

Trabajo Fin de Máster Máster en Ingeniería Industrial

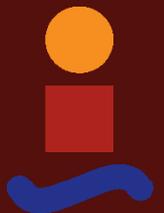
Simulación espacio-temporal de modelos de remodelación ósea interna con osteoporosis y denosumab

Autor: Pablo Manchado Morales

Tutor: José Luis Calvo Gallego

**Dpto. Ingeniería Mecánica y Fabricación
Escuela Técnica Superior de Ingeniería
Universidad de Sevilla**

Sevilla, 2023



Trabajo Fin de Máster
Máster en Ingeniería Industrial

Simulación espacio-temporal de modelos de remodelación ósea interna con osteoporosis y denosumab

Autor:

Pablo Manchado Morales

Tutor:

José Luis Calvo Gallego

Profesor Titular de Universidad

Dpto. Ingeniería Mecánica y Fabricación
Escuela Técnica Superior de Ingeniería
Universidad de Sevilla

Sevilla, 2023

Trabajo Fin de Máster: Simulación espacio-temporal de modelos de remodelación ósea interna con osteoporosis y denosumab

Autor: Pablo Manchado Morales
Tutor: José Luis Calvo Gallego

El tribunal nombrado para juzgar el trabajo arriba indicado, compuesto por los siguientes profesores:

Presidente:

Vocal/es:

Secretario:

Acuerdan otorgarle la calificación de:

El Secretario del Tribunal

Fecha:

A mi abuelo

Agradecimientos

El presente trabajo implica la finalización de mi formación como ingeniero industrial y el cierre de una etapa. Antes de terminarla, me gustaría agradecer a todas aquellas personas que han formado parte de este camino.

En primer lugar, a mi familia por haberme brindado la oportunidad de desarrollar mis estudios como ingeniero y confiar en mí para lograr mis metas. A mis padres y a mi hermano, por el apoyo incondicional.

A mis amigos, tanto con los que he compartido los mismos estudios como los que me han estado acompañando durante todos estos años.

Por último, a todos los profesores que han contribuido a mi formación a lo largo de mi vida. En especial, a Javier y José Luis por la oportunidad y la confianza depositada en mí, permitiéndome formar parte de su trabajo, y por el esfuerzo realizado para el desarrollo del presente documento.

*Pablo Manchado Morales
Sevilla, 2023*

Resumen

La remodelación ósea es un proceso realizado por los huesos que les permite modificar su estructura y forma para adaptarse al entorno mecanobiológico que les rodea. Como consecuencia de este proceso mantienen su rigidez, resistencia, peso, materia y composición celular en un estado óptimo que les permita desempeñar sus funciones. Es llevado a cabo principalmente por los osteoblastos y osteoclastos, células encargadas de la formación y reabsorción, respectivamente. Un desequilibrio en cualquiera de las actividades desarrolladas por estas células suele estar relacionado directamente con alguna enfermedad ósea, como la osteoporosis o la enfermedad de Paget. Para la mayoría de estas enfermedades óseas, una detección precoz sumado a un correcto tratamiento puede suponer un punto de inflexión.

Los modelos matemáticos y recursos que brinda la ingeniería permiten el análisis, simulación y estudio de tratamientos cuya finalidad es evitar o paliar los efectos de dichas enfermedades.

El objetivo del presente trabajo consiste en la implementación de modelos matemáticos de remodelación ósea interna en elementos finitos. Se parte del trabajo final de grado realizado previamente en el que se implementó un modelo matemático que simula el proceso de remodelación ósea interna con la activación discreta de las BMUs. En este TFG se lograba simular la reabsorción y formación ósea de manera discreta, solventando una limitación del modelo matemático, pero no se obtenía la sincronización temporal que existe entre ambas fases. Este trabajo se optimiza introduciendo cambios que solventan la problemática mencionada y además, evita que ocurran algunas excepciones en el funcionamiento del modelo asociadas con la codificación del algoritmo. Sumado a las modificaciones comentadas, se avanza en el modelado y simulación de la osteoporosis, enfermedad ósea que entre otros efectos disminuye la densidad ósea, y del tratamiento de la misma a partir del fármaco denosumab, el cual reduce los efectos de la misma.

Para el trabajo realizado, las modificaciones al modelo matemático de remodelación ósea interna se implementan en el programa *Abaqus*. Este programa aplica el método de los elementos finitos, que discretiza un dominio en elementos y resuelve las ecuaciones diferenciales planteadas en los puntos de integración presentes en los elementos. Este programa será utilizado tanto para realizar las simulaciones como para el postprocesado de las mismas. Para modelar las propiedades mecánicas óseas se utilizan las subrutinas del programa que permiten modelar el comportamiento mecánico no estándar.

Abstract

Bone remodelling is a process carried out by bones that allows them to modify their structure and shape to adapt to the mechanobiological environment that surrounds them. As a consequence of this process, they maintain their stiffness, strength, weight, material and cellular composition in an optimal state to enable them to perform their functions. It is carried out mainly by osteoblasts and osteoclasts, cells in charge of formation and resorption, respectively. An imbalance in any of the activities carried out by these cells is usually directly related to a bone disease, such as osteoporosis or Paget's disease. For most of these bone diseases, early detection and correct treatment can be a turning point.

Mathematical models and engineering resources allow the analysis, simulation and study of treatments aimed at preventing or mitigating the effects of these diseases.

The aim of this work is to implement mathematical models of internal bone remodelling in finite elements. It is based on the final degree work previously carried out in which a mathematical model was implemented that simulates the process of internal bone remodelling with the discrete activation of BMUs. This work managed to simulate bone resorption and formation in a discrete manner, solving a limitation of the mathematical model, but the time synchronisation that exists between both phases was not obtained. This work is optimised by introducing changes that solve the aforementioned problem and also avoids the occurrence of some exceptions in the functioning of the model associated with the coding of the algorithm. In addition to the amendments discussed above, progress is made in the modelling and simulation of osteoporosis, a bone disease which, among other effects, reduces bone density, and its treatment with the drug denosumab, which reduces its effects.

For the work carried out, the modifications to the mathematical model of internal bone remodelling are implemented in the *Abaqus* program. This program applies the finite element method, which discretises a domain into elements and solves the differential equations posed at the integration points present in the elements. This program will be used both to carry out the simulations and to post-process them. To model the mechanical properties of the bones, the subroutines of the program are used to model the non-standard mechanical behaviour.

Índice

<i>Resumen</i>	V
<i>Abstract</i>	VII
1 Introducción	1
1.1 Motivación	1
1.2 Objetivos	4
1.3 Estructura del documento	4
2 Biología Ósea	5
2.1 Clasificación huesos	5
2.1.1 Huesos largos	5
2.1.2 Huesos cortos	5
2.1.3 Huesos planos	5
2.1.4 Huesos irregulares	6
2.1.5 Huesos sesamoideos	6
2.2 Tejido Óseo	7
2.2.1 Matriz Ósea	7
2.2.2 Células óseas y su función	7
2.3 Estructura Ósea	10
2.4 Remodelación Ósea	10
2.4.1 Remodelación Ósea Interna	11
2.4.2 Remodelación Ósea Externa	13
2.4.3 Factores bioquímicos	14
2.5 Osteoporosis	14
2.5.1 Osteoporosis Postmenopáusica	15
3 Modelo Matemático	17
3.1 Desarrollo del modelo	17
3.1.1 Mecanismo de regulación bioquímica	19
3.1.2 Mecanismo de regulación biomecánica	21
3.1.3 Degradación de las propiedades a fatiga por el contenido mineral	23
3.1.4 Algoritmo de mineralización ósea	24
3.1.5 Modelado del fármaco denosumab	26
3.2 Limitaciones del modelo de poblaciones celulares	26
3.3 Implementación en <i>Abaqus</i>	27

3.3.1	Estructura y comentarios sobre el código principal	27
4	Modificaciones del modelo de remodelación ósea interna	31
4.1	Modelo de estudio local	32
4.2	Modelo de estudio no local	34
4.3	Modelo de elementos finitos	39
5	Resultados	43
5.1	Análisis de sensibilidad del modelo local	43
5.1.1	Consideraciones previas	43
5.1.2	Influencia de la variación de los umbrales	45
5.1.3	Influencia de la variación de parámetros del modelo	48
5.1.4	Combinación de varios parámetros	50
5.2	Simulaciones del modelo no local	51
5.2.1	Homeostasis	51
5.2.2	Simulación con elevada presencia de daño	57
5.2.3	Inclusión del efecto de la osteoporosis	58
5.2.4	Inclusión del efecto de la osteoporosis y el fármaco denosumab	60
5.3	Discusión de los resultados	61
5.3.1	Homeostasis	61
5.3.2	Elevada presencia de daño a nivel local	64
5.3.3	Enfermedad osteoporosis y fármaco denosumab	64
6	Conclusiones y líneas futuras	67
6.1	Conclusiones	67
6.2	Líneas futuras	68
Apéndice A	Parámetros empleados	69
	<i>Bibliografía</i>	71

1 Introducción

Dentro de las diversas funciones óseas la principal es la estructural. El conjunto óseo debe ser capaz de soportar las distintas cargas a las que se somete diariamente actuando como soporte del propio cuerpo que evoluciona con el tiempo. Para hacer frente a estas cargas y adaptarse a la evolución los huesos presentan un mecanismo conocido como remodelación ósea el cual les permite cambiar de forma y repararse, optimizando su estructura.

Esta adaptación se produce de dos maneras: en las superficies, ya sea endostio o periostio, modificando en este último caso el tamaño y la forma del hueso, en un proceso conocido como la remodelación ósea externa (ROE) o *bone modeling*; en el interior, donde modifica principalmente la porosidad y la anisotropía, repara los daños microestructurales y contribuye a regular la homeostasis del calcio. Esto se consigue mediante la acción espacio-temporal de las células óseas, comúnmente denominadas Unidad Multicelular Básica o *basic multicellular unit* (BMU) [1], que reabsorben y forman hueso en paquetes, dando lugar al "concepto cuántico de remodelado óseo" [2].

En ambos procesos participan distintos tipos de células con una función determinada. Las diferencias entre la ROE y la ROI es que en la primera se produce principalmente cambio de forma y las células encargadas de los procesos de reabsorción y formación actúan de manera independiente, mientras que en la ROI se realiza principalmente un proceso de reparación del tejido dañado y las células actúan de manera coordinada.

Una BMU está constituida principalmente por osteoclastos y osteoblastos que actúan de manera coordinada reabsorbiendo y formando masa ósea, respectivamente. Esta coordinación se consigue gracias a la participación de los osteocitos, otro tipo de células que se encargan de "sentir" los estímulos mecánicos y activar la actuación de los anteriores. El proceso tiene como resultado una posible variación de la porosidad, de la anisotropía del hueso y una reducción de la densidad de microgrietas y del contenido mineral. Esto se debe a que durante este proceso el tejido antiguo, más dañado y con alto contenido mineral, será sustituido por un tejido intacto, llamado osteoide, que se encuentra formado únicamente por agua y colágeno [3].

1.1 Motivación

Este trabajo se motiva por el interés en el método de los elementos finitos (MEF) y su aplicación en la biomecánica. El MEF es una técnica que permite la resolución de ecuaciones diferenciales relacionadas con problemas físicos o ingenieriles en geometrías complejas. Su versatilidad lo convierte en una herramienta valiosa en campos como la bioingeniería y la biomecánica, los cuales se enfocan en el estudio de la estructura, función y movimiento de los sistemas biológicos.

Además, este trabajo surge como continuación del trabajo final de grado [4]. En este trabajo previo se implementó un modelo de ROI en elementos finitos obteniéndose resultados parcialmente satisfactorios. En el presente trabajo se optimiza la solución propuesta, logrando la sincronización

temporal entre las fases presentes en la vida de una BMU, y realizando un ajuste del modelo para obtener resultados similares a los presentados en la literatura tanto para la duración de las fases como para la frecuencia de activación de las BMUs, profundizando así en el desarrollo de modelos para la remodelación ósea. Además, se incluye el efecto de la osteoporosis postmenopáusica y el del fármaco denosumab, el cual es usado para paliar la enfermedad. Los resultados obtenidos con la inclusión de ambos efectos también se asemejan a los obtenidos en ensayos clínicos.

Adicional a estos intereses personales, se encuentra la relación directa que existe entre una gran variedad de trastornos óseos y los desequilibrios que pueden surgir durante el proceso de remodelación ósea. Algunas de estas enfermedades incluyen la enfermedad de Paget y la osteoporosis. Durante el periodo de vida de una BMU se dan distintas etapas: activación, reabsorción, inversión y formación, seguido de un periodo de reposo conocido como periodo de quiescencia [5]. Comprender la aparición de las BMUs y su actividad cíclica es esencial para ampliar nuestros conocimientos sobre la fisiología ósea normal y sus trastornos; por ejemplo, sobre las duraciones de las distintas fases de las BMU, el acoplamiento entre estas fases y los factores que controlan dicho acoplamiento. El conocimiento de estos aspectos puede ser fundamental para explicar los comportamientos anómalos observados en determinadas enfermedades óseas.

