo de rotura, límite elástico, porcentaje de deformación, rigidez, resiliencia, tenacidad, entre otros. Y todas estas propiedades mecánicas se obtienen mediante los trazos que proporcionan los ensayos de compresión conocidas como curvas esfuerzo-deformación.

La **Figura 18** muestra una curva de esfuerzo-deformación típica, en la cual se aprecian las distintas propiedades mecánicas que se pueden determinar a través de estos trazos. A continuación se explica cada uno de estos puntos importantes [4]:

- a) Esfuerzo de cedencia (σ_y): Es el que se encuentra ubicado en el punto del límite elástico, y es el esfuerzo a partir del cual el material sufre deformación permanente. Este esfuerzo comúnmente se obtiene trazando una línea paralela a la zona elástica pero con un desplazamiento del 0.2%. A este método se le conoce como "offset" y es mostrado en la **Figura 19**.

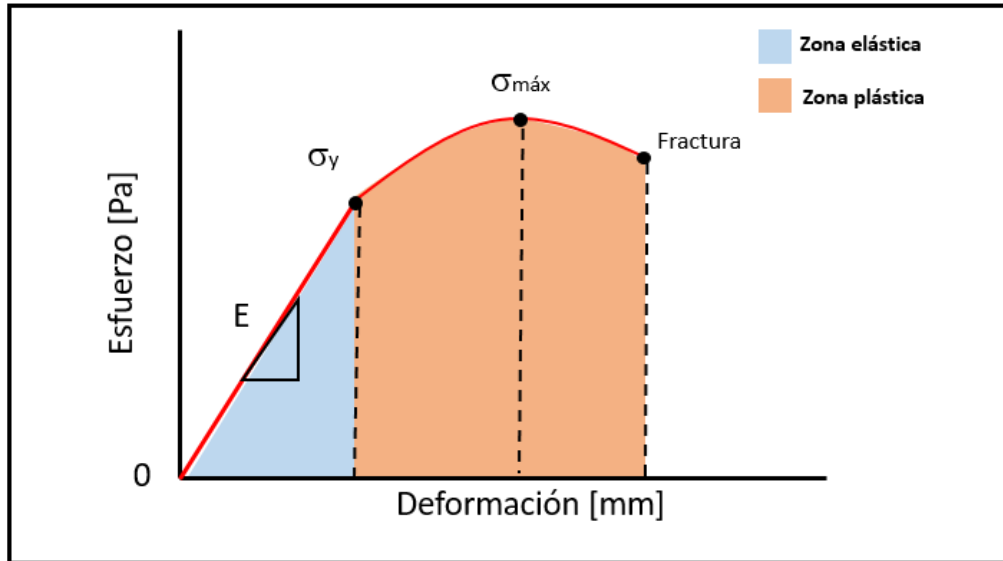


Figura 18. Diagrama esfuerzo-deformación

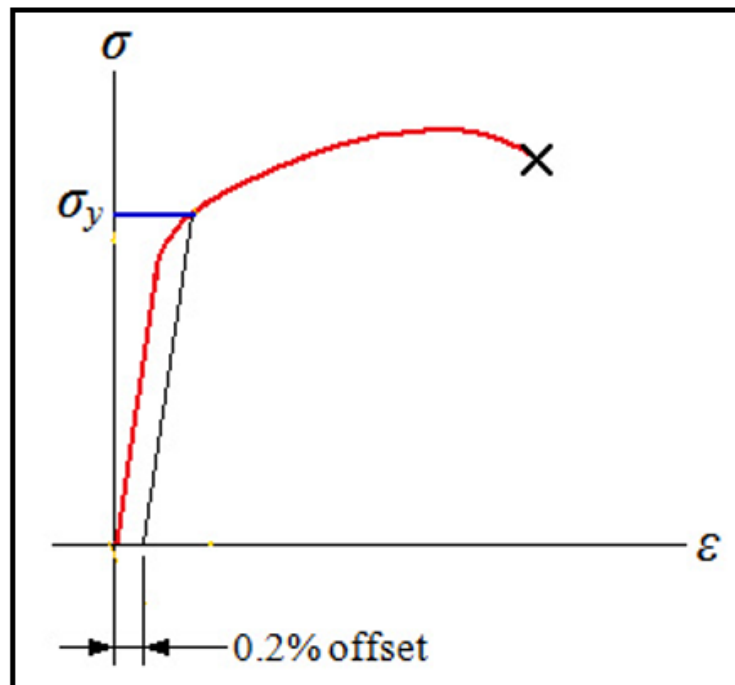


Figura 19. Determinación del esfuerzo de cedencia mediante el método "offset"

- a) Esfuerzo máximo ($\sigma_{m\acute{a}x}$): Es la resistencia máxima a la carga aplicada que el material puede soportar. A partir de aquí el material ya empieza a sufrir de grietas.
- b) Módulo de Young (E): Este parámetro proporciona información sobre la rigidez del material, lo cual habla de la capacidad de un material a ser deformado elásticamente. En la gráfica anterior (ver **Figura 18**) está representado por la pendiente de la zona elástica y se determina por la siguiente ecuación:

$$E = \frac{\Delta \text{Esfuerzo}}{\Delta \text{Deformación}} [\text{Pa}] \quad . \quad (11)$$

La gráfica de la **Figura 19** muestra dos zonas. Por un lado está la zona elástica la cual va desde el origen hasta el límite de proporcionalidad. En esta zona cuando al material se le aplica esfuerzos no mayores a los que se encuentran en el límite elástico, éste es capaz de regresar a su longitud original.

Por el otro lado está la zona plástica, la cual se considera desde el punto de cedencia hasta el punto de esfuerzo máximo. En este caso, cuando el esfuerzo es mayor al esfuerzo de cedencia, el material sufre una deformación permanente.

De estas zonas también se puede determinar dos importantes características del material:

- a) Resiliencia (E_R): Es la magnitud que cuantifica la cantidad de energía que un material puede recuperar después de haber sido sometido a cargas elásticas. Por lo que es igual al trabajo externo realizado para deformar un material hasta su límite elástico. Mediante la gráfica de la **Figura 18** se obtiene este valor de resiliencia al calcular el área bajo la curva lineal (zona elástica) y sus unidades están dadas en J/m^2 .

b) Tenacidad (E_T): Es la energía que absorbe un material con las consecuentes deformaciones que el mismo adquiere antes de que ocurra fractura. En la **Figura 18** está representada por la suma del área de la zona elástica y la zona plástica, al igual que la resiliencia, sus unidades están definidas en J/m^2 .

Estas pruebas de compresión se realizaron en el Centro de Investigación de Materiales Avanzados (CIMAV) y mediante la máquina de prueba universal AG-X de SHIMADZU. Esta máquina cuenta con una cabina principal en donde se le instala un plato cilíndrico superior y uno inferior, representado en la **Figura 20**. Ya con ambos platos, en el inferior se coloca la probeta a analizar. El descenso de la carga se programó a una velocidad de $1\text{mm}/\text{min}$. Así la carga irá aumentando desde 0 hasta que la probeta fracture.

Estos ensayos se realizaron con las probetas cúbicas de hueso trabecular, que son muestras representativas de corte de cuello femoral.

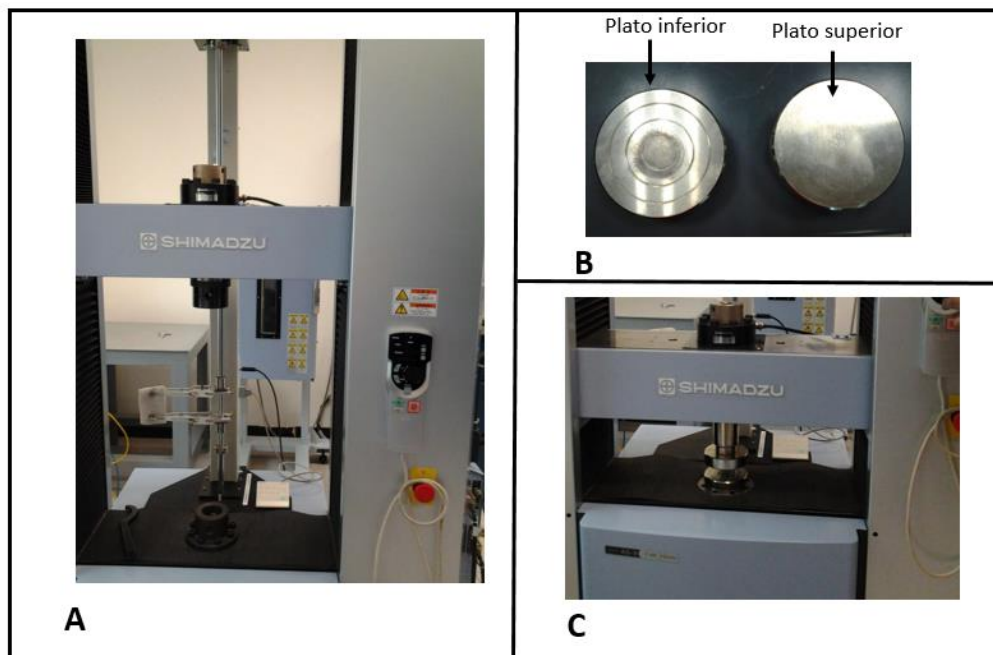


Figura 20. A) Máquina para ensayos mecánicos. B) Herramental utilizado en las pruebas de compresión. C) Platos instalados en el pistón de la máquina.

5.RESULTADOS

En esta sección se presentarán los resultados obtenidos de las probetas sometidas a la prueba de densitometría ósea utilizando DXA. Además se mostrará el beneficio obtenido mediante la comparación de imágenes y el método de calibración para la aproximación a micro-CT de los datos de la variable de porosidad. Así como también se expondrán valores de porcentaje de porosidad, grosor y espacio trabecular, y la correspondiente respuesta de las propiedades mecánicas adquiridas mediante las pruebas de compresión.

5.1 DENSITOMETRÍA ÓSEA

Los exámenes de densitometría ósea llevados a cabo mediante equipo DXA permitieron obtener los valores de DMO para cada probeta y además clasificarlas dentro de un rango de diagnóstico de acuerdo al valor de T-score.

El resumen de todos estos resultados se muestra en la **Figura 21**, en donde podemos observar que el DMO (g/cm^2) de la probeta correspondiente al control (masculino, 25 años) tiene los valores más altos respecto al resto de las probetas, y los valores mínimos de DMO se encuentran en las probetas del donador 6 (femenino, 68 años). Los valores de DMO de los donadores del 1 al 5 se encuentran dentro del rango de 0.13 a 0.29 g/cm^2 en donde además se observaron variaciones para las probetas de los mismos donadores y del mismo corte de cuello femoral.

Por un lado, al obtener el T-score, se observa que los donadores del 1 al 6 presentan valores por debajo de -6.9 lo cual, de acuerdo a la clasificación para el diagnóstico, demuestra que están dentro del rango de osteoporosis y que además son números muy bajos respecto a los que se obtienen en clínica.

Por el otro lado, el T-score que se obtuvo para la muestra control se encuentra en el rango de osteopenia importante, sin embargo no está dentro de valores tan bajos como los demás donadores, lo cual era lo que se esperaba.

Se debe tener en cuenta que en clínica no solamente se evalúa al hueso trabecular, sino que también se examina a una zona del esqueleto que además de hueso trabecular, también contiene hueso cortical. El tejido cortical es más denso, por lo que la suma de mineralización del hueso cortical más la del tejido trabecular aumenta los valores de T-score hasta los obtenidos normalmente en clínica.

De esto último surge un problema: debido a que DXA no hace diferencias entre el tejido compacto (cortical) y el esponjoso (trabecular), los valores de DMO y por lo tanto del T-score pueden resultar sobreestimados, dando lugar a diagnósticos de tipo falsos negativos. Además es importante observar el DMO real de tejido trabecular, ya que éste resulta mayormente afectado durante la osteoporosis.

Con estos valores se determinó que los donadores del 1 al 6 presentan osteoporosis.

5.2 COMPARACIÓN Y CALIBRACIÓN

Con el método del cálculo de porosidad en 2D se obtuvieron los porcentajes de porosidad de cada cara de todas las probetas y a continuación se hizo un promedio para obtener un solo valor de porosidad por probeta.

Debido a lo problemático de acceder al uso del equipo, de nueve probetas que se pretendían analizar con el sistema de micro-CT, solamente se obtuvieron dos resultados que corresponden a las probetas H3.1 y H4. A estos se les determinó el porcentaje de porosidad mediante el método de análisis en 3D y se tomaron estos dos valores como de referencia.

En la **Figura 22** se observa la reconstrucción en 3D para ambas probetas, obteniendo una porosidad de 65.5% para la probeta H3.1 y de 60.95% para la probeta H4, tomando estos valores como reales.

A continuación se tomaron los valores de porosidad determinados en 2D para las probetas H3.1 y H4 para compararlos con los resultados de porosidad de referencia. Al calcular el porcentaje de error para los dos valores se encontró que eran muy altos: de 32.98% para H3.1 y de 29.33% para H4.

Teniendo esto en cuenta, se decidió hacer una calibración aplicando el método de erosión de imágenes, como se explica en la Sección 4.4.3, usando distintas formas de elemento estructural y número de erosiones hasta minimizar los porcentajes de error.

La **Figura 23** muestra la disminución del error con la aplicación tanto de los distintos elementos estructurales como del número de erosiones. Adicional a esto, si se lograba minimizar significativamente el error se aplicaba el método de comparación de imágenes obteniendo un porcentaje de semejanza (detallado en la sección 4.3.3).

Así se observa en la gráfica de la **Figura 23** que se minimizó el error hasta un 4.17% para H3.1 y 2.91% para H4, pero al determinar el porcentaje de semejanza, éste era bajo (53.8%) a comparación de la penúltima técnica usada (procesada). Mediante ésta se logró minimizar ambos porcentajes de error obteniendo 0.25% para H3.1 y 1.35% para H4, además de que se aseguró que el porcentaje de semejanza fuera el más alto (mayor a 90%).

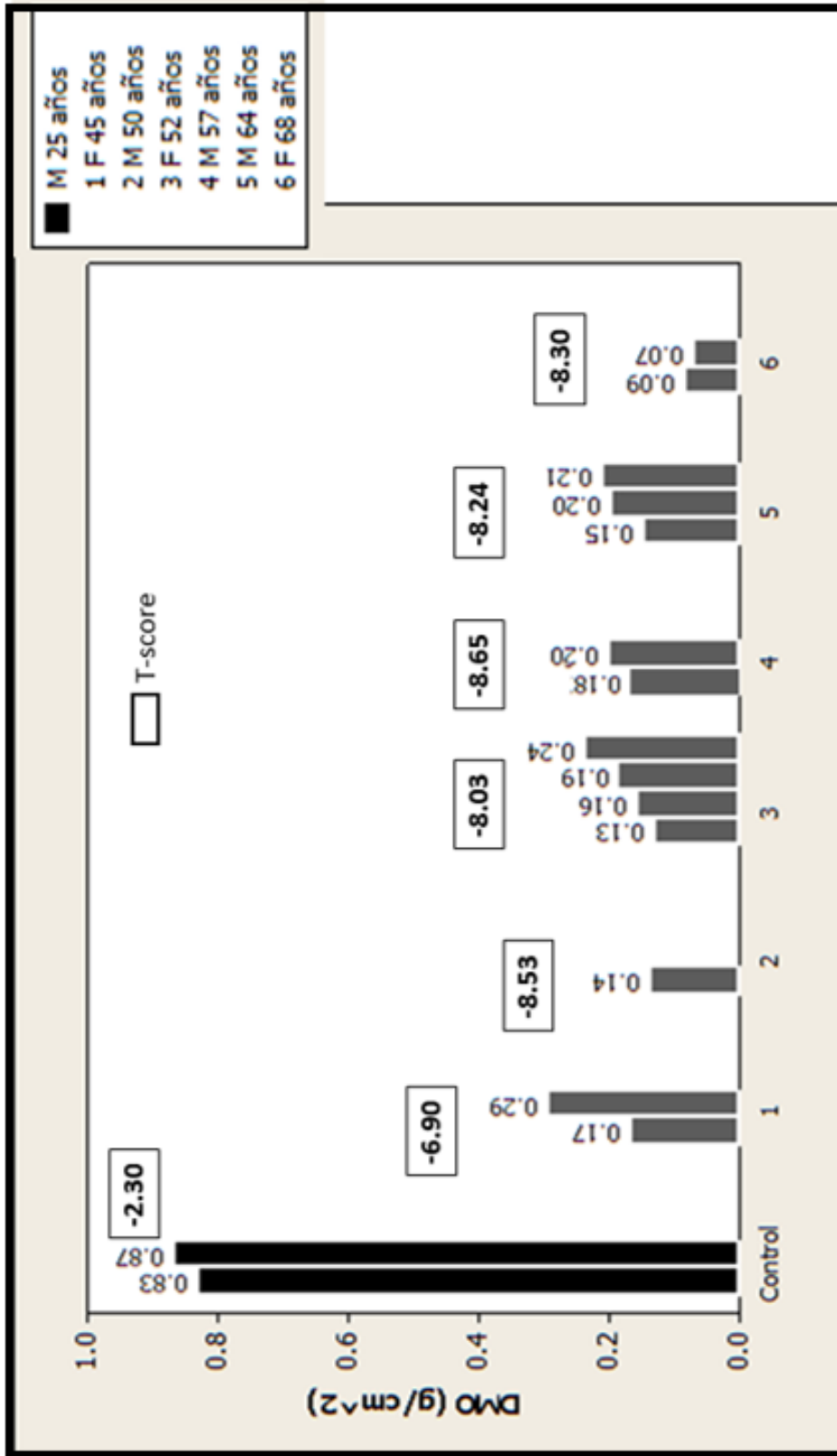


Figura 21. Resultados de densidad mineral ósea y T-score

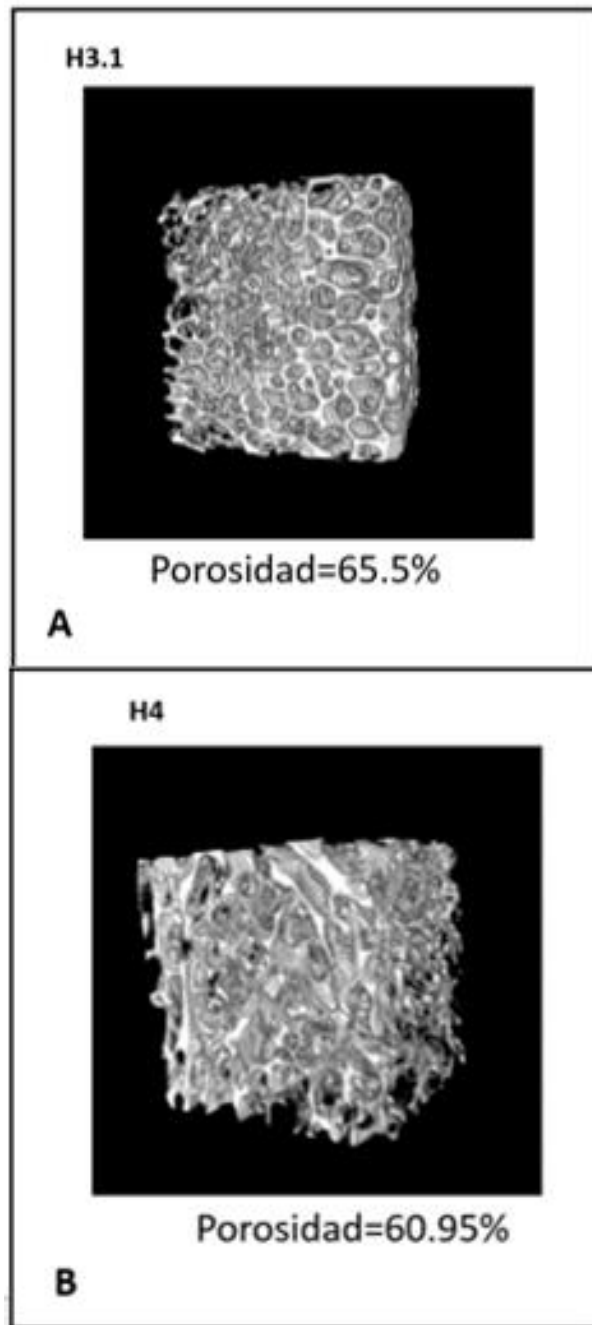


Figura 22. RECONSTRUCCIÓN TRIDIMENSIONAL. A) Probeta H3.1 del donador masculino de 64 años. B) Probeta H4 del donador masculino de 57 años.

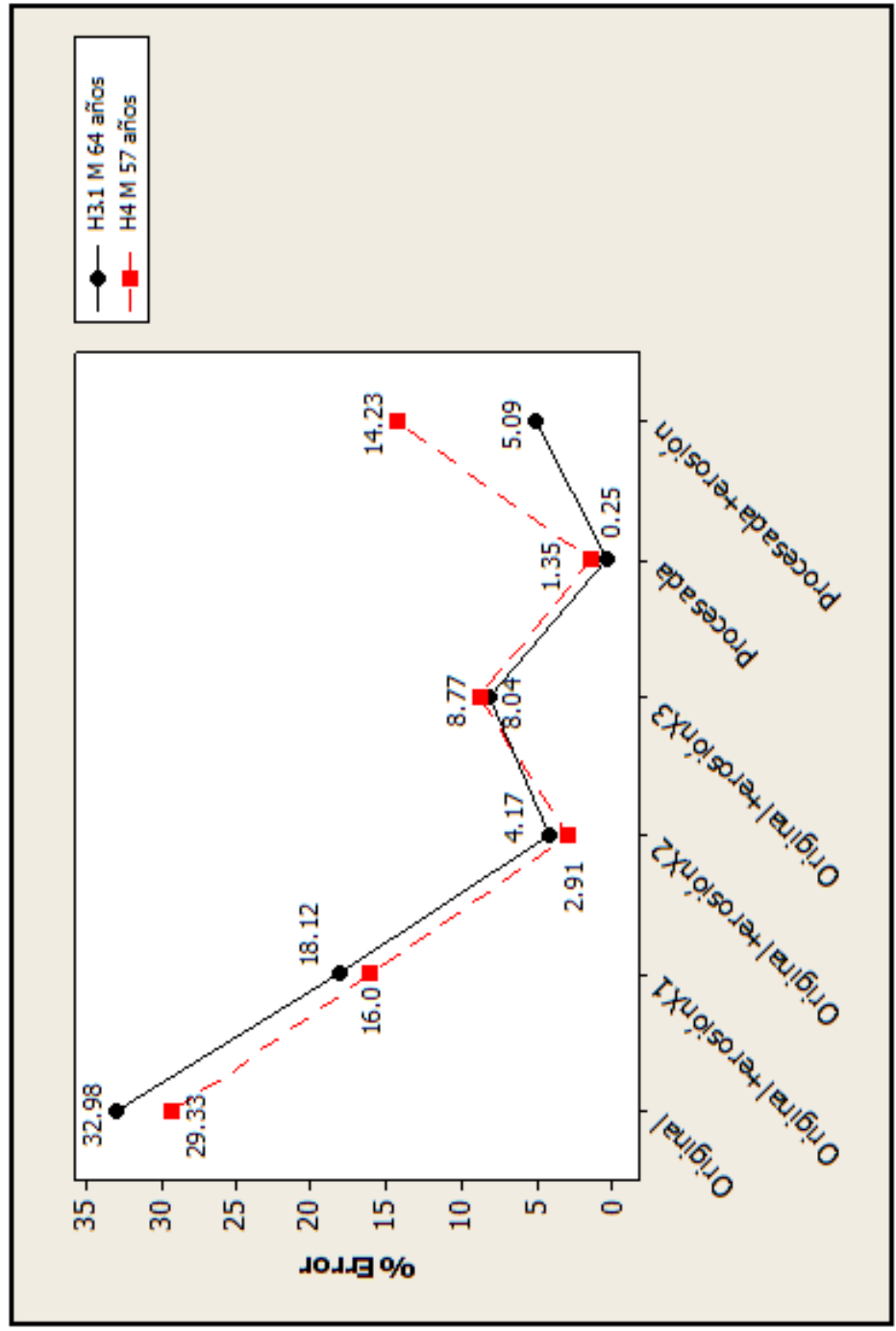


Figura 23. Porcentaje de error para la comparación de porosidad 2D con 3D, dado para diferentes técnicas de erosión aplicadas a las imágenes