Osteoporosis

La osteoporosis es una enfermedad que se caracteriza por una reducción en la densidad ósea debido a la pérdida del tejido óseo. Esto puede provocar una disminución en la resistencia ósea frente a la carga o traumatismos, lo que aumenta el riesgo de fracturas. Este fenómeno se debe a un desequilibrio entre la reabsorción-formación de tejido en el que aumenta la reabsorción o disminuye la formación, obteniéndose como resultado una pérdida de masa ósea [6].

Otro efecto de la enfermedad es el aumento de la porosidad, aumentando el número y tamaño de las cavidades internas. Esto implica que se vuelvan más delgados y frágiles y resistan peor a los traumatismos, fracturándose con facilidad. Las localizaciones más frecuentes de fracturas osteoporóticas son: muñeca, cadera y vertebras. En la Figura 1.1 se muestra una comparación entre un hueso sano y osteoporótico.

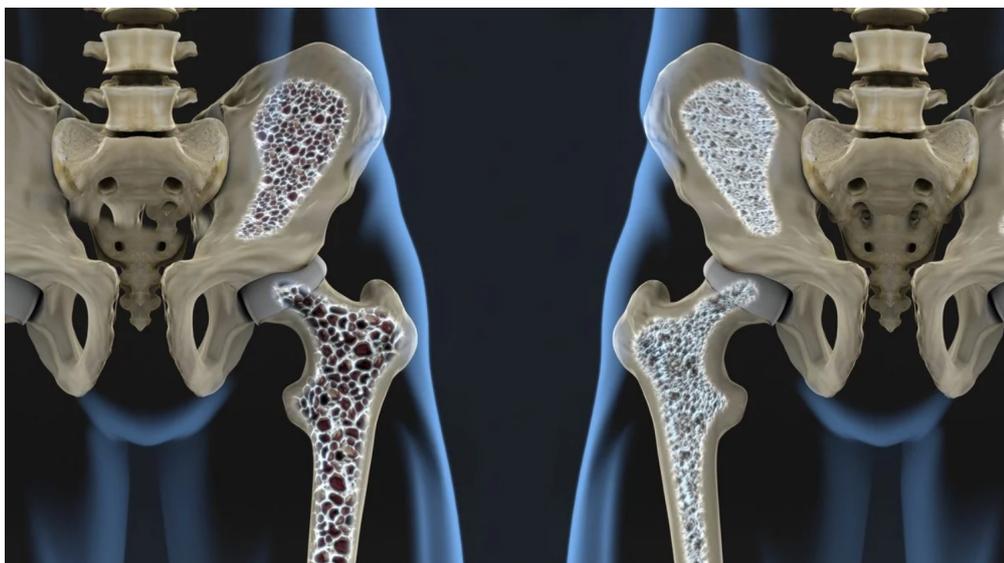


Figura 1.1 Comparativa de un hueso con osteoporosis (izquierda) y sano (derecha). Tomado de [7].

Según el último informe de la Fundación Internacional de la Osteoporosis, en España se estima que el 22,6% de las mujeres y el 6,8% de los hombres de 50 años o más sufren osteoporosis.

Además del sufrimiento humano causado por las fracturas por osteoporosis, el tratamiento y la atención a los pacientes con fracturas suponen una carga muy importante para el presupuesto de salud del país. Según el informe indicado anteriormente, el coste de las fracturas osteoporóticas supone el 3,8% del presupuesto sanitario, es decir, 4.300 millones de euros de 104.300 millones en 2019, algo más que el 3,5% de la Unión Europea. En la Figura 1.2 se refleja el gasto y prevalencia de la enfermedad.



Figura 1.2 Coste y prevalencia de la osteoporosis. Tomado de [8].

Actualmente, a pesar de ser una enfermedad silenciosa, existen numerosos recursos disponibles para detectarla precozmente y adaptar un tratamiento adecuado. Además, existen hábitos que pueden mejorar la calidad ósea, como una alimentación rica en calcio y vitamina D, la abstención del tabaco y el alcohol, y la práctica regular de ejercicio físico evitando el riesgo de caídas.

Uno de los recursos disponibles para tratar la osteoporosis son los fármacos, que buscan aumentar la masa ósea y disminuir el riesgo de fracturas. Estos fármacos se pueden clasificar en tres tipos, según [9]:

- Antirresortivos: actúan sobre los osteoclastos inhibiendo o retrasando el proceso de reabsorción, lo que provoca una estabilización e incluso un aumento discreto de la masa. En este grupo se encuentran los estrógenos, bifosfonatos, calcitonina y denosumab.
- Osteoformadores: actúan sobre los osteoblastos produciendo un aumento de la densidad ósea. Los más característicos son los fluoruros, paratohormona (PTH), factores de crecimiento y fosfanatos.
- El grupo restante se asocia a fármacos que mezclan los dos mecanismos anteriores, destacan: anabolizantes, vitamina D o calcitriol y progestágenos.

Como se ha mencionado, la mayoría de los fármacos utilizados en el tratamiento de enfermedades óseas actúan directa o indirectamente en las células responsables del proceso de remodelación ósea. Por lo tanto, comprender la dinámica y la interacción de estas células con los factores de crecimiento o regulación es fundamental para el desarrollo de tratamientos eficaces. En este sentido, los modelos

matemáticos son herramientas valiosas que permiten probar hipótesis teóricas y experimentales. En particular, el presente trabajo se basa en el modelo desarrollado por Martínez-Reina et al. [10], el cual incluye el efecto de la enfermedad mencionada y permite simular el efecto de algunos de los fármacos anteriores.

1.2 Objetivos

El trabajo desarrollado presenta como fin la optimización de la solución planteada para el modelo de ROI en [4], incluyendo la sincronización temporal de las fases, el ajuste de la duración de las mismas y el modelado de la osteoporosis postmenopáusia junto con el fármaco denosumab. Para ello se ha estudiado el proceso biológico y se ha revisado la literatura actual.

Se parte de un modelo de poblaciones celulares que se adapta para simular la acción de las BMUs. A este modelo se le realizan modificaciones siguiendo un enfoque local en el que se modela la diferenciación celular como un proceso intermitente permitiendo que tengan lugar las fases comentadas anteriormente. A continuación, se realiza un estudio no local en el que se tiene en cuenta la interacción de las BMUs con su entorno. Finalmente, se estudiará la duración de las fases y frecuencia de activación comparando los resultados obtenidos con los reflejados en la literatura. Además, se expondrán varias simulaciones en las que se incluyen los efectos de la osteoporosis y del uso de alendronato como tratamiento reversivo.

Ambos enfoques han sido implementados a través del programa *Abaqus*. Este programa aplica el MEF permitiendo la simulación y análisis del proceso de remodelación.

1.3 Estructura del documento

En primer lugar, en el Capítulo 2 se desarrollan los fundamentos biológicos necesarios para la comprensión del trabajo realizado, explicando nociones básicas sobre el hueso: clasificación, composición del tejido y estructura, y profundizando en el proceso de remodelación ósea. Además de explicar el mismo, se definen las distintas células que llevan a cabo el proceso y algunos de los factores biológicos implicados.

En el Capítulo 3 se expone el modelo matemático basado en poblaciones celulares del que parte el trabajo desarrollado. En el mismo se exponen las ecuaciones principales del balance, los distintos mecanismos de regulación que incluye y algunas limitaciones del mismo. Este modelo matemático será implementado en elementos finitos y se modificará para obtener resultados que se asemejen en la mayor medida al proceso real.

A continuación, en el Capítulo 4 se desarrollan las modificaciones llevadas a cabo en el modelo de poblaciones celulares y la justificación de las mismas. También, se comenta el modelo de elementos finitos que utilizará para las simulaciones junto con los distintos estados simulados. En concreto, se simulan las siguientes situaciones: un estado de homeostasis para varias condiciones de contorno y una zona con elevada presencia de daño. Una vez analizado el estado homeostático se implementa el efecto de la osteoporosis y, posteriormente, el tratamiento de la enfermedad con el fármaco denosumab.

En el Capítulo 5 se exponen y se discuten los resultados obtenidos para cada una de las simulaciones comentadas. Estos resultados se comparan con los reflejados en la literatura actual, para lo cual se realizó una revisión de la misma, obteniéndose resultados satisfactorios.

Finalmente, en el Capítulo 6 se presentan las conclusiones a las que se ha llegado a través de la investigación realizada. En este capítulo se realiza una evaluación de los resultados obtenidos en el estudio y se extraen las implicaciones más relevantes para el campo de investigación en cuestión. A partir de la discusión de las limitaciones del trabajo se plantean recomendaciones para futuras investigaciones que permitan superar estas limitaciones y avanzar en el conocimiento del tema.

2 Biología Ósea

El esqueleto se encuentra formado por el conjunto de los huesos y realiza funciones fundamentales para el organismo. En primer lugar, brinda soporte estructural y conforma la estructura corporal. Su actuación en conjunto con los músculos permite la transmisión de cargas para realizar movimientos, lo que se conoce como función locomotora. Además, actúa como protector de algunos órganos internos importantes como el corazón.

Aparte de estas funciones más conocidas, los huesos también desarrollan otras menos intuitivas, actuando como reserva de minerales como el calcio y el fósforo, y almacenan médula ósea, crucial para ciertas funciones fisiológicas.

Los huesos están compuestos por diferentes tejidos y células y poseen un mecanismo que les permite renovarse. Este capítulo profundizará en estos aspectos fundamentales para comprender su funcionamiento y en el proceso biológico del cual trata este trabajo para facilitar su comprensión.

2.1 Clasificación huesos

Atendiendo a tamaño y forma los huesos se pueden clasificar según [11] en:

2.1.1 Huesos largos

En este tipo de huesos una dimensión predomina sobre las otras. Son duros y densos, brindan resistencia estructural y movilidad. Entre ellos se encuentran el fémur o el radio.

Estos huesos están compuestos en varias partes. La diáfisis, que es la parte intermedia del hueso, los dos extremos llamados epífisis, encargadas de interactuar con otros huesos para crear articulaciones [12], y la parte que une la diáfisis con la epífisis se conoce como metáfisis. Las diferentes partes comentadas se pueden observar en la Figura 2.1:

2.1.2 Huesos cortos

Todas sus dimensiones son similares sin presentar ninguna dominante. Suelen encontrarse agrupados dando estabilidad y soporte, y permiten el movimiento de las articulaciones. Algunos ejemplos son: el carpo y el tarso (huesos que componen mano y pie, respectivamente).

2.1.3 Huesos planos

Son aquellos de pequeño espesor, es decir, presentan dos dimensiones considerables frente a la tercera. En algunos casos actúan protegiendo a tejidos blandos como el cráneo, y en otros permiten anclar músculos en su amplia superficie como la escápula.



Figura 2.1 Partes de un fémur. Tomado de [13].

2.1.4 Huesos irregulares

Son aquellos difíciles de caracterizar por su forma y no entran en ninguna de las otras categorías. Dentro de este grupo se encuentran los huesos que conforman el oído.

2.1.5 Huesos sesamoideos

Son huesos pequeños y redondos. Estos se encuentran en zonas de alta fricción, tensión o esfuerzo físico, ya que su misión es incrementar la función palanca de los músculos. En concreto están presentes en las articulaciones.

En la Figura 2.2 se muestran algunos ejemplos de los tipos indicados:

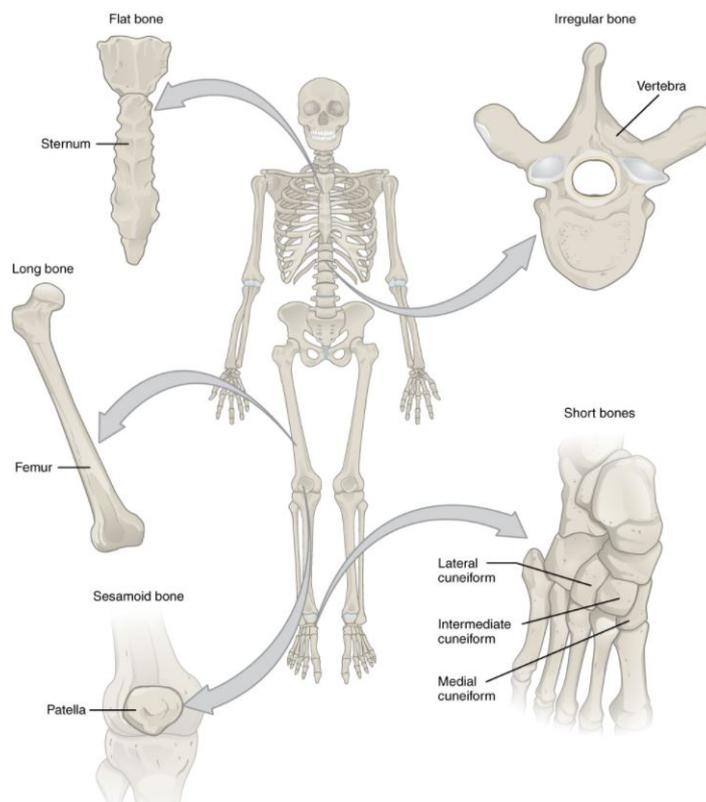


Figura 2.2 Ejemplos de cada uno de los tipos de huesos mencionados. Tomado de [11].