5.3 PORCENTAJE DE POROSIDAD

Una vez que se conoce el número de erosiones y el elemento estructural a usar, se prosiguió a calcular el porcentaje de porosidad para todas las probetas utilizando esta técnica. La **Figura 24** muestra los valores de porcentaje de porosidad para los siete donadores ordenados por edad de menor a mayor y agrupados con sus respectivas probetas, en donde “I” significa cuello femoral izquierdo y “D” derecho. A continuación se listan nuestras principales observaciones:

1. Se observa que las respectivas probetas de los donadores 1 a 6 presentan un porcentaje de porosidad muy alto respecto al control de 25 años, lo cual era esperado.
2. Para la probeta 2 su porcentaje de porosidad aumenta solo 2 unidades, a pesar de que hay una diferencia de 5 años respecto al donador 1, sin embargo esto es atribuible a la diferencia de género.
3. El donador 3 es una mujer de 52 años y su porosidad está en rango desde un 61% hasta un 68%, habiendo 2 años de diferencia respecto al donador 2.
4. El donador 4 es un hombre de 57 años y al parecer el porcentaje de porosidad se encuentra dentro de los mismos rangos que el donador anterior, a pesar de que haya una diferencia de 5 años.
5. El donador 5 presenta un porcentaje de porosidad menor en el cuello femoral derecho a comparación con el izquierdo. Sin embargo, el promedio de porosidad se sigue manteniendo dentro del rango de los donadores anteriores con una diferencia de 7 años respecto a donador anterior.
6. El valor de porcentaje de porosidad para el donador de 68 años y de sexo femenino, aumenta de manera importante.

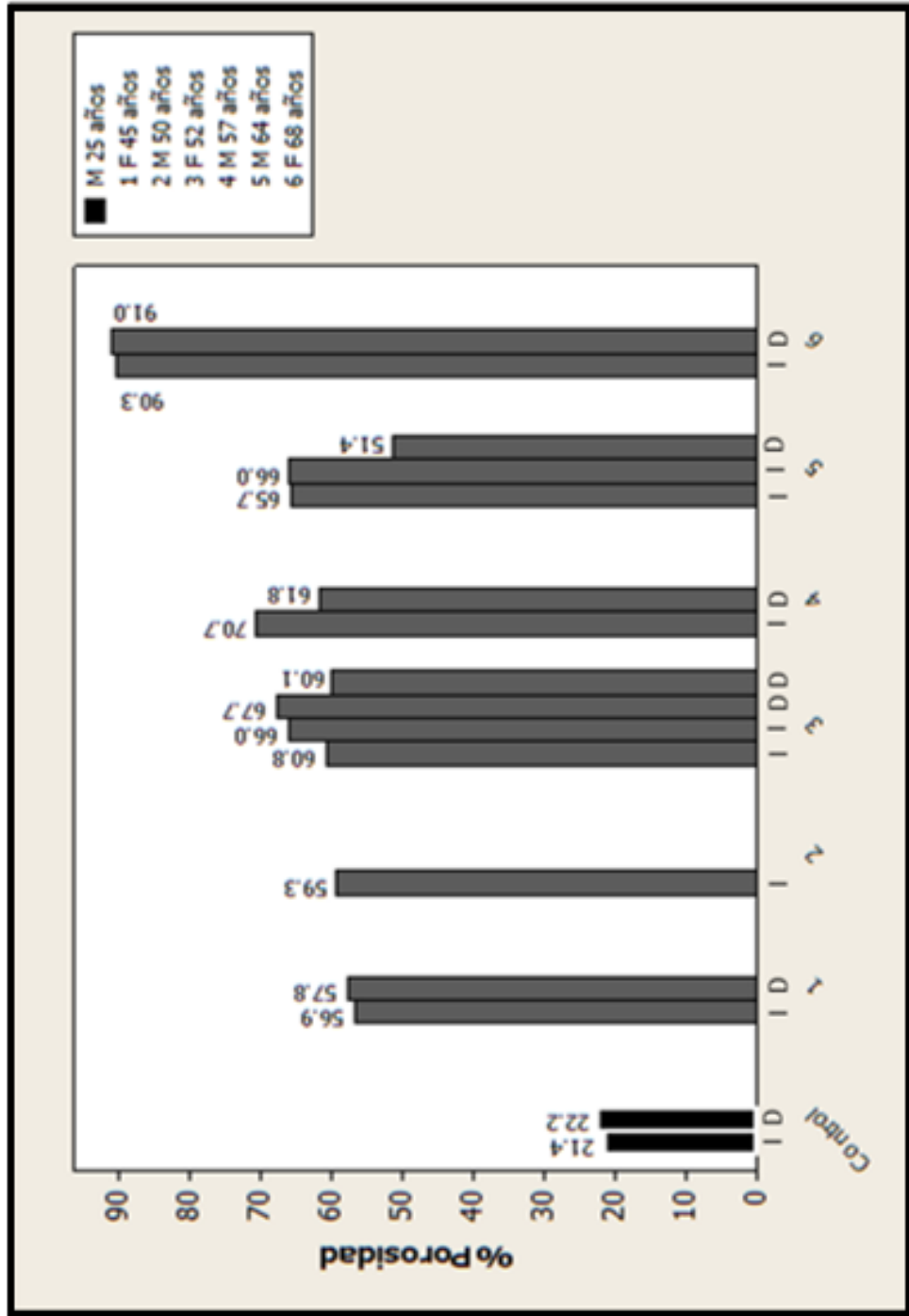


Figura 24. Porcentaje de porosidad para las diferentes muestras

En cuanto al tamaño de poros determinado por la detección de objetos se observa en la **Figura 25**. Ésta representa un histograma de la distribución de tamaño de poros en las seis caras de una de las probetas control, con una porosidad de 21.4%. Los resultados muestran que la mayoría de los poros tienen un tamaño que va de 0.1 a 0.2 mm². Además para este caso, no hay poros mayores a 4mm².

Sin embargo, la **Figura 26**, que corresponde a una de las probetas del donador femenino de 68 años, muestra un panorama completamente diferente. Esta probeta tiene una porosidad de 90.3% y, a comparación con el número de poros encontrados en la probeta control, es menor. La mayoría de los poros tienen un área que está dentro del rango de 0 a 6 mm². Pero también se observan poros con área significativamente mayores que van desde 90 hasta 138mm².

Los resultados comprueban que a mayor porosidad disminuye el número de poros pero aumenta el tamaño de estos, lo cual es indicativo del deterioro de las trabéculas hasta desaparecer de la estructura.

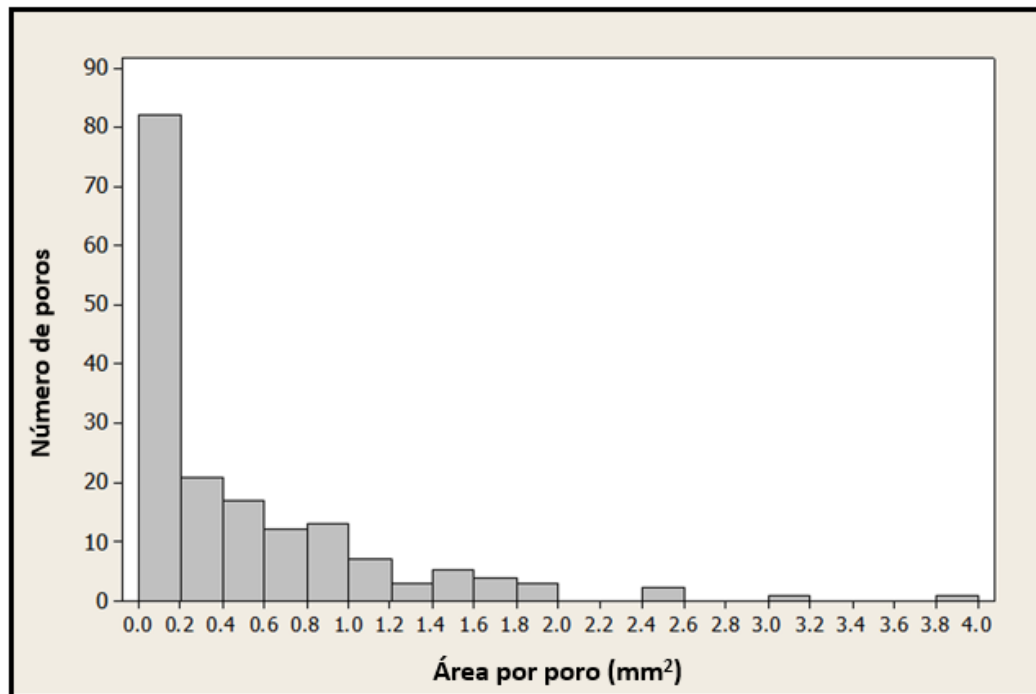


Figura 25. Histograma del número de poros clasificados por su área. Corresponde al control M 25 años

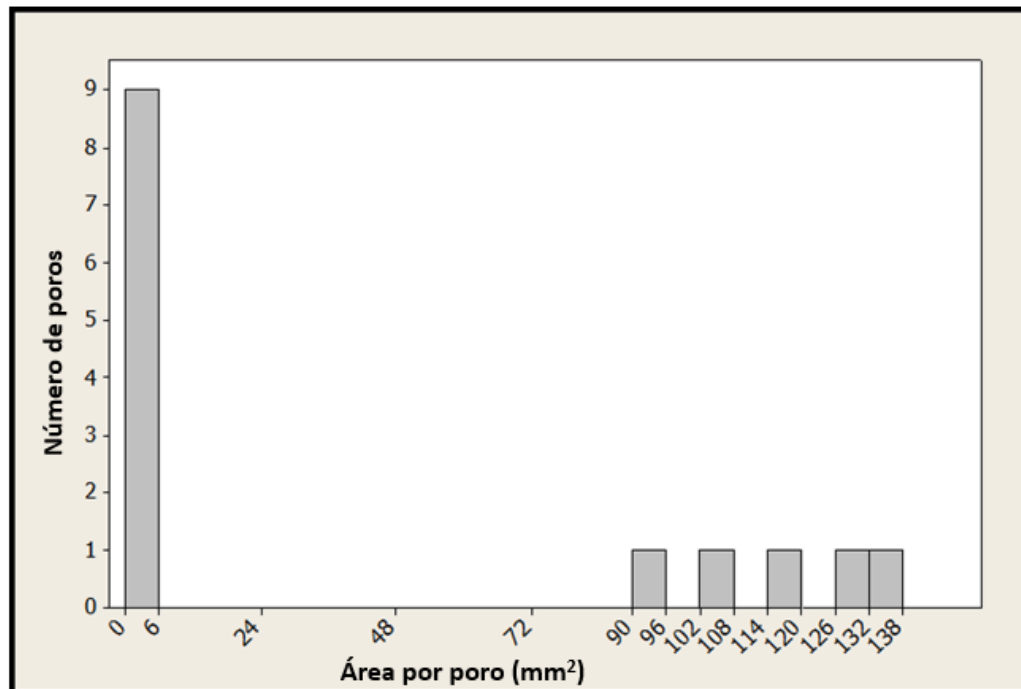


Figura 26. Histograma del número de poros clasificados por su área. Corresponde al donador F de 68 años

5.4 GROSOR Y ESPACIO TRABECULAR

Una vez que las imágenes ya fueron calibradas se les sometió al método de Hildebrand y Rüegsegger, mediante el cual se determinó el grosor y el espacio trabecular promedio de cada probeta (Sección 4.4.4). La **Figura 27A** muestra un ejemplo representativo de la imagen binarizada en la cual nuevamente los pixeles negros representan hueso y los blancos son poros. La **Figura 27B** es el mapeo de todos los círculos encontrados dentro de la estructura del área negra y la **Figura 27C** muestra a los círculos encontrados en el área blanca.

Dicho análisis se realizó para todas las probetas y los resultados correspondientes al grosor trabecular se resumen en la **Figura 28** para los distintos donadores ordenados por edad de menor a mayor.

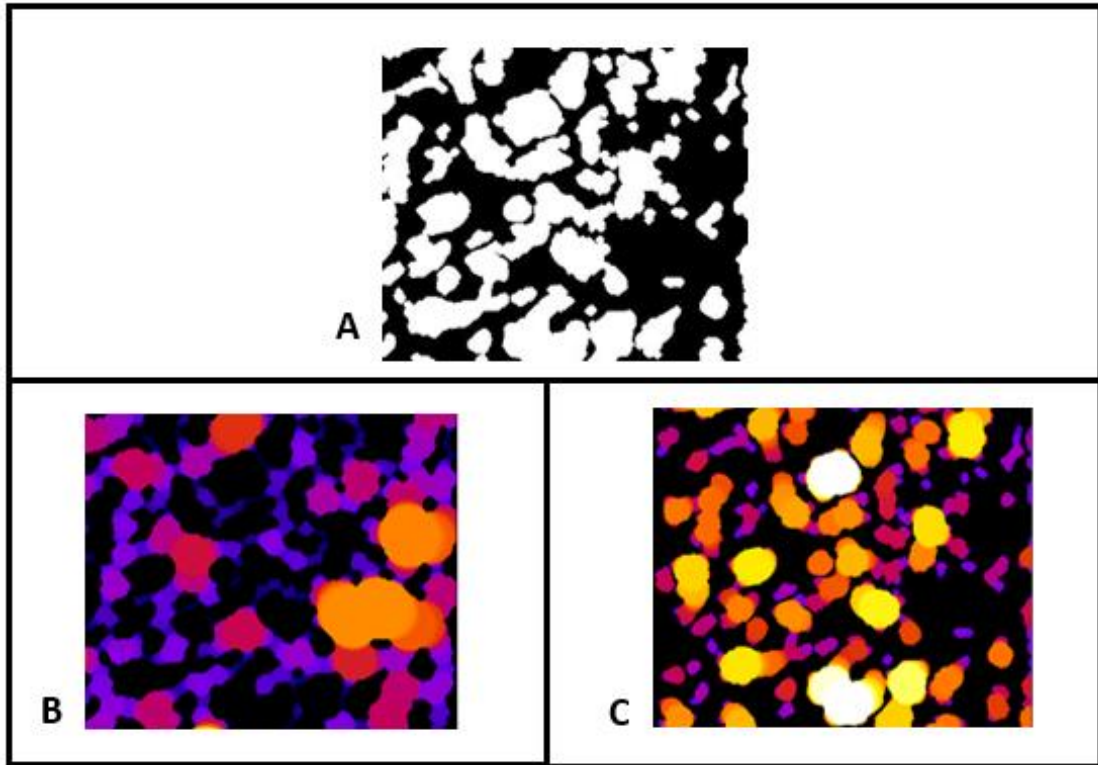


Figura 27. MÉTODO DE GROSOR LOCAL. A) Imagen binarizada. B) Mapa para grosor trabecular en el cual se dibujan los círculos encontrados en distintos colores, sólo para las zonas que corresponden al hueso. C) Mapa de espacio trabecular en el cual se dibujan los círculos representados en distintos colores que se encontraron en el área de poros.

Se observa que el grosor trabecular en las probetas control es mayor en comparación con las demás probetas. Adicionalmente se percibe una tendencia a disminuir conforme avanza la edad. Aparentemente para los donadores 1, 3, 4 y 6 no hay diferencia en el grosor trabecular de las probetas correspondientes al mismo donador. Sin embargo, para el donador 5 las primeras dos barras corresponden a probetas tomadas del corte de cuello femoral izquierdo y, comparando éstas con la tercer probeta, que se obtuvo del cuello femoral derecho, al parecer sí son diferentes.

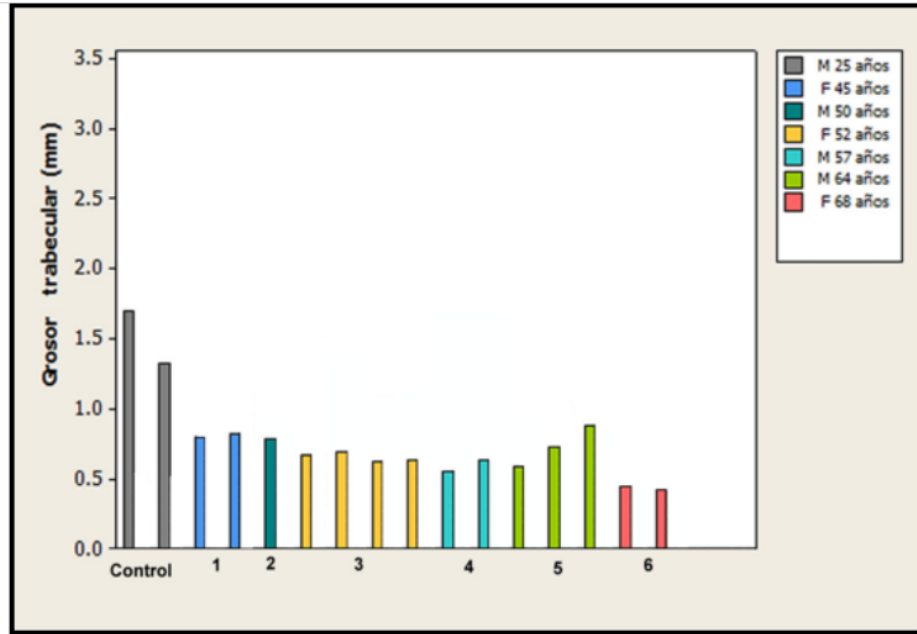


Figura 28. Resultados de grosor trabecular

La **Figura 29** muestra el caso del espacio trabecular en el cual los valores que pertenecen al control son menores en comparación con los del resto de las probetas. Para los donadores del 1 al 5 con edades que van desde 45 hasta 64 años, al parecer tienden a estar entre el rango de 0.8 a 1.7 mm. Para estos mismos donadores se logra observar que existe más variación entre las probetas del mismo donador, como es el caso de los donadores 3 y 4, a comparación de los valores obtenidos para el grosor trabecular. Esta tendencia de mantenerse en el rango ya no aplica para el donador 6, quien tiene los valores más altos en espacio trabecular, llegando hasta los 3 mm.

Al observar ambas barras (grosor y espacio trabecular), comparadas en la gráfica de la **Figura 30**, se puede comprobar que a edades jóvenes el grosor trabecular es mayor que el espacio trabecular y una vez pasando esta etapa, ocurre lo contrario, el grosor trabecular es menor que el espacio trabecular.