2.2 Tejido Óseo

Las propiedades mecánicas del tejido óseo dependen tanto de los elementos que lo componen como la disposición de los mismos, por ello resulta interesante profundizar en su composición. Al igual que el resto de tejidos conjuntivos, el tejido óseo está formado por una matriz y un conjunto de células.

2.2.1 Matriz Ósea

Está compuesta por dos fases: una orgánica (principalmente formada por colágeno, 20% de la masa ósea) responsable de su rigidez, viscoelasticidad y tenacidad; una fase mineral (70% de la masa ósea) formada por hidroxapatita ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) para el refuerzo estructural, rigidez y homeostasis mineral [14].

El contenido restante es agua (10% de la masa ósea). Las células encargadas de la formación depositan osteoide, que es un material formado por la fase orgánica y agua. Posteriormente, durante el proceso de mineralización, parte de este agua es sustituida por mineral.

2.2.2 Células óseas y su función

Existen cuatro tipos de células óseas maduras presentando cada una de ellas unas funciones determinadas. Los osteoclastos, cuya función es reabsorber tejido óseo y proceden de células madre hematopoyéticas, y los osteoblastos encargados de la formación y provenientes del linaje de las células madre mesenquimales. Los dos tipos de células restantes son los osteocitos y las células de borde, ambos proceden de los osteoblastos de los que se diferencian para realizar otra función concreta.

Osteoclastos

Se tratan de células multinucleadas (presentan entre 3 y 20 núcleos, véase Figura 2.3), son de gran tamaño y desempeñan la función de reabsorción ósea. Como se ha mencionado, pertenecen al linaje de las células madre hematopoyéticas y surgen de la unión de varios osteoclastos precursores. Posterior a esta fusión y, estando varios osteoclastos maduros activos simultáneamente, comienzan a segregarse ácidos que disuelven las fases orgánica e inorgánica de la matriz ósea. La velocidad de avance es de unas decenas de micras al día. Una vez cumplida su función los osteoclastos sufren apoptosis (muerte celular programada). Como consecuencia de dicha actuación aparece un hueco en la matriz ósea, denominado cavidad de reabsorción.

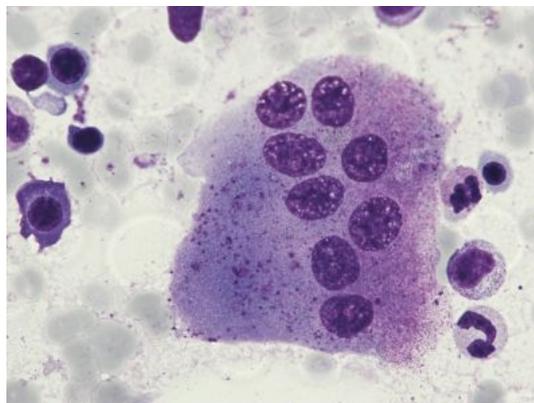


Figura 2.3 Imagen de un osteoclasto tomada a partir de un microscopio óptico. Tomado de [15].

Osteoblastos

Son las células encargadas de generar la matriz ósea, aunque segregan únicamente la fase orgánica. A diferencia de las anteriores son células mononucleadas, pequeñas, de forma cuboidal (Figura 2.4) y procedentes de las células madre mesenquimales. Estas pasan por varias etapas antes de diferenciarse en osteoblastos. Para la última etapa de diferenciación es necesario cierto estímulo mecánico que provocará la aparición de factores de crecimiento como el TGF- β o el RANKL y factores de regulación como el PTH que se comentarán más adelante. Una vez llevada a cabo su función los osteoblastos pueden sufrir apoptosis como los osteoclastos (el 65 % de ellos lo sufren) o diferenciarse a osteocitos o células de borde que se explicarán a continuación.

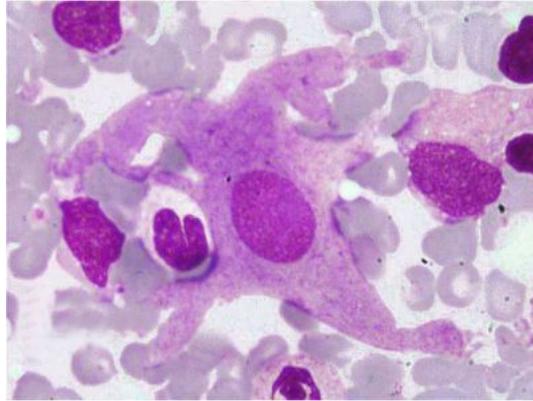


Figura 2.4 Imagen de un osteoblasto tomada a partir de un microscopio óptico. Tomado de [16].

Osteocitos

Son las células más numerosas del tejido óseo, representan en torno al 95 % del total. Como se ha mencionado anteriormente, provienen de los osteoblastos que quedan atrapados dentro de la matriz ósea en las lagunas osteocíticas. Al quedar atrapados cambian su forma y el citoplasma se deforma pasando a tener un cuerpo central del que surgen decenas de extensiones a través de las cuales pueden comunicarse con los osteocitos cercanos formando una red eficaz dentro de la matriz ósea mineralizada. Estos conductos se llaman canalículos (Figura 2.5).

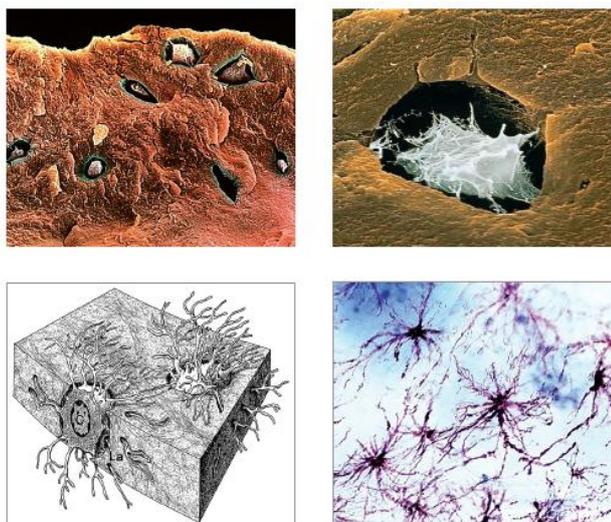


Figura 2.5 Forma típica de los osteocitos. En ella se puede observar las decenas de prolongaciones que forman una red eficaz dentro de la matriz ósea mineralizada. Tomado de [17].

Actúan como "sensores" de los estímulos y son los encargados de indicar que todo está en orden, avisando a los osteoclastos y osteoblastos si ocurriese algo. No se conoce a ciencia cierta el mecanismo que permite al osteocito "sentir" esa carga, pero podría estar relacionado con la circulación de fluidos a través del sistema de poros lacuno-canalicular. Si por algún problema en el sistema los osteocitos dejasen de sentir el flujo de fluidos o sintiesen un incremento, emitirían un tipo de señal bioquímica que discurriría por dicho sistema hasta alcanzar las células de borde, las cuales activarían el proceso de remodelación ósea para corregir el problema.

Células de borde

Al igual que los anteriores provienen de los osteoblastos maduros pero se diferencian en que no quedan atrapados en el interior del osteoide. Por el contrario, estos se sitúan en la superficie cubriendo la interfaz matriz ósea-médula, protegiendo a la primera de los agentes químicos externos evitando que estos la disuelvan. También modifican su forma, en este caso se alargan y aplanan (Figura 2.6).

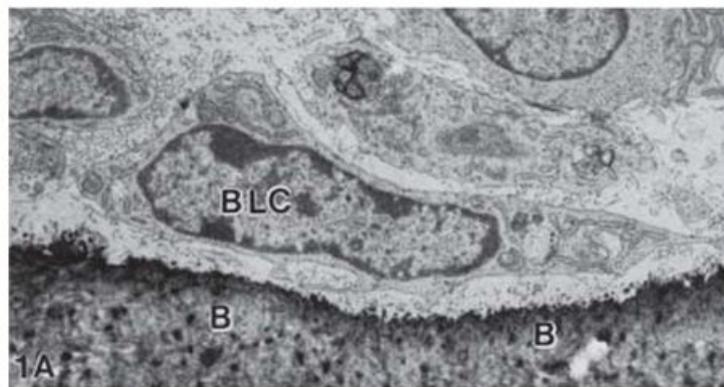


Figura 2.6 Imagen de una célula de borde (BLC, *bone lining cell*) pegada a la superficie ósea (B, *bone*) tomada con un microscopio electrónico Zeiss EM-10 (Zeiss, Oberkochen, Alemania). Tomado de [18].

Las células de borde también se encuentran conectadas con los osteocitos y actúan como receptores de las señales bioquímicas emitidas. Al recibir estas señales generarían una nueva señal bioquímica que provocase la activación de los osteoclastos, comenzando así el proceso de remodelación. La Figura 2.7 explica las distintas diferenciaciones de los osteoblastos y generación de osteocitos y células de borde.

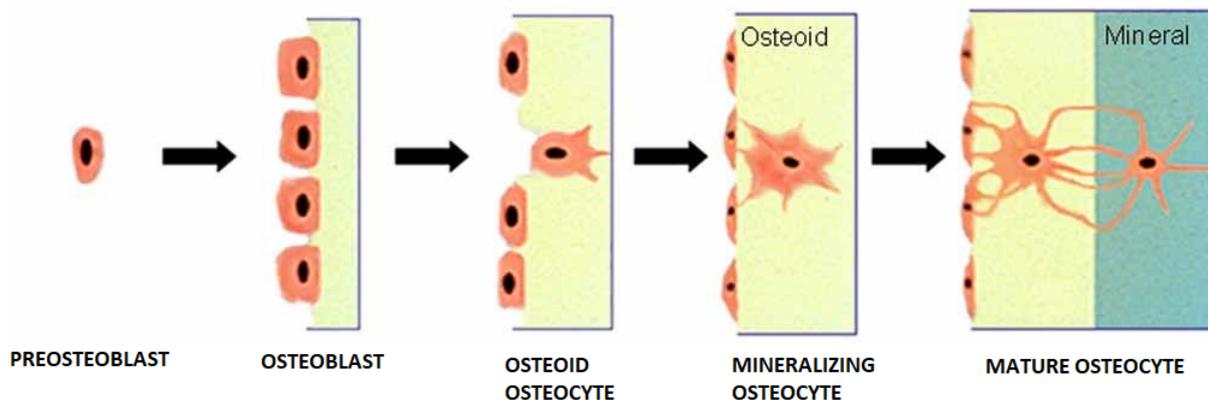


Figura 2.7 Diferenciación de los osteoblastos. Adaptada de [19].

2.3 Estructura Ósea

Dentro de la estructura ósea humana se diferencian dos tipos de tejidos óseos: el cortical y el trabecular. El primero se sitúa en la parte externa rodeando a la parte trabecular, siendo duro y compacto. El hueso trabecular, también conocido como esponjoso, es poroso y menos denso que el cortical [20].

El tejido trabecular presenta una estructura formada por placas y barras de tejido mineralizado y duro, llamadas trabéculas. Estas se encuentran conectadas entre sí dejando poros, siendo ese espacio dejado ocupado por la médula ósea. La disposición de las trabéculas es aleatoria, teniendo como objetivo soportar las cargas a las que se encuentra sometido el hueso.

El tejido cortical o compacto constituye el 80% del esqueleto humano y recubre el hueso trabecular a modo de corteza, de ahí su nombre. La porosidad de este tejido se compone de tres tipos de huecos:

- Canales de Havers: contienen nervios y capilares. Se disponen paralelamente al eje del hueso y se encuentran envueltos por lamelas concéntricas que aportan rigidez.
- Canales de Volkmann: son más cortos que los anteriores y se disponen en dirección transversal al hueso. Conectan los canales de Havers entre sí y con el periostio (capa exterior del hueso).
- Cavidades de reabsorción: como se mencionó anteriormente, son el resultado de la actuación de los osteoclastos durante el proceso de remodelación.