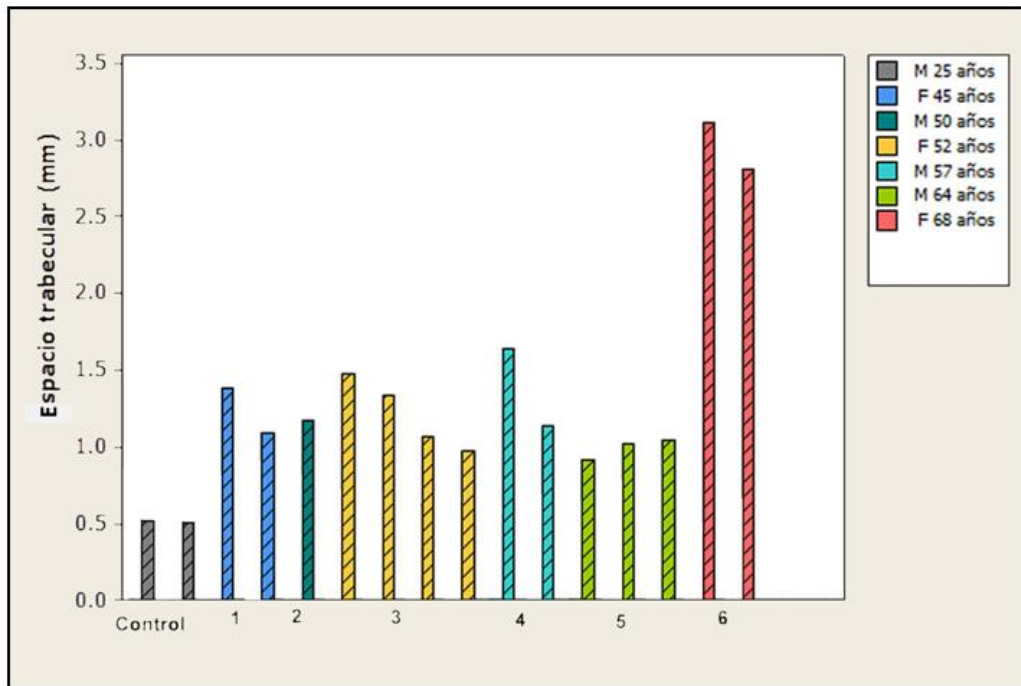


Figura 29. Resultados de espacio trabecular

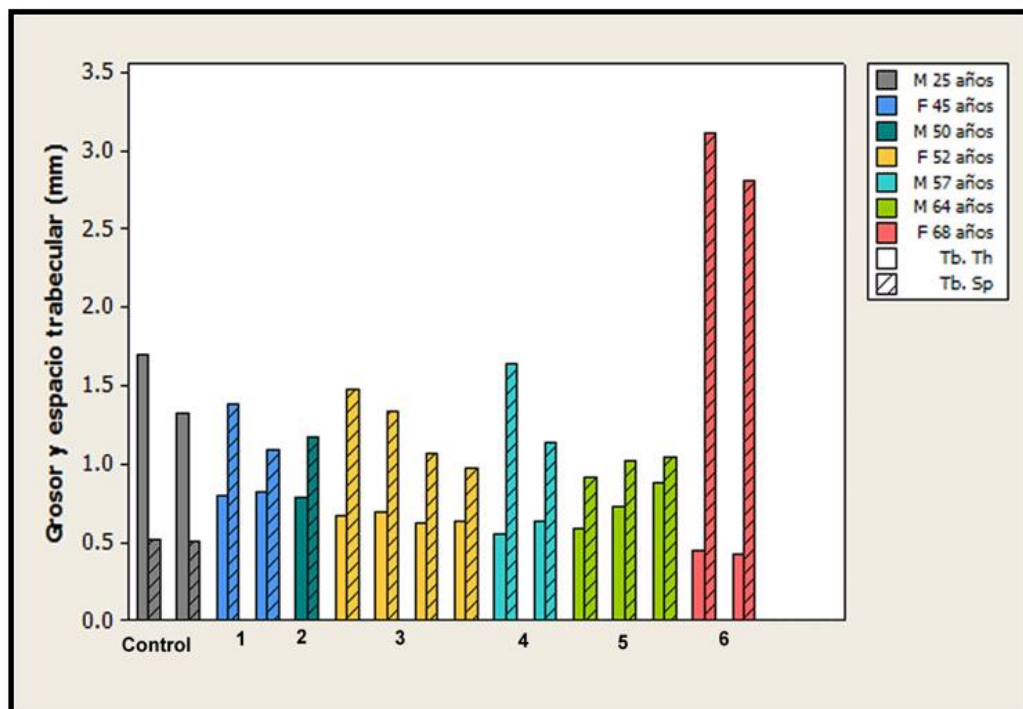


Figura 30. Comparación de dimensiones para grosor trabecular y espacio trabecular.

5.5 PRUEBAS DE COMPRESIÓN

Las 16 probetas fueron sometidas a las pruebas de compresión y mediante éstas se obtuvieron cada uno de los diagramas esfuerzo-deformación. Esto se demuestra en la **Figura 31**, donde en el eje horizontal presenta el porcentaje de deformación y el eje vertical el esfuerzo dado en MPa. Allí observamos que las curvas correspondientes a los controles son muy similares y su punto máximo (esfuerzo máximo) es mayor a las demás probetas, al igual que el módulo de Young. Para las probetas que corresponden al donador femenino de 45 años, tienen aproximadamente el mismo esfuerzo máximo pero con pendientes (módulo de Young) diferentes y por lo tanto un porcentaje de deformación última distinto.

En el caso del donador masculino de 50 años, su esfuerzo máximo disminuye en comparación con el donador anterior, lo cual es lógico de acuerdo a su edad.

Por otro lado, las cuatro probetas que corresponden al donador femenino de 52 años presentaron esfuerzos máximos distintos al igual que el módulo de Young, pero menores a comparación del donador anterior.

Para el donador de 57 años masculino, se observa que el esfuerzo máximo está muy abajo, al igual que el módulo de Young. Esto no se esperaba, ya que incluso estos valores son menores que los obtenidos del donador masculino de 64.

Se esperaría que para el donador masculino de 64 años, su esfuerzo máximo fuera menor de acuerdo a su edad. Sin embargo, las tres curvas están por arriba del donador de 57 años. Además, cada una de las curvas para las probetas pertenecientes a este donador es diferente tanto en esfuerzo máximo, módulo de Young y deformación última.

Finalmente, el donador femenino de 68 años presenta curvas con esfuerzos máximos muy disminuidos. Tanto el módulo de Young como la deformación última tienen valores extremadamente bajos.

En la **Tabla 3** se muestran todos los valores obtenidos de esfuerzo máximo ($\sigma_{\text{máx.}}$), módulo de Young (E), esfuerzo de cedencia (σ_y) y deformación última (ϵ_u).

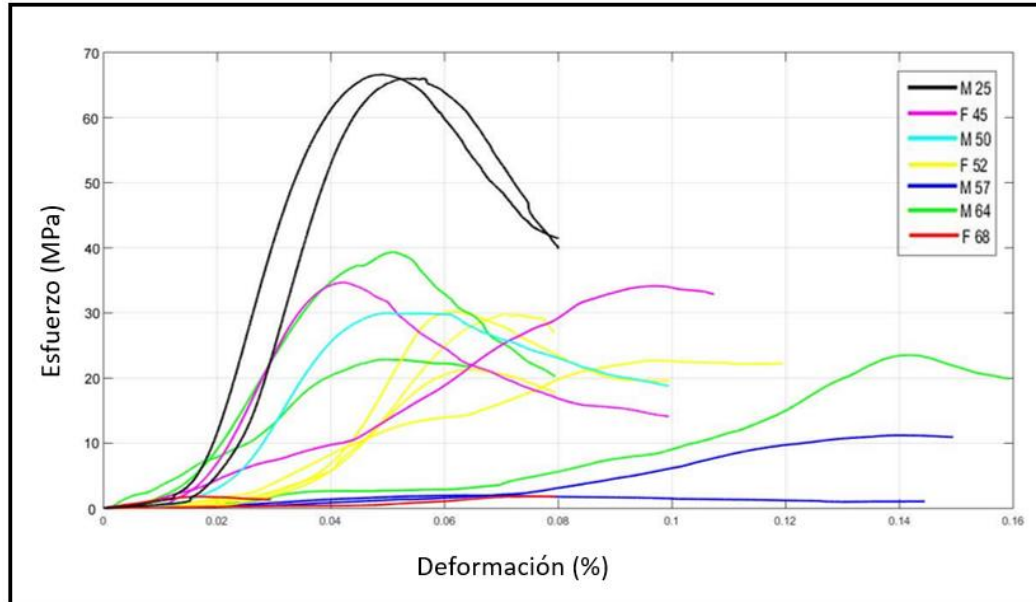


Figura 31. Diagramas esfuerzo-deformación obtenidos para cada una de las probetas.

Donador	Edad	Sexo	$\sigma_{\text{máx}}$ [MPa]	E [MPa]	σ_y [MPa]	ϵ_u (%)
Control	25	M	66.6	2994.9	57.9	0.049
			66.0	2918.5	48.1	0.054
1	45	F	34.7	1764.3	24.2	0.042
			34.1	557.1	26.5	0.097
2	50	M	30.0	1391.4	21.6	0.050
3	52	F	29.8	1052.2	23.3	0.071
			22.7	282.7	21.4	0.097
			21.3	865.1	16.5	0.065
			30.2	1444.0	27.1	0.061
4	57	M	11.2	174.4	9.6	0.140
			20.1	541.0	15.6	0.064
5	64	M	23.5	460.7	20.1	0.142
			22.9	762.7	19.5	0.050
			39.3	1429.6	27.4	0.051
6	68	F	1.8	127.6	1.4	0.017
			1.8	56.0	1.4	0.077

Tabla 3. Resultados para el esfuerzo máximo, módulo de Young, esfuerzo de cedencia y deformación última

A estos análisis se le suman dos propiedades más, la resiliencia y tenacidad:

Por un lado, la resiliencia es la cantidad de energía que un material es capaz de recuperar después de haber sido sometido a cargas elásticas. La siguiente gráfica de barras (ver **Figura 32**) muestra la resiliencia obtenida para las probetas correspondientes a cada donador. Se esperaba que la resiliencia de las muestras para el control obtuviera valores más altos en comparación con el resto de las probetas, sin embargo no fue así. Como se observa en esta gráfica, existen probetas como las de los donadores 1,3 y 5 en las cuales la resiliencia es incluso mayor a la del control.

Al analizar esta situación se encontró que esto sucedía debido al amplio rango respecto a la deformación última que sufren las probetas que corresponden a los donadores 1,3 y 5, ya que estos valores son mayores en comparación con las probetas del control. Así es que, estas muestras pueden llegar a recuperar mayor cantidad de energía después de haber sido sometidas a cargas elásticas, incluso mayor que el control, pero las cargas a las que éstas son sometidas son menores que las probetas del control.

Por otro lado, la tenacidad es la energía que llega a absorber un material al ser sometido a cargas que lo lleven hasta el punto de fractura. Dicho de otra manera, la tenacidad define cuánta deformación admite un material antes de romperse. Para este análisis se muestra el gráfico de barras de la **Figura 33**. Se observa cómo en este caso las probetas pertenecientes al control sí tienen los valores más altos en tenacidad, lo que dice que la probeta del donador masculino de 25 años permite una mayor deformación antes de fracturarse completamente en comparación con las probetas del resto de los donadores, siendo el donador 6 quien soporta menos carga y su porcentaje de deformación es mucho menor.

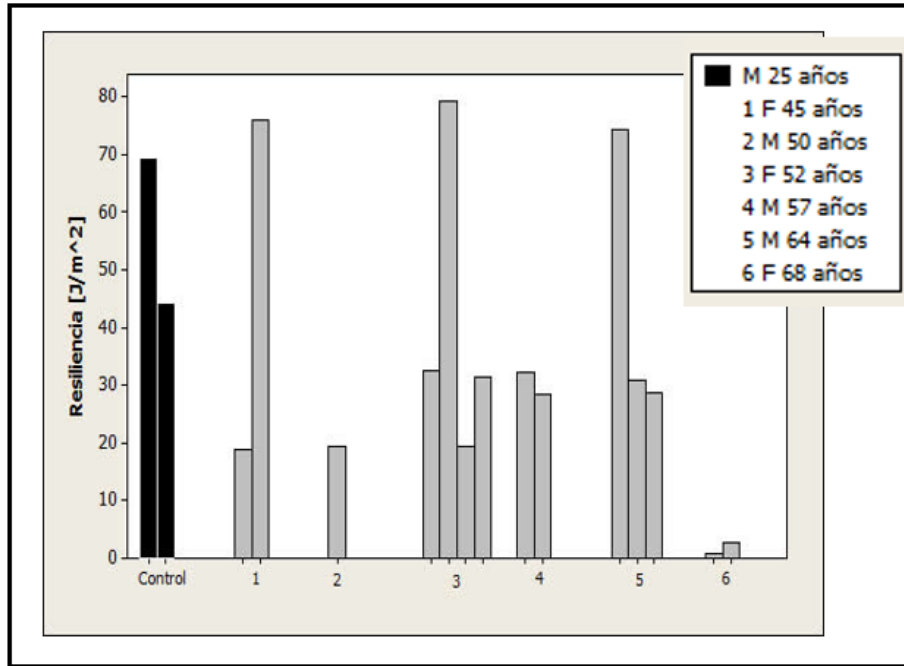


Figura 32. Resultados de ensayos mecánicos en relación a la resiliencia. Las probetas aparecen agrupadas respecto a los donadores: control, 1, 2, 3, 4, 5 y 6.

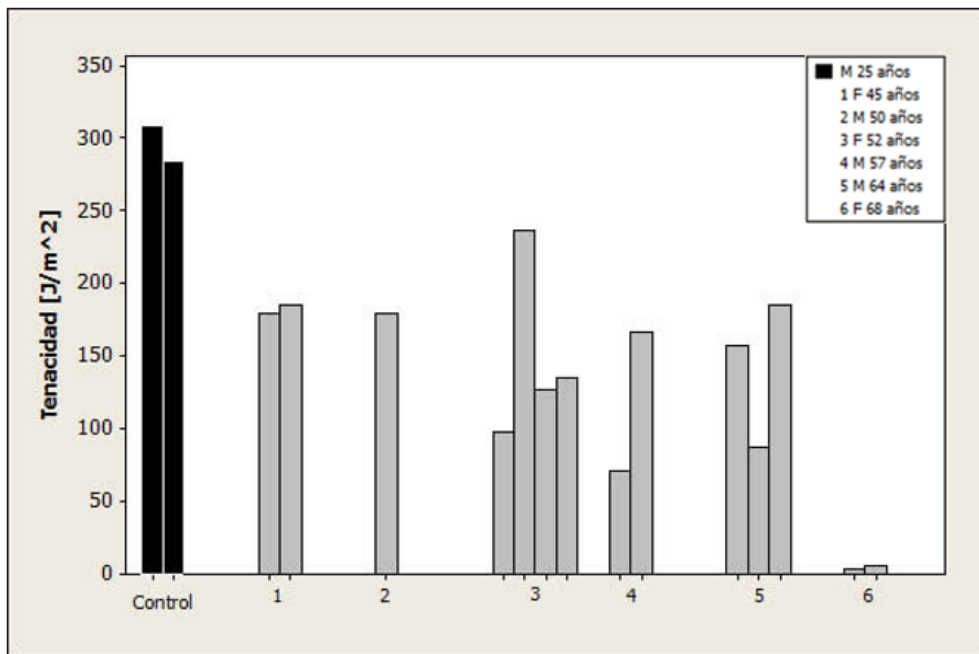


Figura 33. Resultados de ensayos mecánicos en relación a la tenacidad

La **Tabla 4** muestra los valores obtenidos tanto para resiliencia (E_R) como para tenacidad (E_T) :

Donador	Edad	Sexo	E_R [J/m ²]	E_T [J/m ²]
Control	25	M	69.5	308.4
			44.3	283.4
1	45	F	18.7	179.8
			75.9	185.2
2	50	M	19.5	179.1
3	52	F	32.6	97.6
			79.2	236.5
			19.3	127.2
			31.5	135.0
4	57	M	32.3	71.1
			28.5	166.1
5	64	M	74.4	156.6
			31.0	87.5
			28.8	185.6
6	68	F	0.8	3.7
			2.7	5.5

Tabla 4. Valores obtenidos de resiliencia y tenacidad para cada uno de los donadores

6.DISCUSIÓN

Mediante este capítulo se discutirán algunas desventajas de la densitometría ósea, seguido de una comparación del DMO clínico con el DMO de hueso trabecular obtenido en este proyecto. Posteriormente se expondrá la relación que existe entre el DMO y la porosidad, en base a los valores aquí determinados. Y además se comentará la relación de las variables de microarquitectura (porosidad, grosor y espacio trabecular) y la respuesta mecánica respecto al módulo de Young y al esfuerzo último.

6.1 DESVENTAJA DE LA DENSITOMETRÍA ÓSEA

La densitometría ósea es una herramienta que permite cuantificar la cantidad de mineralización del hueso. Sin embargo los resultados de estos exámenes dependerán en gran medida de factores como la experiencia del técnico quien los realiza, la orientación de la posición del paciente respecto a la fuente de rayos X, y la complexión del mismo, ya que en pacientes obesos se llegan a obtener resultados sobreestimados. Además, la cuestión importante aquí es que a medida de que se avanza en la edad, el esqueleto empieza a perder tanto mineralización como la microestructura que le proveía de alta resistencia, con lo cual llega la osteoporosis. Durante estas etapas adultas es importante que el paciente se examine constantemente para prevenir de fracturas. Sin embargo, aún después de haberse realizado una densitometría ósea y de haber sido diagnosticado como normal, puede que en el transcurso del tiempo sufra de fractura. Y eso es debido a que el porcentaje de confiabilidad de una densitometría ósea es solo del 60%. [31]

Otra cuestión que es importante resaltar, es que la mayoría de las fracturas por osteoporosis ocurren en aquellas zonas del esqueleto en donde existe mayor cantidad de hueso trabecular, como en epífisis de fémur, húmero y vértebras. Mecánicamente hablando, en estas zonas se aplican directamente las cargas y estos eslabones del

esqueleto funcionan como reacción a estas fuerzas. De tal forma que el tejido trabecular es el que se ve más desgastado a lo largo del tiempo, además de que es más sensible a cambios bioquímicos, hormonales y mecánicos. Por esta razón es de vital importancia estudiar no solamente al hueso completo, sino también a ambos tejidos por separado, cortical y sobre todo trabecular.

6.2 DMO CLÍNICO VS DMO TRABECULAR

En las pruebas de densitometría ósea que se llevaron a cabo se observó que ciertamente los valores para DMO de solo hueso trabecular son menores a los que se obtienen en clínica, ya que en estos exámenes se analiza una zona de hueso completo. Con el motivo de hacer una comparación del DMO obtenido de hueso trabecular y el obtenido en clínica, se tomaron los rangos aproximados de DMO y de acuerdo a éste se clasifica en la **Tabla 5**. Este efecto se puede observar en la **Figura 34** en donde se muestra en la escala superior algunos valores de DMO de pacientes en clínica y en la escala inferior se encuentra cada uno de los promedios del DMO de las probetas de sus respectivos donadores. Nótese que ambas escalas han sido ajustadas en función del menor y mayor de los valores disponibles en los especímenes al considerarlos como puntos de referencia para propósitos de comparación. Allí es posible observar que los valores del rango para DMO clínico van de 0.52 a 0.73 g/cm² y por lo tanto éstos son mayores a los valores del rango encontrado para el DMO de hueso trabecular, que va de 0.08 a 0.23 g/cm² sin incluir al control.

Mediante el gráfico también se observa que el DMO clínico de una mujer de 53 años (hueso completo) y el DMO de una mujer de 52 años (hueso trabecular), siendo edades aproximadamente iguales, difieren notablemente pues el DMO clínico para este paciente es de 0.73 g/cm² y el DMO del donador es de 0.18 g/cm². Estos valores están muy alejados, siendo diagnosticado al primer sujeto, según la **Tabla 5**, con

osteopenia, mientras que el segundo está clasificado muy por debajo del rango de osteoporosis.

DMO (g/cm^2)	Diagnóstico
0.97-1.28	Normal
0.70-0.85	Osteopenia
<0.65	Osteoporosis

Tabla 5. Diagnóstico clínico respecto a los rangos dados por DMO. Tomado de: [31]

Una densitometría ósea no logra distinguir ambos tejidos, cortical y trabecular. Y estos valores obtenidos de DMO son indicios de que existe una gran diferencia entre la cuantificación de DMO para hueso completo y para hueso trabecular. Por lo que una densitometría ósea de hueso completo podría no ser el método adecuado para determinar un diagnóstico de patología ósea en los pacientes.

6.3 DMO VS POROSIDAD

Si la cuantificación del DMO fuera absolutamente confiable, entonces existiría una relación inversamente proporcional con el porcentaje de porosidad: a menor DMO mayor debe ser el porcentaje de porosidad.

En la **Figura 35** se muestra, además del DMO y porcentaje de porosidad, la ubicación en las escalas para los valores promedio de las probetas respectivas a cada donador de acuerdo al grosor y espacio trabecular, además de su respuesta a los ensayos mecánicos: el esfuerzo último y módulo de Young.

Observando solo las escalas que corresponden al DMO y al porcentaje de porosidad, ocurre que, para el caso del donador masculino de 57 años, el valor de DMO se encuentra dentro de los más altos, en segundo lugar sin considerar al control. Esto sugeriría que su porosidad es relativamente baja. Sin embargo, los resultados

demonstraron que su porosidad es una de las más altas, sólo después del donador de 68 años. Lo contrario sucede con el donador masculino de 50 años, quien aparentemente tiene uno de los valores menores de DMO, pero el porcentaje de porosidad es relativamente bajo. Estos resultados ratifican el hecho de que el DMO no se debe considerar como el único responsable de definir la resistencia ósea.

6.4 MÓDULO DE YOUNG

El hueso trabecular, a diferencia del cortical, soporta menos carga por unidad de área, pero tiene un mayor índice de deformación. Esta característica es debido a la organización de sus trabéculas, o sea a la peculiaridad de su microestructura, lo que le da mayor grado de elasticidad.

Esta elasticidad se observa mediante la razón de proporcionalidad entre el esfuerzo (fuerza por unidad de área) y la deformación unitaria (deformación por unidad de longitud), dada por el módulo de Young. Al mismo tiempo, esta constante informa del grado de rigidez, que es una medida cualitativa de la resistencia a las deformaciones elásticas. Es decir, la rigidez contempla la capacidad de un elemento estructural para soportar esfuerzos sin adquirir una deformación plástica.

Se dice que la rigidez está relacionada con la mineralización del hueso, o sea con el DMO. Esta relación se puede examinar mediante la **Figura 35**, tomando en consideración las escalas correspondientes para DMO y módulo de Young:

La escala para DMO presenta la mayoría de sus datos muy agrupados hacia la izquierda, lo cual indica una sensibilidad muy disminuida en relación a su capacidad de reflejar el efecto de la mineralización. En cambio, en la escala correspondiente al módulo de Young los datos presentan una mayor dispersión en todo el rango, lo que permite diferenciar de mejor manera las características de las probetas. No se encontró una relación directa entre el DMO y el módulo de Young para los donadores de 45 a 64 años, a excepción del control y donador de 68 años, quienes tienen los

valores más extremos, lo cual tiene sentido por la diferencia de edades. Por ejemplo, el donador de 45 años presenta el DMO más alto, pero no es así en su módulo de elasticidad. Y uno de los valores menores de DMO corresponde al donador de 50 años, sin embargo, su valor de E es relativamente alto.

Ahora, si solo se consideran las variables que corresponden a la microarquitectura trabecular (porcentaje de porosidad, grosor y espacio trabecular) y se contrastan con el módulo de Young (ver **Figura 35**), se observa mayor relación en su distribución de datos a lo largo de la escala.

Por un lado, las probetas del donador de 45 años tienen aproximadamente el mismo porcentaje de porosidad y del grosor trabecular que las probetas del donador de 50 años. Pero en el espacio trabecular el donador de 45 años tiene un valor ligeramente mayor al donador de 50 años. Se sospecha que esta mínima diferencia de valores en el espacio trabecular se ve reflejada en el módulo de Young, ya que el donador de 50 años por tener un espacio trabecular menor al de 45 años, tiene un valor de E mayor a éste.

Sin embargo, la observación anterior no se cumple en todas las probetas: podemos ver que las probetas del donador de 50 y 64 años tienen valores de porcentaje de porosidad y grosor trabecular muy similares. El espacio trabecular del donador de 64 años es menor al de 50 años, por lo que se esperaría que el valor de E del primero estuviera ubicada delante del segundo, sin embargo, ocurre lo contrario. Estas discrepancias hacen ver la necesidad de realizar un mayor número de experimentos en más donadores con el fin de generar una estadística consistente.