El conjunto formado por los canales de Havers y las lamelas se denomina osteona, siendo esta la unidad estructural del hueso compacto. En la Figura 2.8 se muestran las partes mencionadas:

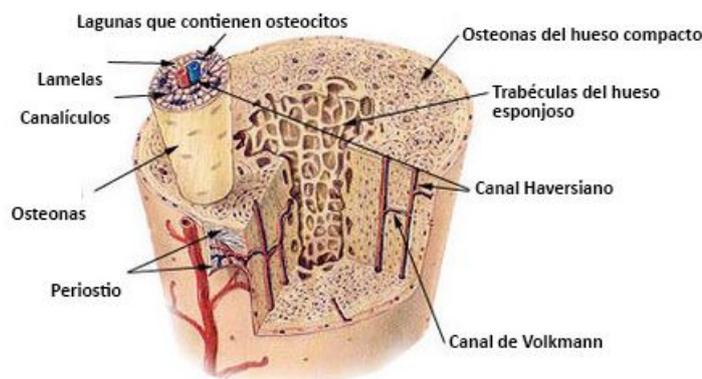


Figura 2.8 Sección de un hueso con sus partes. Tomado de [21].

Las proporciones de ambos tipos de tejidos varían en las diferentes sedes del esqueleto. El trabecular predomina en zonas como la columna vertebral, las muñecas o los omoplatos, mientras que en huesos como el fémur o cráneo predomina el cortical.

2.4 Remodelación Ósea

Una vez expuestos los conocimientos biológicos básicos, se puede profundizar en el proceso que fundamenta este trabajo: la remodelación ósea.

Los huesos no son estructuras estáticas, sino que están en constante cambio. El mayor reflejo de este cambio puede observarse en el aumento de tamaño que experimentan desde la niñez hasta la edad adulta. Este aumento está asociado con el proceso de remodelación ósea externa (ROE), el cual también puede ocurrir en otras circunstancias, principalmente en casos traumáticos.

Además de los cambios mencionados, una persona adulta puede experimentar cambios óseos sin necesidad de sufrir traumatismos. Esto se debe a que el hueso está en constante evolución, reparando los daños causados por la actividad diaria o incluso modificando su disposición para enfrentar estas actividades de manera óptima. Este proceso se conoce como remodelación ósea interna (ROI). En la Figura 2.9 se muestran algunas diferencias entre la ROE y la ROI, siendo las principales:

- En la ROE la actuación de osteoclastos y osteoblastos es independiente, mientras que en la ROI es una acción coordinada.
- La ROE provoca cambios de forma y tamaño, por el contrario la ROI no suele afectar a estas.
- La ROI sucede de manera continua durante toda la vida, mientras que la ROE aparece de forma esporádica, en ocasiones muy concretas como son: la infancia y adolescencia durante el crecimiento de los huesos, en la senectud cuando estos se deforman y en la remodelación de los callos de fractura.
- La ROE es un proceso continuo y prolongado mientras que la ROI presenta un principio y final claro en cada punto de remodelación. Estos puntos son focos concretos formados por paquetes celulares denominados *basic multicellular unit* (BMU) [22].

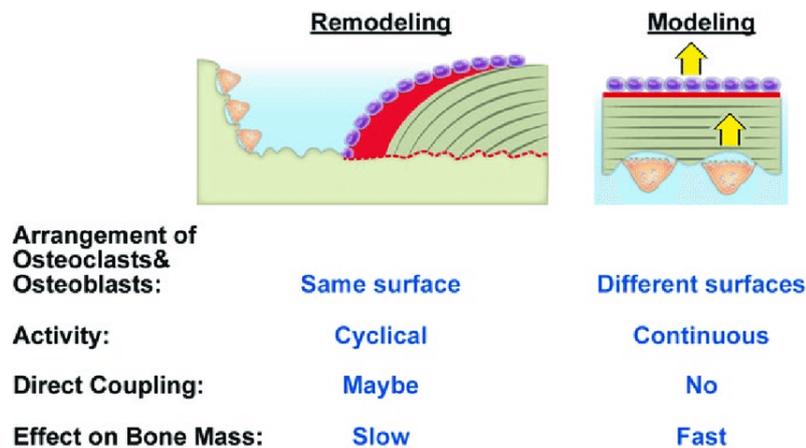


Figura 2.9 Diferencias entre ROE y ROI. Adaptado de [23].

A continuación se profundiza en ambos procesos:

2.4.1 Remodelación Ósea Interna

Uno de los objetivos que persigue es la optimización de la estructura ósea desde el punto de vista resistente, consiguiendo obtener la mayor resistencia con el menor peso posible. Otro de los objetivos es la reparación de las microgrietas formadas por la actividad diaria. Esta adaptación microestructural para hacer frente a las cargas sometidas aparece modelada en la Teoría del Mecanostato, propuesta por Frost [24]. Según la misma, el hueso necesita un cierto estímulo (carga), sin ser este muy elevado ni muy bajo, para el desarrollo de su función.

Para altos niveles de carga, conocido como estado de sobrecarga, el hueso no puede soportar el estímulo lo que provoca una formación neta de masa que le permita hacer frente a esas cargas. Por el contrario, para bajos niveles de carga (estado de desuso), se producirá una reabsorción neta de hueso. Esto se debe a la función optimizadora del hueso, ya que, elimina el volumen que no soporta cargas y tiende a quedarse únicamente con el volumen "útil" (el que soporta carga). Este fenómeno se da en los astronautas debido a que su esqueleto soporta menos carga durante largos periodos de tiempo por el estado de ingravidez al que se ven sometidos. Siendo este un estado de desuso en el que se produce una reabsorción neta y al regresar a la tierra presentan una estructura ósea debilitada

y un alto riesgo de fracturas. Para su adaptación realizan entrenamientos obteniendo masa ósea de manera progresiva.

Como ya se ha indicado, la ROI ocurre por la actuación coordinada y secuencial de osteoclastos y osteoblastos que avanzan formando una BMU. El avance de la BMU será distinto dependiendo del tipo de hueso en el que se desarrolle la remodelación. En el hueso cortical la BMU avanza generando un orificio, mientras que en el hueso trabecular el avance ocurre sobre la superficie de la trabécula. También presentan diferencias en la deposición del tejido nuevo (osteóide) para el hueso cortical los osteoblastos depositan lamelas concéntricas, formando así las osteonas de forma cilíndrica. Por el contrario, para el hueso trabecular la deposición de osteóide ocurre en forma de capas superpuestas. En la Figura 2.10 se muestra el avance de una BMU en cada tipo de hueso.

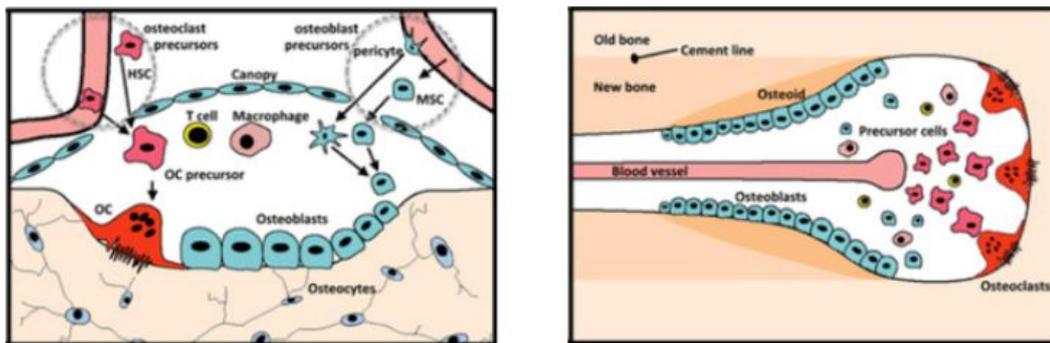


Figura 2.10 Esquema de dos BMUs: para hueso trabecular (izquierda) para hueso cortical (derecha). Adaptado de [25].

Los osteocitos desarrollan un papel fundamental en la activación de las BMUs debido a que son células mecanosensoras. Según la teoría inhibitoria de Martin [26] los osteocitos actúan enviando una señal continua que inhibiría la activación de la BMU, sin embargo, recientes teorías [27] parecen demostrar que ocurre lo contrario, los osteocitos emitirían una señal activadora en el momento que ocurriese alguna anomalía. Esta señal bioquímica es emitida a través del sistema lacuno-canalicular y su destino final son las células de borde, que se encargarían de reclutar osteoclastos.

Fases actividad de una BMU

Durante el proceso de remodelación ósea interna se dan varias etapas, estas son: activación, reabsorción, inversión, formación y fin de la adaptación [28]. En la Figura 2.11 se puede observar un esquema básico.

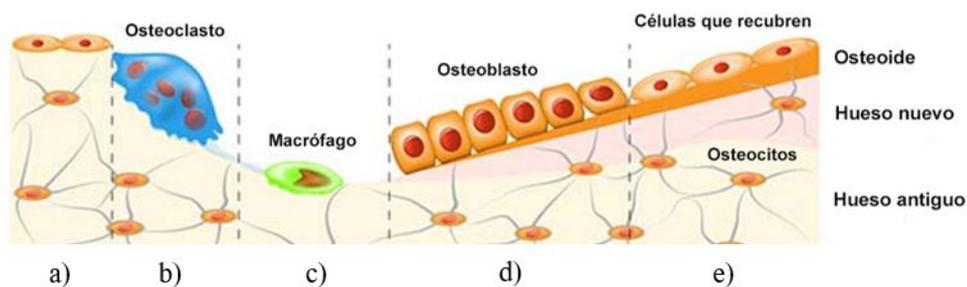


Figura 2.11 Fases durante el periodo de vida de una BMU: a) activación, b) reabsorción, c) inversión, d) formación y e) mineralización. Adaptada de [29].

Activación

El comienzo de la remodelación ocurre cuando la señal bioquímica emitida por los osteocitos llega a las células de borde, estas actúan retirándose de la superficie y segregando una proteína (RANKL) que activa al receptor RANK. Esta interacción RANKL-RANK permite la diferenciación y maduración de los osteoclastos activos, encargados de reabsorber tejido.

Reabsorción

Los osteoclastos activos se adhieren a la superficie del hueso y comienza su reabsorción. La desarrollan en dos etapas: primero solubilizan la fase mineral bajando el pH y la fase orgánica segregando catepsina K. El resultado obtenido es una cavidad conocida como laguna de *Howship*.

Inversión

La transición entre la actividad de los osteoclastos y osteoblastos no es instantánea, en los seres humanos ocurre durante un periodo aproximado de 8 días. Este periodo es de aparente inactividad.

Formación

Los osteoblastos se reclutan en la laguna generada por los osteoclastos bajo la acción de diversos factores de crecimiento y secretan el osteoide (fase orgánica).

Mineralización

Pasados unos 10 ó 20 días comienzan a aparecer los primeros cristales de hidroxapatita (fase mineral). Posteriormente estos cristales van creciendo mientras siguen apareciendo otros más pequeños, que pueden llegar a coalescer entre ellos. La mineralización ocurre de manera rápida inicialmente, pero conforme el tejido se satura de mineral se reduce la velocidad de deposición.

Fin de la adaptación

Los osteoclastos sufren apoptosis mientras los osteoblastos continúan depositando osteoide hasta completar el hueco generado por los primeros. El resultado final consiste en la generación de una osteona nueva o una laguna de *Howship* rellena de tejido con bajo contenido mineral. Los osteoblastos atrapados dentro de la matriz ósea se diferencian a osteocitos y los atrapados cerca de la superficie se diferencian en células de borde.

2.4.2 Remodelación Ósea Externa

La ROE o *bone modelling* juega un papel importante en la reparación de huesos rotos y en la adaptación del hueso a las demandas mecánicas a las que está sometido, como el ejercicio físico. En esta también tienen lugar los procesos de reabsorción y formación, pero a diferencia de la ROI estos procesos no están sincronizados necesariamente actuando las respectivas poblaciones celulares de manera independiente. Afecta en mayor medida al cambio de forma que tiene el hueso como por ejemplo durante el desarrollo en la infancia y garantiza la adquisición de la morfología y la masa óseas adecuadas durante el crecimiento. Se produce a un ritmo bajo durante toda la vida. Es necesaria tanto para la reparación ósea como para la adaptación del hueso a la carga mecánica, siendo esta última la que controla el tamaño, la estructura y la forma de los huesos [30]. Además de ralentizarse con la edad, la ROE puede verse afectada por otros factores como la nutrición y la actividad física.

La formación ósea basada en la ROE contribuye a la expansión perióstica, del mismo modo que la resorción basada en la ROE es responsable de la expansión medular que se observa en los huesos largos con el envejecimiento [31]. La Figura 2.12 representa el proceso descrito.

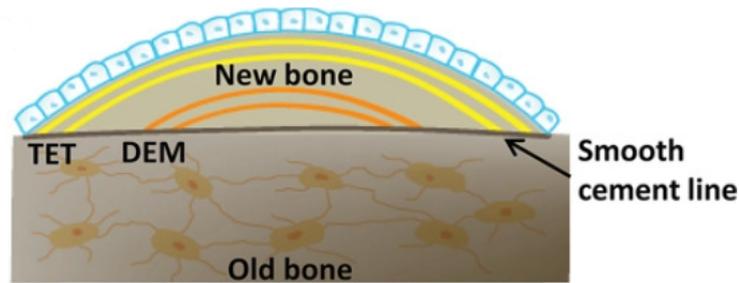


Figura 2.12 Representación del proceso de ROE. Adaptado de [32].

2.4.3 Factores bioquímicos

Aunque algunos se han mencionado levemente, se profundiza en los factores bioquímicos que influyen en el proceso de remodelación [33]:

- El RANK (*receptor activator of the nuclear factor $\kappa\beta$*), al interactuar con su ligando (RANKL) promueve la diferenciación de los osteoclastos maduros a activos, lo que supone una mayor reabsorción.
- La Osteoprotegerina (OPG) es una proteína que interacciona con el RANKL impidiendo que interactúe con el RANK, lo que produce una inhibición de la reabsorción.
- La hormona paratiroidea (PTH) inicialmente se pensaba que únicamente tenía efecto catabólico sobre el hueso favoreciendo la reabsorción, pero esto ocurre para administraciones continuas. Sin embargo, se ha demostrado que para administraciones intermitentes incrementa el número de osteoblastos y su actividad, favoreciendo la formación ósea (efecto anabólico) [34].
- El factor de crecimiento transformador ($TGF-\beta$, *transforming growth factor- β*) interactúa con los distintos tipos de células. Por un lado regula la diferenciación de los osteoblastos y por otro favorece la apoptosis de los osteoclastos.

2.5 Osteoporosis

La enfermedad de la osteoporosis tiene como consecuencia la pérdida de masa ósea. Esto se debe a desequilibrios producidos durante el proceso de remodelación asociados a la edad, así como a otros factores intrínsecos y extrínsecos que acentúan este proceso. La pérdida ósea excesiva puede ser resultado de un aumento en la actividad de los osteoclastos, una reducción en la de los osteoblastos, o una combinación de ambas. Una mayor frecuencia de activación, y por tanto un aumento del número de zonas en remodelación, puede intensificar el desequilibrio producido en cada BMU. El aumento de las zonas de remodelación produce una disminución del tejido óseo reversible, pero puede llegar a causar una pérdida permanente que rompa la configuración esquelética. En el hueso esponjoso, si los osteoclastos alcanzan las trabéculas las reabsorben sin dejar un molde para la formación del nuevo tejido, lo que genera una pérdida ósea rápida y afecta a la conectividad del hueso trabecular, un mayor número de zonas activas aumenta la probabilidad de que ocurra este fenómeno. En el hueso cortical una alta presencia de zonas activas provoca un aumento directo de la porosidad del hueso. El descenso de la deposición de nuevo tejido en la superficie perióstica en conjunto con la reducción de la masa ósea desemboca en la disminución de la resistencia mecánica de los huesos [35], aumentando la posibilidad de sufrir fracturas. En la Figura 2.13 se puede observar una comparativa entre los dos tipos de hueso en estado sano y sufriendo osteoporosis.

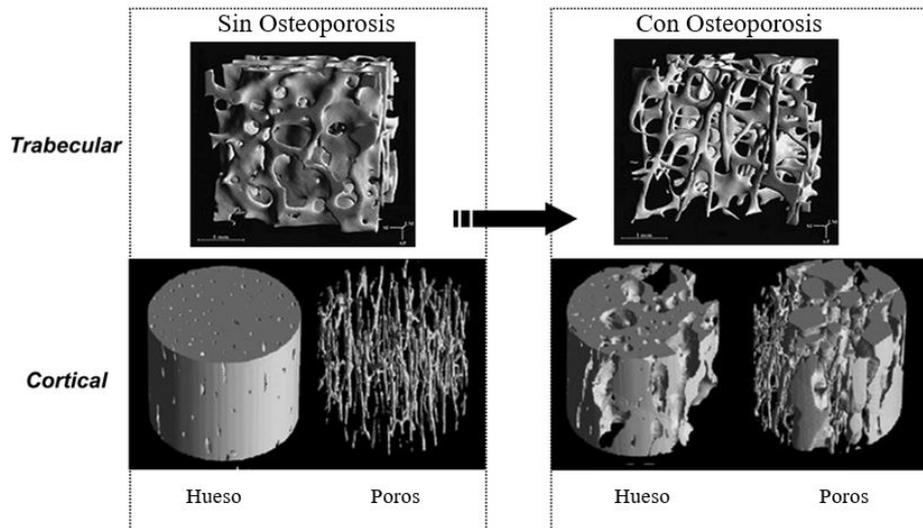


Figura 2.13 Comparativa de un hueso normal y otro con osteoporosis. Adaptada de [36].

Atendiendo a la causa productora de la osteoporosis, se pueden considerar dos grandes grupos:

Osteoporosis primaria o involutiva

Es el grupo más frecuente y su causa se asocia al transcurso de los años. Dentro de este grupo podemos distinguir [37]:

- Tipo I u Osteoporosis postmenopáusica (PMO): se da en las mujeres entre 50 y 75 años, como consecuencia del cese de la actividad ovárica. Afecta especialmente al hueso trabecular, siendo características las fracturas vertebrales por aplastamiento, las de la extremidad distal del antebrazo.
- Tipo II o senil: se produce en ambos sexos y a edades más avanzadas (mayores de 70 años). Esta pérdida no es tan acelerada como la anterior y afecta a ambos tipos de hueso por igual. La fractura característica es la de cadera, además de las de pelvis, húmero proximal y vértebras.

Es necesario recalcar que esta división en dos tipos no indica que sean dos procesos diferentes. Por el contrario, muestra momentos distintos de un mismo proceso que evoluciona con el paso de los años.

Osteoporosis secundarias

Se usa esta denominación cuando existe una causa capaz de producir el trastorno, con independencia de la menopausia y la edad. Hay diversos causantes entre los que destacan: algunas enfermedades endocrinas, gastrointestinales, hematológicas o conectivopatías, así como la inmovilización prolongada o el uso de distintos fármacos.

2.5.1 Osteoporosis Postmenopáusica

Dentro de la clasificación anterior esta es la más frecuente de todas. Se debe a una combinación del envejecimiento y de la aparición de la menopausia. El cese de la función ovárica provoca una reducción de estrógenos que produce un aumento de la producción de RANKL, un descenso de la producción de OPG y un aumento de la capacidad de respuesta de los osteoclastos al RANK [38]. Todo ello produce un aumento de la actividad osteoclástica que no se compensa con una mayor actividad osteoblástica y finalmente conduce a la pérdida de masa ósea. El tratamiento con estrógenos permite revertir esta situación [39].

Existen otros tratamientos farmacológicos para este tipo de osteoporosis, entre los que se encuentran el uso de bifosfonatos o el denosumab. Los bifosfonatos inhiben la actividad osteoclástica mediante la alteración de las interacciones entre proteínas, bloqueo de señales celulares y aumentando la apoptosis de los osteoclastos. El denosumab es un anticuerpo monoclonal (tienen como objetivo un único anticuerpo específico) que interactúa con el ligando RANKL impidiendo la unión RANK-RANKL, dificultando la diferenciación de los osteoclastos activos y por tanto la reabsorción. La administración de este último fármaco es estudiado en el modelo base del trabajo. El tratamiento habitual aprobado por la Organización Mundial de la Salud para combatir la osteoporosis postmenopáusica consiste en dosis de 60 mg inyectadas cada 6 meses. En mujeres que presentan osteoporosis postmenopáusica se ha demostrado que provoca un aumento de la masa ósea y una disminución del riesgo de sufrir fracturas [10].

En este capítulo se han comentado los conocimientos biológicos básicos y necesarios para el entendimiento del trabajo. A continuación, se expone el modelo matemático que modela el proceso de remodelación ósea interna y algunos mecanismos que influyen en el mismo.

3 Modelo Matemático

Dentro del conjunto de modelos matemáticos que se han propuesto en la literatura para simular la remodelación ósea interna se distinguen dos grupos: fenomenológicos y mecanobiológicos. Los primeros también son conocidos como modelos de "caja negra", lo que se debe a que establecen una relación matemática entre unas variables de entrada y unas variables de salida, o más concretamente a la variación de estas últimas. En la mayoría de modelos las variables de entrada son las cargas mecánicas soportadas por el hueso y las variables de salida la densidad ósea y las propiedades mecánicas, principalmente la rigidez [40, 41]. Una aplicación muy típica de los modelos de remodelación ósea fenomenológicos es la estimación de la distribución de densidad ósea en un hueso a partir de las cargas mecánicas que soporta [42] o las variaciones de densidad que produce algún cambio en el hueso como la introducción de un implante [43].

Los modelos fenomenológicos no simulan los subprocesos biológicos que forman parte del proceso global de remodelación ósea, simplemente plasman la relación causa-efecto del proceso mediante un conjunto de ecuaciones matemáticas más o menos complejas. Por el contrario, los modelos mecanobiológicos intentan describir algunos de los procesos biológicos que tienen lugar dentro del hueso, obteniendo más información de lo que ocurre y no solo los cambios producidos en las propiedades mecánicas [44, 45].

Un tipo de modelo mecanobiológico muy utilizado últimamente es el que forman los modelos basados en poblaciones celulares [46]. Las variables de estado de estos modelos son las concentraciones de las principales células y factores bioquímicos involucrados en el modelo de remodelación ósea [46, 47]. Por tanto, son capaces de describir con bastante detalle dicho proceso y resultan muy adecuados para analizar enfermedades que afecten al mismo como la osteoporosis postmenopáusica [46, 48] y los tratamientos para combatirla [47, 49]. Durante el desarrollo de este capítulo se describirá uno de estos modelos mecanobiológicos basados en poblaciones celulares, en concreto el desarrollado por Martínez-Reina y cols. [48].

3.1 Desarrollo del modelo

Este modelo fue presentando inicialmente por Pivonka et al. [5] y ha ido sufriendo modificaciones. Algunas de ellas son: la inclusión del proceso de mineralización [3], la influencia de la superficie ósea [50] o la inclusión del daño [48]. El modelo que se presenta a continuación se ha obtenido de una de las publicaciones recientes [10] e incluye las distintas modificaciones indicadas.

En primer lugar se explican los mecanismos bioquímicos que ocurren. Estos permiten la diferenciación de las células mencionadas en el Apartado 2.2.2. Los osteoclastos derivan de las células madre hematopoyéticas, en el modelo se denominan osteoclastos precursores (Oc_p), los cuales se diferenciarán a osteoclastos activos (Oc_a) gracias a la unión receptor-ligando (RANK-RANKL). Al finalizar el proceso de reabsorción sufrirán apoptosis.

Por otro lado, los osteoblastos activos (Ob_a) provienen de las células madre mesenquimales capaces de diferenciarse en varios tipos de células. En el modelo esas células mesenquimales son denominadas osteoblastos sin comprometer (Ob_u) y, una vez se diferencian a osteoblastos, se conocen como osteoblastos precursores (Ob_p), los cuales podrán diferenciarse a activos. Esta diferenciación tiene lugar gracias a factores de crecimiento (como el TGF- β) o de regulación (como el PTH). Al terminar la reabsorción sufrirán apoptosis o se diferenciarán a osteocitos (O_t).