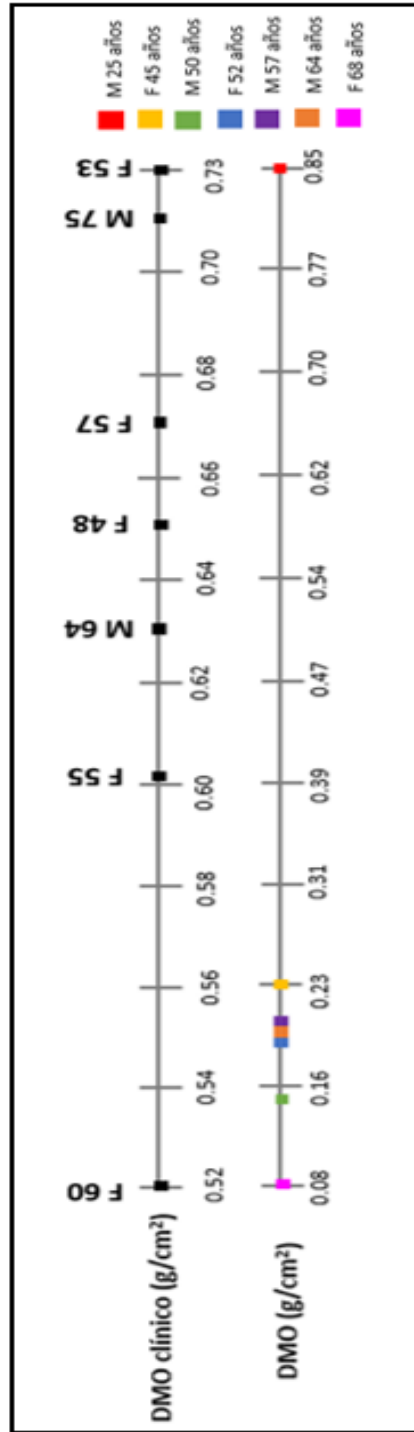


Figura 34. Comparación de las distribución de valores dados para DMO clínico (recta superior) vs DMO trabecular (recta inferior)

6.5 ESFUERZO ÚLTIMO Y ESFUERZO DE CEDENCIA

Tanto el esfuerzo último como el esfuerzo de cedencia reflejan la integridad de la microarquitectura del hueso, por lo que contempla la porosidad, el grosor y el espacio trabecular, por este motivo creemos que se observa una mayor relación de estas variables microestructurales con el esfuerzo último y el esfuerzo de cedencia, o sea que la parte de calidad proporciona información importante respecto a la resistencia ósea. Es decir, para las probetas de cada donador, sus datos de porcentaje de porosidad y grosor trabecular siguen el mismo orden, y ocurre lo mismo para el esfuerzo último, que es una de las respuestas mecánicas. No obstante, existe una discordancia respecto al espacio trabecular, ya que el orden de los datos ubicados en esta escala no es el mismo que en las variables antes mencionadas (ver **Figura 35**).

El esfuerzo de cedencia es el umbral entre una deformación elástica y una plástica, por lo tanto creemos que éste debería ser el valor determinante en el diagnóstico de osteoporosis. Esto es debido a que en la edad adulta si se produce una deformación plástica aunque no haya microfracturas, el hueso ya no será capaz de regresar a sus condiciones iniciales por lo que también en este punto se crearían ciertas deformaciones que afectarían mecánicamente al esqueleto en respuesta a las cargas que posteriormente sea sometido.

Nuevamente, creemos que nuestro número de especímenes no es suficiente para establecer una estadística consistente.

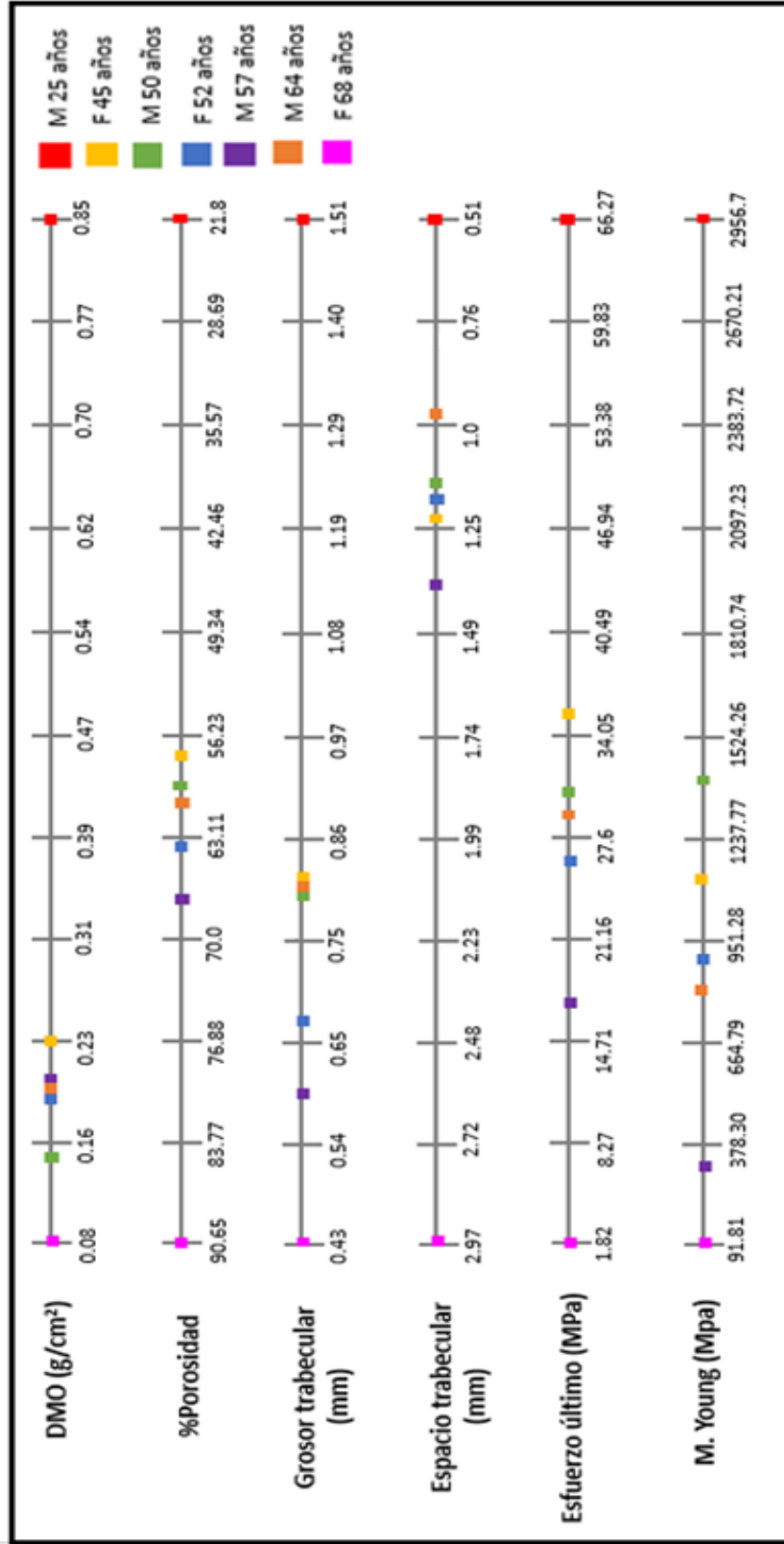


Figura 35. Datos obtenidos para DMO, porosidad, grosor y espacio trabecular, contrastados con las respuestas mecánicas: esfuerzo último y módulo de Young

6.6 CONECTIVIDAD TRABECULAR

Existe otra variable que también afecta directamente a las respuestas mecánicas (E y esfuerzo último) y que forma parte de la microarquitectura trabecular, la cual es conocida como conectividad. [8, 34] La estructura trabecular está formada por una red de vigas interconectadas. En esta red estructural existen los *nodos*, que son los puntos de unión para ramificación de trabéculas, y también los *términos*, que son los límites de una viga en donde no existe su correspondiente unión con otra, como se observa en la **Figura 36**.

Para cuantificar esta conectividad en la estructura trabecular, existen métodos matemáticos para contabilizar las trabéculas que van de nodo a nodo o de nodo a término. De tal forma que la conectividad estará determinado por el índice correspondiente al número de trabéculas que van de nodo a término entre las trabéculas que van de nodo a nodo.

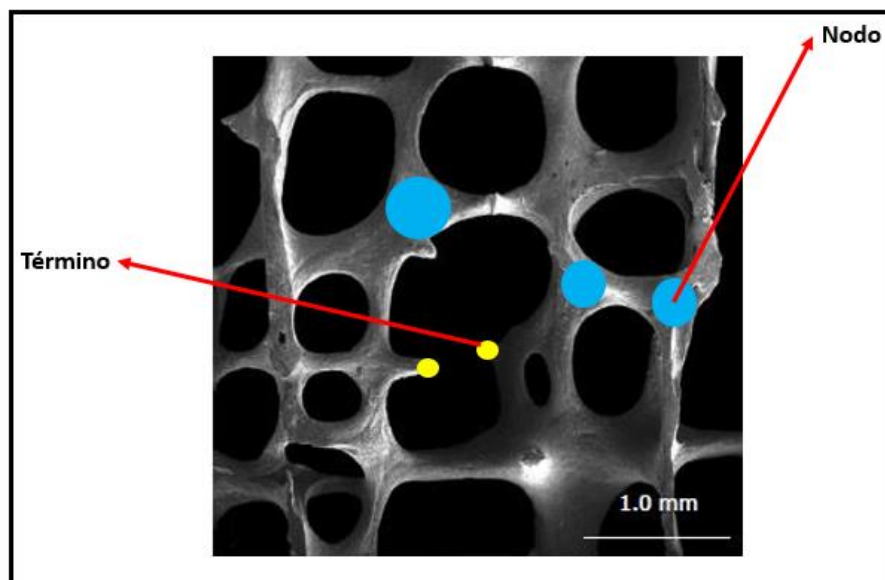


Figura 36. Conectividad trabecular. Fotografía microscópica de la estructura trabecular en la cual se especifican los conceptos de “nodo” y “término”. Tomado de: [35]

La inclusión de la nueva variable, conectividad trabecular, podría permitir predecir de manera más precisa el comportamiento mecánico del hueso trabecular, y más específicamente el esfuerzo último y el módulo de Young.

Empero, para definir los rangos de las distintas variables (porosidad, grosor y espacio trabecular) es indispensable contar con mayor número de muestras, lo que llevaría de 6 a 7 años en acumularlas, por lo que en el presente proyecto se estuvo muy limitado en este aspecto. Además esto también ayudaría a seleccionar las variables que son absolutamente necesarias y las que podrían descartarse para la predicción de la resistencia ósea y por lo tanto del riesgo de fractura. Esto permitiría llevar a cabo el diseño de tablas que se pretende, especificando sólo las variables que mayor contribuyan. Por lo que esto lo planteamos como parte del trabajo a futuro.

7. CONCLUSIÓN

Gracias al desarrollo de la ciencia de los últimos años la esperanza de vida en los seres humanos ha aumentado, no obstante también han resultado nuevas enfermedades degenerativas como lo es la osteoporosis. Esta patología se caracteriza por una disminución de masa ósea y por un deterioro estructural del tejido del hueso, afectando directamente a la resistencia ósea. De tal forma que ocasiona una debilitación del esqueleto volviéndose vulnerable a fracturas que perjudican no solo a la calidad de vida de quienes la padecen, sino también a su esperanza de vida a causa de las comorbilidades asociadas.

Para prevenir y por lo tanto evitar fracturas óseas es de vital importancia contar con un método de detección confiable. El equipo DXA, que determina la mineralización ósea, es una de las tecnologías muy utilizadas para examinar pacientes. Desafortunadamente DXA también tiene desventajas que influyen en la determinación de un diagnóstico eficiente, por basarse únicamente en el DMO. Y es que debido a su poca sensibilidad, valores altos de DXA no eximen al paciente del riesgo de fractura pues los factores de calidad (invisibles a DXA) juegan un papel determinante en la estructura ósea, tal y como se ha mostrado en este trabajo a pesar de que se contaron con pocas muestras de estudio. Nuestros resultados ratifican la importancia de estudiar más a detalle la resistencia ósea, que se refiere a la fuerza necesaria para fracturar al hueso, que es el resultado de la integración de dos variables: la cantidad y la calidad.