El proceso de remodelación se puede describir como un balance celular utilizando las concentraciones celulares indicadas anteriormente: osteoblastos precursores (Ob_p), osteoblastos activos (Ob_a), osteoclastos precursores (Oc_p), osteoclastos activos (Oc_a) y osteocitos (O_t). Las concentraciones de células sin comprometer (Ob_u y Oc_u) se han asumido constantes.

$$\frac{dOb_p}{dt} = D_{Ob_u} \cdot \Pi_{act}^{TGF-\beta} \cdot Ob_u + P_{Ob_p} \cdot \Pi_{act}^{\psi_{bm}} \cdot Ob_p - D_{Ob_p} \cdot \Pi_{rep}^{TGF-\beta} \cdot Ob_p \quad (3.1)$$

$$\frac{dOb_a}{dt} = D_{Ob_p} \cdot \Pi_{rep}^{TGF-\beta} \cdot Ob_p - A_{Ob_a} \cdot Ob_a \quad (3.2)$$

$$\frac{dOc_p}{dt} = D_{Oc_u} \cdot \Pi_{act}^{RANKL} \cdot Oc_u - D_{Oc_p} \cdot \Pi_{act}^{TGF-\beta} \cdot Oc_p \quad (3.3)$$

$$\frac{dOc_a}{dt} = D_{Oc_p} \cdot \Pi_{act}^{RANKL} \cdot Oc_p - A_{Oc_a} \cdot \Pi_{act}^{TGF-\beta} \cdot Oc_a \quad (3.4)$$

$$\frac{dO_t}{dt} = \eta \cdot \frac{df_{bm}}{dt} \quad (3.5)$$

siendo:

- D_{Ob_u} , D_{Ob_p} y D_{Oc_p} las tasas o velocidades de diferenciación de Ob_u en Ob_p , Ob_p en Ob_a y Oc_p en Oc_a , respectivamente.
- P_{Ob_p} es la velocidad de proliferación de Ob_p .
- A_{Ob_a} y A_{Oc_a} son las velocidades de apoptosis de Ob_a y Oc_a , respectivamente.
- Las variables $\Pi_{act}^{TGF-\beta}$ y $\Pi_{rep}^{TGF-\beta}$ representan las funciones activadoras y represoras relacionadas con la unión entre TGF- β y su receptor.
- La variable Π_{act}^{RANKL} representa la función activadora de la unión RANK-RANKL.
- La función $\Pi_{act}^{\psi_{bm}}$ cuantifica la influencia del estímulo mecánico en la proliferación de Ob_p .
- f_{bm} es la fracción volumétrica de matriz ósea, que se desarrollará a continuación, y η es la concentración de osteocitos en el volumen de la matriz ósea.

En el modelo se asumen proporcionales el volumen reabsorbido y la concentración de osteoclastos activos así como el volumen formado y la concentración de osteoblastos activos, quedando la variación de la fracción volumétrica de matriz ósea:

$$\frac{df_{bm}}{dt} = -k_{res} \cdot Oc_a + k_{form} \cdot Ob_a \quad (3.6)$$

siendo k_{res} y k_{form} la velocidad de reabsorción de matriz ósea y la velocidad de formación de osteoide, respectivamente.

En la Figura 3.1 se muestra un esquema del proceso y en el Apéndice A se incluye el valor de los parámetros del modelo. A continuación, se desarrollan algunos de los términos presentes en las ecuaciones (3.1-3.5).

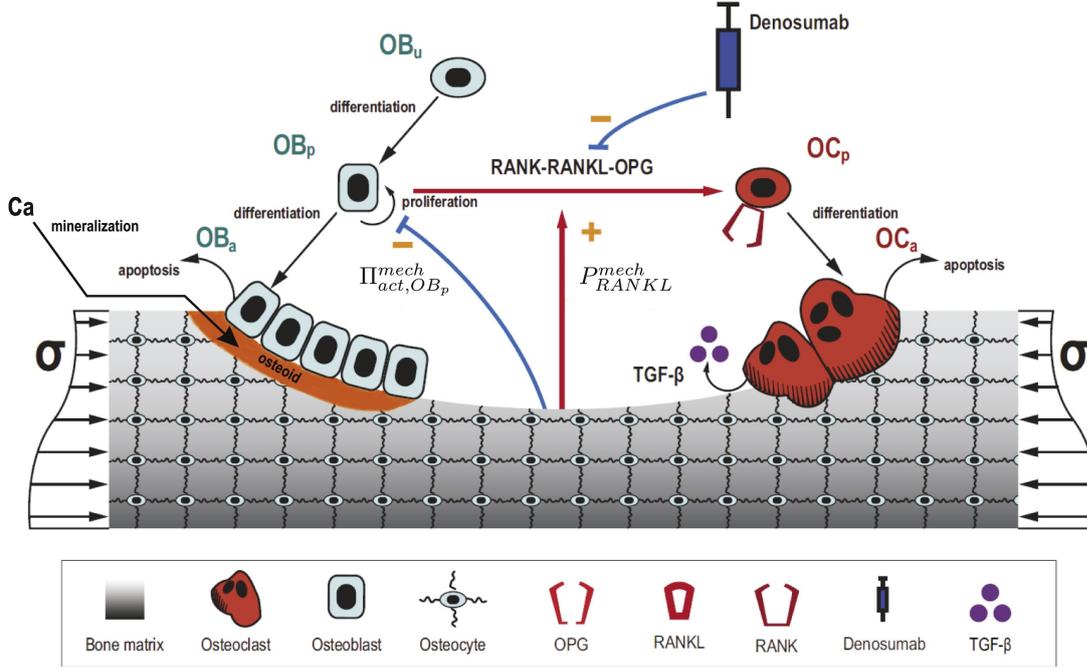


Figura 3.1 Representación esquemática del modelo con las distintas fases de diferenciación de las células, su interacción con los factores de crecimiento y regulación y la inyección externa del fármaco denosumab [10].

3.1.1 Mecanismo de regulación bioquímica

Esta regulación se tiene en cuenta mediante las funciones activadoras y represoras comentadas anteriormente. En primer lugar, la concentración de $TGF-\beta$ almacenada en la matriz y liberada durante la reabsorción por los osteoclastos se calcula [5]:

$$TGF-\beta = \frac{\alpha_{TGF-\beta} \cdot k_{res} \cdot Oc_a}{\tilde{D}_{TGF-\beta}} \quad (3.7)$$

siendo $\alpha_{TGF-\beta}$ la concentración de $TGF-\beta$ en la matriz ósea y $\tilde{D}_{TGF-\beta}$ la velocidad de degradación del $TGF-\beta$. Esta concentración es usada para definir las funciones activadora y represora de las ecuaciones (3.1-3.4):

$$\Pi_{act}^{TGF-\beta} = \frac{TGF-\beta}{K_{act}^{TGF-\beta} + TGF-\beta} \quad (3.8)$$

$$\Pi_{rep}^{TGF-\beta} = \frac{1}{1 + (TGF-\beta / K_{rep}^{TGF-\beta})} \quad (3.9)$$

donde $K_{act}^{TGF-\beta}$ y $K_{rep}^{TGF-\beta}$ las constantes de activación y represión, respectivamente. El cálculo de estas variables se realiza dentro de las rutinas de *Matlab* y *Abaqus* con la función: *FU_TGFBE*.

Para la obtención de la función activadora del RANKL se necesitan algunas concentraciones, estas se obtienen de las ecuaciones propuestas en [50]:

$$RANK = R_{RANK} \cdot Oc_p \quad (3.10)$$

$$PTH = \frac{P_{PTH} + \beta_{PTH}}{\tilde{D}_{PTH}} \quad (3.11)$$

$$OPG = \frac{\beta_{OPG} \cdot Ob_a \cdot \Pi_{rep}^{PTH}}{\tilde{D}_{OPG} + \frac{\beta_{OPG} \cdot Ob_a \cdot \Pi_{rep}^{PTH}}{OPG_{max}}} \quad (3.12)$$

La capacidad portante de RANKL en la superficie de los Ob_p y O_t ($RANKL_{eff}$) se calcula:

$$RANKL_{eff} = R_{RANKL} \cdot Ob_p \cdot \Pi_{act}^{PTH} + R_{RANKL} \cdot O_t \cdot \Pi_{act}^{dam} \quad (3.13)$$

Como se ha indicado, el denosumab actúa compitiendo con el RANK y OPG por unirse al ligando RANKL. Una de las últimas modificaciones del modelo es la inclusión del término asociado al fármaco en la ecuación (3.14) realizado por Martínez-Reina et al. [46].

$$RANKL = RANKL_{eff} \cdot \frac{\beta_{RANKL} + P_{RANKL}}{\beta_{RANKL} + \tilde{D}_{RANKL} \cdot RANKL_{eff}} \cdot \left[1 + \frac{OPG}{K_{d,[RANKL-OPG]}} + \frac{RANK}{K_{d,[RANKL-RANK]}} + \frac{\zeta \cdot C_{p,den}}{K_{d,[RANKL-den]}} \right]^{-1} \quad (3.14)$$

A continuación, se indican los significados de los términos presentes en las ecuaciones:

- R_{RANK} es la capacidad de producción de RANK por parte de los Oc_p .
- β_{OPG} , β_{RANKL} y β_{PTH} son las velocidades de producción endógenas de OPG , $RANKL$ y PTH , respectivamente.
- Π_{rep}^{PTH} y Π_{act}^{PTH} las funciones activadora y represora de la hormona paratiroidea PTH . Estas se calculan de manera similar a las ecuaciones (3.8) y (3.9):

$$\Pi_{act}^{PTH} = \frac{PTH}{K_{act}^{PTH} + PTH} \quad (3.15)$$

$$\Pi_{rep}^{PTH} = \frac{1}{1 + (PTH/K_{rep}^{PTH})} \quad (3.16)$$

siendo K_{act}^{PTH} y K_{rep}^{PTH} las constantes de activación y represión, respectivamente.

- \tilde{D}_{OPG} , \tilde{D}_{RANKL} y \tilde{D}_{PTH} son las velocidades de degradación del OPG , $RANKL$ y PTH , respectivamente.
- $RANKL_{eff}$ es la capacidad portante de $RANKL$, tal como se ha definido anteriormente en la ecuación (3.13).
- Π_{act}^{dam} factor que regula la producción de RANKL en función del daño. Este se calcula:

$$\Pi_{act}^{dam} = \frac{d^\xi}{d^\xi + \delta_{50}^\xi} \quad (3.17)$$

donde d es el daño, ξ el factor de forma y δ_{50} el valor del daño para el que se produce un 50% de la respuesta máxima. El valor de estos parámetros se indica en el Apéndice A adjunto al final del trabajo y en el código se modela con la función: FU_DAM_RANKL .

- P_{RANKL} producción extra de $RANKL$ debida al desuso o a la enfermedad, cada uno de los cuales contribuye con un término a su cálculo:

$$P_{RANKL} = P_{RANKL}^{mech} + P_{RANKL}^{PMO} \quad (3.18)$$

El primer término se explicará en el Apartado 3.1.2 y está asociado al estímulo mecánico, mientras que el segundo término es consecuencia de la menopausia. Como se ha comentado antes esta favorece la producción de $RANKL$, que permite una mayor diferenciación de Oc_a . Además se debe tener en cuenta que este efecto se incrementa con el tiempo. Para modelar este efecto Martínez-Reina et al. [48] usan una función sigmoïdal:

$$P_{RANKL}^{PMO}(t) = P_{RANKL}^{PMO,max} \cdot \frac{(t - t_{onset})^2}{(t - t_{onset})^2 + \delta_{PMO}^2} \quad \text{para } t > t_{onset} \quad (3.19)$$

siendo $P_{RANKL}^{PMO,max}$ la velocidad de producción de $RANKL$ máximo asociado a la osteoporosis postmenopáúica, t_{onset} indica el comienzo de la enfermedad y δ_{PMO} es una constante que indica el instante temporal en el que se alcanza el 50% de la producción máxima ($P_{RANKL}^{PMO,max}$). Se incluye en el código con la función: $FU_LOADCASE$ esta función realiza distintas acciones dependiendo del valor del parámetro $LoadCase$.

- $K_{d,[RANKL-OPG]}$, $K_{d,[RANKL-RANK]}$ y $K_{d,[RANKL-den]}$ son las constantes de disociación entre el $RANKL$ y OPG , $RANK$ y el fármaco denosumab.
- $C_{p,den}$ es la concentración de denosumab en el compartimento central (suero sanguíneo) y ζ es el factor de accesibilidad, que en el modelo farmacocinético controla la cantidad de fármaco del compartimento central que está disponible en el compartimento hueso.

Finalmente, a partir de las ecuaciones anteriores, se puede obtener la función activadora de la ecuación (3.4):

$$\Pi_{act}^{RANKL} = \frac{RANKL \cdot RANK}{K_{d,[RANKL-RANK]} + RANKL \cdot RANK} \quad (3.20)$$

Por último, hay que indicar que para el cálculo de la concentración y funciones asociadas al PTH se usa: FU_PTH y para $RANK$, OPG y $RANKL$ se usa: FU_RANKL .

3.1.2 Mecanismo de regulación biomecánica

El modelo incluye la respuesta biológica al estímulo mecánico propuesta por Frost [24]. Esta teoría postula la existencia de cuatro zonas o *windows* en función del valor de la tensión mínima efectiva (*Minimally Effective Strain*, MES). En la Figura 3.2 se representan las cuatro zonas mencionadas.