Dentro de la calidad ósea está la microarquitectura trabecular que incluye a la porosidad y al grosor y espacio trabecular. Micro-CT es la única tecnología capaz de obtener de manera precisa estas variables, empero no se puede acceder fácilmente a este equipo, además no es una tecnología económica. Fue por ello que en este trabajo se echó mano de técnicas de procesamiento de imágenes que permitieron aproximar de forma muy precisa los valores de porosidad y grosor y espacio trabecular a la

información real, obtenida por micro-CT. Esto permitirá disminuir considerablemente la dependencia de micro-CT para futuros estudios, además de permitir calibrar bajo el esquema propuesto algún dispositivo 2D con el que se cuente. Esto tiene impacto favorable al evitar altos costos y reducir las limitaciones para el acceso a estudiar la microarquitectura trabecular.

El esqueleto, como otros órganos, es el reflejo de la calidad de vida que llevan las personas y aunque la alimentación, los hábitos saludables, el ejercicio, factores hormonales, edad entre otros, afectan directamente al hueso, estos son causas externas independientes del análisis biomecánico del hueso. Irremediablemente con el paso de los años, se supone que el hueso caerá en ciertos rangos de variables microestructurales, que es realmente lo que determinará la resistencia ósea.

Como ya se observó en los resultados sí existe una diferencia importante entre la mineralización de hueso completo y hueso trabecular. Además se pudo observar que aparentemente las variables que corresponden a la calidad ósea (porosidad, grosor y espacio trabecular) tienen una mayor relación con las respuestas mecánicas, esfuerzo último y módulo de Young.

A continuación se detallan las conclusiones que se observaron en este proyecto:

- El método de análisis de imágenes que se implementó logró aproximar eficientemente los valores de porosidad 2D a los valores de referencia (micro-CT).
- Mediante nuestros estudios quedó patente la poca sensibilidad de DMO, a pesar de que se contaron con pocas muestras de estudio.
- Se observó que existe una gran diferencia entre el DMO obtenido en clínica (hueso completo) y el DMO solo para hueso trabecular, lo cual indica que se están sobreestimando los valores de mineralización en zonas del esqueleto que son vitales para definir las condiciones mecánicas.

- En base a los resultados de densitometría ósea, microarquitectura y ensayos mecánicos, se encontró que existe una mayor relación de las variables de microarquitectura (porosidad, grosor y espacio trabecular) con la respuesta a las propiedades mecánicas obtenidas de los ensayos de compresión, a diferencia del DMO. Esto deja en claro la necesidad de integrar los parámetros de calidad al diagnóstico de la osteoporosis.

Mediante este proyecto se planteó una manera de aumentar la confiabilidad del diagnóstico de osteoporosis, anexando la información que corresponde a la calidad ósea. Este método propuesto depende del desarrollo de tablas que contengan tanto los rangos de DMO y los de los parámetros de calidad, para que mediante esta información se puedan definir las propiedades mecánicas que le corresponde, y en base a éstas determinar un diagnóstico más confiable y por lo tanto especificar el riesgo de fractura.

Ahora, para la determinación de las propiedades mecánicas del hueso es indispensable llevar a cabo ensayos de compresión que son pruebas destructivas y que no se pueden llevar a cabo *in vivo*. Y, en cuanto a la obtención de variables de calidad, es necesario seguir trabajando en técnicas de imagenología que permitan obtener esta información de manera no invasiva en el paciente.

Desafortunadamente una principal limitante en este proyecto fue el número de especímenes, ya que se depende del Banco de Hueso y Tejidos y es complicado recaudar un alto número de muestras en poco tiempo. Se requerirá de por lo menos 6 años para obtener un número aceptable de muestras a las cuales se les someta a pruebas de densitometría ósea, de procesamiento de imágenes y de ensayos mecánicos, generando un análisis más completo para llevar a cabo la estadística necesaria que posibilite una base de datos para la determinación de las tablas propuestas.

Bibliografía

- [¹] Comín, M. (1992). *Biomecánica de la fractura ósea y técnicas de reparación*. Instituto de Biomecánica.
- [²] García-Garduño, M. V., & Reyes-Gasga, J. La hidroxiapatita, su importancia en los tejidos mineralizados y su aplicación biomédica. *Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* 2006; **9**(2):90-95.
- [³] Diaz, n. *DICCIONARIO DE BIOLOGÍA: ¿QUÉ ES DIÁFISIS?* Disponible en: <http://diccionariobiologia.blogspot.mx/2016/01/que-es-diafisis.html> , 2016.
- [⁴] Cowin, S. C. (2001). *Bone mechanics handbook*. CRC press.
- [⁵] Depts.washington.edu. *Educational materials*. Disponible en: <https://depts.washington.edu/bonebio/ASBMRed/structure.html>, 2016
- [⁶] Fernández-Tresguerres Hernández-Gil, I., Alobera Gracia, M. A., Canto Pingarrón, M. D., & Blanco Jerez, L. Bases fisiológicas de la regeneración ósea II: El proceso de remodelado. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal* 2006; **11**(2): 151-157.
- [⁷] Kanis, J. A., & Glüer, C. C. An update on the diagnosis and assessment of osteoporosis with densitometry. *Osteoporosis International* 2000; **11**(3): 192-202.
- [⁸] Caeiro Rey, J., Dapía Robleda, S., Vaquero Cervino, E., Roca Ruiz, L., & Blanco Ramos, M. Factores determinantes de la resistencia ósea. *Revista Española de Enfermedades Metabólicas Óseas* 2005; **14**(4): 67-74.
- [⁹] Lafita, J. (2003). *Fisiología y fisiopatología ósea*. In Anales del Sistema Sanitario de Navarra Gobierno de Navarra. Departamento de Salud.
- [¹⁰] Acupunturaparalasalud.com. Disponible en: <http://acupunturaparalasalud.com/tratamiento->

[dietetico-integrador-para-la-artrosis-y-la-osteoporosis/](#) , 2011.

- [11] Muñoz, S. y perfil, V. Fisiología huesos. Disponible en: <http://sherllyfrancohuesos.blogspot.mx/> , 2015.
- [12] Anatomiamiembroinferior.bligoo.com. *TEJIDO ÓSEO*. Disponible en: <http://anatomiamiembroinferior.bligoo.com.co/tejido-oseo#.V3qqibjhDIV> , 2016.
- [13] Tjong, W., Kazakia, G. J., Burghardt, A. J., & Majumdar, S. The effect of voxel size on high-resolution peripheral computed tomography measurements of trabecular and cortical bone microstructure. *Medical Physics* 2012; **39**(4): 1893-1903.
- [14] Van Der Linden, J. C., Verhaar, J. A. N., & Weinans, H. A Three-dimensional simulation of age-related remodeling in trabecular bone. *Journal of Bone and Mineral Research* 2001; **16**(4): 688-696.
- [15] Sanz Granda, Á. (2004). Fracturas osteoporóticas (I): introducción. *Offarm: Farmacia y Sociedad* 2004; **23**(2): 140-143.
- [16] Rubin, C. T., & McLeod, K. J. Inhibition of osteopenia by biophysical intervention. In *Osteoporosis* 1996; **7**(5) 351-371
- [17] Morabito, Nunziata, et al. Effects of genistein and hormone-replacement therapy on bone loss in early postmenopausal women: a randomized double-blind placebo-controlled study. *Journal of Bone and Mineral Research* 2002; **17** (10): 1904-1912.
- [18] Silva, M. J., & Gibson, L. J. Modeling the mechanical behavior of vertebral trabecular bone: effects of age-related changes in microstructure. *Bone* 1997; **21**(2): 191-199.
- [19] Seeman E. Bone quality. *Advances in osteoporotic fracture management* 2002; **2**(1):2-8.
- [20] Seeman E. Bone quality. *Osteoporosis International* 2003; **14** (5): 3-7.

- [²¹] Burr, D. B., Forwood, M. R., Fyhrie, D. P., Martin, R. B., Schaffler, M. B., & Turner, C. H. Bone microdamage and skeletal fragility in osteoporotic and stress fractures. *Journal of Bone and Mineral Research* 1997; **12**(1): 6-15.
- [²²] Auais, M., Morin, S., Nadeau, L., Finch, L., & Mayo, N. Changes in frailty-related characteristics of the hip fracture population and their implications for healthcare services: evidence from Quebec, Canada. *Osteoporosis International* 2013; **24**(10): 2713-2724.
- [²³] Foronda, I. E., Rey, J. R. C., Garijo, R. L., Cervino, E. V., Ruiz, F. R., Ramos, M. M., ... & Garay, E. G. Guía SECOT-GEIOS en osteoporosis y fractura por fragilidad. *Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología* 2015; **59**(6): 373-393.
- [²⁴] Carlos, F., Clark, P., Maciel, H., & Tamayo, J. A. Direct costs of osteoporosis and hip fracture: an analysis for the Mexican Social Insurance Health Care System. *Salud Pública de México* 2009; **51**(1): 108-113.
- [²⁵] Johansson, H., Clark, P., Carlos, F., Oden, A., McCloskey, E. V., & Kanis, J. A. Increasing age-and sex-specific rates of hip fracture in Mexico: a survey of the Mexican institute of social security. *Osteoporosis International* 2011; **22**(8): 2359-2364.
- [²⁶] González-Montalvo, J. I., Alarcón, T., & Sánchez, A. I. H. ¿Por qué fallecen los pacientes con fractura de cadera? *Medicina Clínica* 2011; **137**(8): 355-360.
- [²⁷] Johnson, P. Bone densitometry in clinical practice: application and interpretation. *Radiologic Technology* 1999; **70**(4): 389-390.
- [²⁸] El Maghraoui, A., & Roux, C. (2008). DXA scanning in clinical practice. *Qjm* 2008; **101**(8): 605-617.
- [²⁹] Kim, E. H., Shim, D. O., Dong, K. R., Kim, H. S., Kweon, D. C., Goo, E. H., & Chung, W. K. Assessment of the effect of bone density and soft tissue thickness on phantom measurements. *Journal of the Korean Physical Society* 2010; **57**(5): 1263-1269.

- [³⁰] Ufhealthjax.org. Bone Density Screening (DXA,DEXA). Disponible en: <http://ufhealthjax.org/womens-imaging/bone-density-screening.aspx> , 2016.
- [³¹] Kanis, J. A., & Glüer, C. C. (2000). An update on the diagnosis and assessment of osteoporosis with densitometry. *Osteoporosis international* 2000; **11**(3): 192-202.
- [³²] McAndrew, A. (2004). *An introduction to digital image processing with matlab notes for scm2511 image processing*. School of Computer Science and Mathematics, Victoria University of Technology.
- [³³] Hildebrand, T., & Rüegsegger, P. A new method for the model-independent assessment of thickness in three-dimensional images. *Journal of Microscopy* 1997; **185**(1): 67-75.
- [³⁴] Kinney, J. H., & Ladd, A. J. C. The Relationship Between Three-Dimensional Connectivity and the Elastic Properties of Trabecular Bone. *Journal of Bone and Mineral Research* 1998; **13**(5): 839-845.
- [³⁵] Chen H, Kubo KY. Bone three-dimensional microstructural features of the common osteoporotic fracture sites. *World J Orthop* 2014; **5**(4): 486-495.