- 1) *Disuse window* (DW) Estado de desuso, se produce una reabsorción neta.
- 2) *Adapted window* (AW) Zona de adaptación, no se produce modificación.
- 3) *Mild overload window* (MOW) Zona de sobrecarga leve, se produce una formación neta.
- 4) *Pathologic overload window* (POW) Zona de sobrecarga alta, fractura.

En el modelo para un estado estímulo mecánico alto se producirá un incremento de Ob_a , esto se ve reflejado en la ecuación (3.1) por el término Π_{act}^{vbm} , que provocará un aumento directo de la proliferación de Ob_p e indirecto en la concentración de Ob_a . En caso de un estímulo bajo, se producirá un aumento en la producción de $RANKL$ (a partir del término P_{RANKL}) que producirá una mayor cantidad de Oc_a .

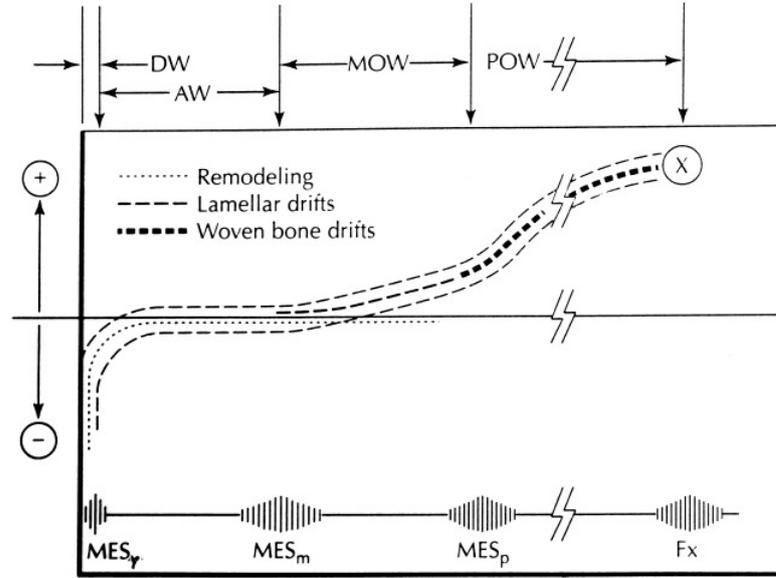


Figura 3.2 Teoría del Mecanostato [24].

Ambos parámetros mencionados dependen de la densidad de energía de deformación (SED, ψ_{bm}) presente en la zona del hueso. Esta, para estados uniaxiales de deformación se calcula:

$$\psi_{bm} = \frac{1}{2} \cdot E \cdot MES^2 \quad (3.21)$$

siendo E el módulo de Young, dependiente de la densidad y del daño acumulado. En primer lugar se indica el cálculo de la densidad. Esta cambia como consecuencia de la variación de la porosidad y por la mineralización:

$$\rho_t = \frac{m}{V_{bm}} = \rho_m \cdot v_m + \rho_o \cdot v_o + \rho_w \cdot v_w \quad (3.22)$$

donde m y V_{bm} son la masa y el volumen ocupado por la matriz ósea, y v_m , v_o , v_w , ρ_m , ρ_o y ρ_w son los volúmenes específicos y densidades de las fases presentes: mineral, orgánica y agua. El volumen de la fase orgánica se asume constante ($v_o=3/7$) [51]. Por el contrario, los volúmenes de las fases mineral y agua (v_m y v_w) no son constantes, el cálculo de la variación se detallará posteriormente (Apartado 3.1.4). Finalmente, la densidad del tejido óseo se calcula:

$$\rho = \frac{m}{V_{bm}} \cdot \frac{V_{bm}}{V_{RVE}} = \rho_t \cdot f_{bm} \quad (3.23)$$

A continuación se obtiene el daño acumulado en la matriz ósea. La aparición del daño se debe a la fatiga y este daño se reduce con la reabsorción del tejido y la generación del nuevo, por tanto:

$$\dot{d} = \dot{d}_A - \dot{d}_R \quad (3.24)$$

siendo \dot{d}_A la velocidad de acumulación de daño por fatiga y \dot{d}_R la velocidad de reparación de daño por remodelación. Se asume que el daño está uniformemente distribuido en un volumen representativo del elemento, así la cantidad de daño reparado es:

$$\dot{d}_R = d \cdot \frac{k_{res} \cdot Oc_a}{f_{bm}} \quad (3.25)$$

El daño producido es evaluado a partir del trabajo desarrollado por García et al. [52] y Pattin et al. [53]. Los ensayos experimentales de fatiga proporcionan la evolución del daño con la tensión o

deformación y el número de ciclos:

$$N_f = \frac{K_i}{\varepsilon^{\delta_i}} \quad i=c(\text{compresión}),t(\text{tensión}) \quad (3.26)$$

donde N_f es la vida a fatiga en número de ciclos, K_i una constante y ε la deformación. El valor de estos parámetros ha sido determinado en varios estudios [52] y se incluyen en el Apéndice A localizado a final del trabajo. Con las ecuaciones anteriores se puede obtener el valor del daño:

$$d_c = -\frac{1}{\gamma_c} [\ln(1 - C_c \varepsilon^{\delta_c} N)] \quad (3.27)$$

$$d_t = 1 - \left[\frac{1}{C_{t2}} \ln(e^{C_{t2}} - C_{t1} \varepsilon^{\delta_t} N) \right]^{\frac{1}{\gamma}} \quad (3.28)$$

siendo N el número de ciclos y:

$$\begin{aligned} \gamma_c &= -5.238 \cdot (\varepsilon - 6100) \cdot 10^{-3} + 7; & C_c &= \frac{1 - e^{-\gamma_c}}{K_c} \quad \text{para compresión} \\ \gamma_t &= -0.018 \cdot (\varepsilon - 4100) + 12; & C_{t1} &= \frac{e^{C_{t2}} - 1}{K_t} \quad \text{para tracción} \end{aligned}$$

Finalmente, a partir de la correlación de Beaupré se puede obtener el valor del módulo de Young:

$$E(\rho, d) = \begin{cases} 2014 \cdot \rho^{2.5} \cdot (1 - d) & \text{para } \rho < 1.2g/cm^3 \\ 1763 \cdot \rho^{3.2} \cdot (1 - d) & \text{para } \rho \geq 1.2g/cm^3 \end{cases} \quad (3.29)$$

donde se ha multiplicado en la correlación de Beaupré por $(1-d)$ para tener en cuenta la degradación de las propiedades por el daño. Con los desarrollos indicados queda totalmente definida la SED y se continúa indicando los términos que implementan la Teoría del Mecanostato de Frost [24] en el modelo. Para estados de desuso:

$$P_{RANKL}^{mech} = \begin{cases} P_{RANKL}^{mech,max} \cdot \left(1 - \frac{\psi_{bm}}{\psi_r}\right) & \text{para } \psi_{bm} < \psi_r \\ 0 & \text{para } \psi_{bm} \geq \psi_r \end{cases} \quad (3.30)$$

siendo $P_{RANKL}^{mech,max}$ el valor máximo de producción de $RANKL$ por desuso y ψ_r es el valor de la energía de deformación límite que provoca una producción de $RANKL$ por desuso. Para los estados de sobrecarga:

$$\Pi_{act}^{\psi_{bm}} = \tilde{\Pi}_{act,Obp}^{mech} \cdot \left[1 + \lambda \cdot \left(\frac{\psi_{bm}}{\tilde{\psi}_{bm}} - 1\right)\right] \begin{cases} \lambda = 0 & \text{para } \psi_{bm} \leq \tilde{\psi}_{bm} \quad (\text{Carga normal}) \\ \lambda = 1.25 & \text{para } \psi_{bm} > \tilde{\psi}_{bm} \quad (\text{Sobrecarga}) \end{cases} \quad (3.31)$$

donde $\tilde{\psi}_{bm}$ es el valor límite de SED entre una carga normal y una sobrecarga.

En el código empleado el daño se calcula a partir de la función: FU_DANO , las propiedades mecánicas con $MECH_PROP$ y las variables que modelan la Teoría del Mecanostato con FU_MECH .

3.1.3 Degradación de las propiedades a fatiga por el contenido mineral

El aumento de la fase mineral provoca un aumento de la rigidez, pero también de la fragilidad, afectando a las propiedades a fatiga del hueso. La variación de estas propiedades de fatiga con el

contenido de mineral se modela con las propuestas realizadas por Mat3nez-Reina et al. [54] bajo las cuales las propiedades a fatiga se degradan con el aumento del contenido mineral:

- La forma de las curvas d-N, modeladas con las ecuaciones (3.27) y (3.28) se mantienen a pesar de los cambios en el contenido mineral.
- Solo la vida a fatiga se ve afectada por la variaci3n del contenido mineral, variando K_t y manteniendo constante el exponente δ_t en la ecuaci3n (3.26). Esto modifica C_{t1} (ecuaci3n (3.1.2)) para aumentos de K_t se alarga la vida a fatiga y se reduce el da1o acumulado.
- El l3mite a fatiga se establece en 10^7 ciclos. Normalmente, este l3mite se alcanza para un valor 3ltimo de la fracci3n de la deformaci3n a tracci3n ϵ_u/β , donde β depende del tipo de material (se toma $\beta = 2$ siguiendo [54]) y K_t se calcula a partir de la ecuaci3n (3.26):

$$K_t([Ca]) = 10^7 \cdot \left(\frac{\epsilon_u([Ca])}{\beta} \right)^{\delta_t} \quad (3.32)$$

- ϵ_u depende de la concentraci3n de calcio. En la Figura 3.3 se refleja esta dependencia. El c3lculo de ϵ_u se obtiene a partir de los resultados experimentales proporcionados por Currey [55]:

$$\log \epsilon_u = 31.452 - 11.341 \cdot \log[Ca] \quad (3.33)$$

pudi3ndose calcular la concentraci3n de calcio [Ca] a partir de la fracci3n de ceniza: $[Ca] = 398.8 \cdot \alpha$. Esta fracci3n de ceniza se define como el cociente entre la masa de mineral (o masa de ceniza) y la masa seca (suma de las masas de las fases org3nica y mineral):

$$\alpha = \frac{m_m}{m_m + m_o} = \frac{\rho_m \cdot V_m}{\rho_m \cdot V_m + \rho_o \cdot V_o} \quad (3.34)$$

donde $\rho_m = 3.2g/cm^3$ [55], $\rho_o = 1.2g/cm^3$ y sabiendo que los vol3menes espec3ficos: $v_o = V_o/V_{bm}$, $v_m = V_m/V_{bm}$ y $v_w = V_w/V_{bm}$, lo que implica $v_o + v_m + v_w = 1$. La ecuaci3n (3.35) queda entonces:

$$\alpha = \frac{\rho_m \cdot v_m}{\rho_m \cdot v_m + \rho_o \cdot v_o} \quad (3.35)$$

3.1.4 Algoritmo de mineralizaci3n 3sea

Como se indic3 en el apartado anterior, los vol3menes org3nicos y mineral no permanecen constantes. Para el c3lculo de los mismos el modelo emplea las ecuaciones propuestas por Mart3nez-Reina et al. [3]. El proceso de mineralizaci3n consta de varias fases, comenzando por una fase de latencia en la que no se deposita mineral, seguida de una fase primaria en la que el volumen mineral aumenta linealmente y una fase secundaria en la que la velocidad de deposici3n del mineral decrece conforme el tejido se satura de mineral:

$$v_m(t) = \begin{cases} 0 & \text{para } t \leq t_{mlt} \\ v_{m,prim} \cdot \frac{t - t_{mlt}}{t_{prim}} & \text{para } t_{mlt} < t \leq t_{prim} + t_{mlt} \\ v_{m,max} - (v_{m,max} - v_{m,prim}) \cdot e^{-k \cdot (t - t_{m,prim} - t_{mlt})} & \text{para } t_{prim} + t_{mlt} < t \end{cases} \quad (3.36)$$

donde t_{prim} y t_{mlt} representan el tiempo de retraso de la mineralizaci3n y la fase primaria, respectivamente; $v_{m,prim}$ es el volumen espec3fico mineral al final de la primera fase ($\alpha = 0.45$); $v_{m,max}$ es

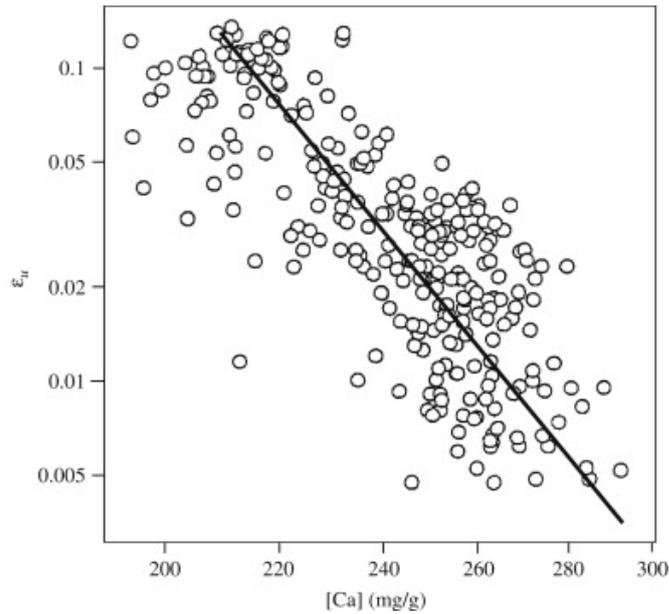


Figura 3.3 Relación entre la deformación última a tensión y la concentración de calcio [3].

el volumen mineral asociado al contenido máximo de calcio (300 mg/g); y κ es un parámetro que representa la velocidad de deposición mineral durante la fase secundaria.

La mineralización del tejido depende del tiempo, siendo el tejido más antiguo el que presenta mayor contenido mineral. La cantidad de tejido de diferentes edades contenido en un volumen representativo del elemento (RVE) se estima siguiendo el esquema de la Figura 3.4.

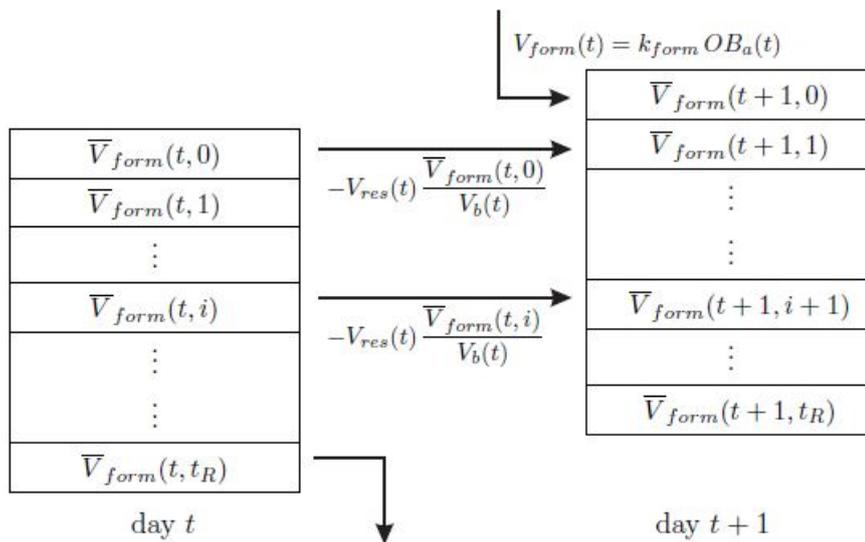


Figura 3.4 Algoritmo empleado para la distribución del tejido de diferentes edades. Se usa un sistema FIFO (first in-first out) [46].

$\bar{V}_{form}(t, \tau)$ indica el volumen de tejido formado hace τ días y todavía presente en el tiempo t . Conociendo la distribución del tejido de distintas edades el día t (columna de la izquierda) y conocido el volumen formado y reabsorbido ese día se puede obtener la distribución para el día $t+1$

(columna de la derecha):

$$\bar{V}_{form}(t+1, i+1) = \bar{V}_{form}(t, i) - V_{res}(t) \cdot \frac{\bar{V}_{form}(t, i)}{V_b(t)} \quad (3.37)$$

El contenido mineral se estima como la media del contenido mineral en el RVE el día $t+1$:

$$v_m(t+1) = \frac{\sum_{i=0}^{t_R} \bar{V}_{form}(t+1, i) \cdot v_m(i)}{V_b(t+1)} \quad (3.38)$$

siendo t_R el tiempo de residencia. Esta variable depende del volumen reabsorbido y formado, que debe ser igual para estados de equilibrio. Para reducir el coste computacional, la cola de la Figura 3.4 se trunca el día $i = t_c$ ($t_c < t_R$). Se asume que el volumen de tejido formado hace t_c días mineraliza instantáneamente llegando al contenido de mineral máximo. Esto es una aproximación pero para valores de t_c suficientemente elevados el efecto de la aproximación es despreciable.

Con este algoritmo se obtiene el valor del volumen de la fase mineral, al considerar el volumen de la fase orgánica constante y sabiendo la relación ya expuesta: $v_o + v_w + v_m = 1$, el volumen de agua queda determinado.

3.1.5 Modelado del fármaco denosumab

Entre los distintos modelos matemáticos que simulan la acción del fármaco denosumab, el modelo usado por Martínez-Reina et al. [10] se basa en el propuesto por Marathe et al. [56]. La ecuación (3.39) modela la variación de la concentración de denosumab con el tiempo. En ella se distingue: un término formado por una constante (k_a) que gobierna la absorción del fármaco desde la inyección subcutánea hasta el compartimento central ($C_{p,den}$, V_c) y otro término que modela la reducción del fármaco en el compartimento central. La eliminación del fármaco en el compartimento central se modela a través de la combinación de un término lineal (k_{el}) y uno no lineal asociado al proceso de saturación (V_{max} , K_m):

$$\frac{dC_{p,den}}{dt} = k_a \cdot \frac{Dose_{den}}{V_c/F} \cdot e^{-k_a t} - \frac{C_{p,den}}{K_m + C_{p,den}} \cdot \frac{V_{max}}{V_c/F} - k_{el} \cdot C_{p,den} \quad (3.39)$$

siendo $C_{p,den}$ la concentración de denosumab en el compartimento central, V_c es el volumen de dicho compartimento y F la biodisponibilidad, siendo esta unidad cuando el fármaco se administra por vía intravenosa; $Dose_{den}$ es la cantidad de fármaco administrada en una inyección. Los valores de los parámetros se indican en el Apéndice A y en el código se implementa con la función *DENOSUMAB*.

3.2 Limitaciones del modelo de poblaciones celulares

Una vez presentado el modelo matemático junto con el desarrollo de los distintos mecanismos reguladores que incorpora, es relevante comentar algunos aspectos de este que aclararán la finalidad del trabajo.

Como se ha mencionado anteriormente, las BMUs presentan varias fases durante su periodo de vida. Estas son: reabsorción, inversión, formación y quiescencia o reposo. El modelo matemático tiene en cuenta la reabsorción y formación de tejido óseo, presentando las simulaciones las dos primeras fases mencionadas. Pero al considerarse proporcional la reabsorción de tejido óseo y concentración de Oc_a , así como la formación de tejido óseo y la concentración de Ob_a , el único caso en el que tendría lugar una fase de reposo sería cuando las concentraciones celulares tomasen valor nulo. Este modelado dista del proceso real ya que, como se mencionó en el Capítulo 2, para que se desarrollen los procesos de reabsorción o formación es necesario un reclutamiento de Oc_a

u Ob_a . Es decir, hasta que no hay una concentración relevante de las poblaciones celulares que desempeñan los procesos no tienen lugar los mismos.

Otra limitación que presenta asociada a las fases presentes en la vida de una BMU es la coordinación de las mismas. La reabsorción y formación de tejido óseo se estudian de manera independiente a pesar de que estas etapas tienen lugar con cierto desfase temporal entre ellas. Si se modelase el avance de una BMU las fases ocurrirían en el siguiente orden: en primer lugar sucede la reabsorción, continuando un periodo de aparente reposo que finaliza con el comienzo de la formación. Sin poder llegar a ocurrir simultáneamente la reabsorción y formación de tejido óseo en una zona concreta del hueso.

Es un modelo local, no tiene en cuenta las distintas BMUs presentes en el espacio ni los sucesos que tienen lugar en el dominio cercano a cada BMU. Para que una BMU pueda activarse deben darse una serie de condiciones en su entorno. La primera fase que tiene lugar cuando se activa una BMU es la reabsorción, por ello la primera condición necesaria para su activación consiste en que la concentración de Oc_a sea suficiente para poder desarrollar el proceso. Dos BMUs no pueden pertenecer a un mismo entorno y estar activas simultáneamente, esto nos indica la segunda condición necesaria. Por último, una BMU activa presenta la mayor concentración de Oc_a en su entorno, esto se debe a que cuando una BMU se activa los Oc_a de las BMUs cercanas se desplazan para contribuir a la reabsorción en esa zona activa.

Los aspectos mencionados anteriormente alejan el comportamiento simulado del proceso real, por ello se realizarán distintas modificaciones cuya finalidad pretende solventar alguno de los problemas mencionados.

3.3 Implementación en Abaqus

Se han indicado algunas de las funciones empleadas, pero en este apartado se realizarán algunos comentarios sobre el programa utilizado y la estructura del código principal.

3.3.1 Estructura y comentarios sobre el código principal

El código principal se encuentra formado por varias subrutinas. Estas permiten el modelado de comportamientos no estándar de materiales, como por ejemplo, la aplicación de modelos de degradación usados para el estudio de materiales compuestos o en el campo de la Biomecánica permiten el modelado de las propiedades mecánicas de los tejidos. Las rutinas empleadas en este trabajo son:

- *UEXTERNALDB*: En función del valor de una variable (*LOP*) realiza distintas acciones. En el código se usa para cargar archivos y actualizar variables. La llamada a esta subrutina se realiza varias veces durante el análisis, en concreto: al comenzar del análisis, al comienzo de cada incremento y final de cada incremento.
- *SDVINI*: asigna el valor inicial a las variables de estado definidas, que en *Abaqus* se denominan *STATEV*. Únicamente se realiza la llamada al comienzo del análisis.
- *UMAT*: define la matriz de comportamiento de un material definido por el usuario usando elementos de *Abaqus* y actualiza el valor de las tensiones. Para su funcionamiento es necesario proporcionar la matriz jacobiana del modelo del material. En el código se obtiene a partir de la función *STIFFNESS*. Se utiliza en cada incremento y en ella se realiza las llamadas a las funciones ya mencionadas.

En la Figura 3.5 se muestra un esquema básico del proceso realizado por el código general.

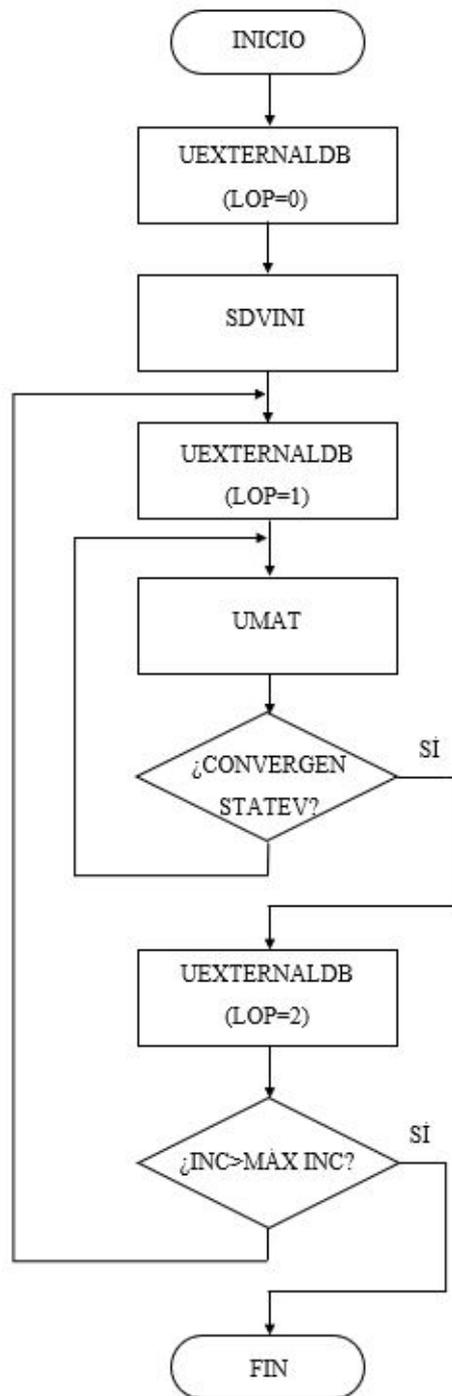


Figura 3.5 Diagrama de flujo del código general.

En este capítulo se ha expuesto el modelo matemático y se han desarrollado los mecanismos que forman parte del mismo y las distintas modificaciones incluidas a lo largo del tiempo. También se ha comentado alguna de las limitaciones que presenta el modelo las cuales pretende solventar este trabajo y pueden servir para estudios futuros y, finalmente, se indican algunos aspectos de su implementación en el programa de *Abaqus*.

En los capítulos siguientes se desarrolla la implementación del modelo matemático expuesto con las adaptaciones llevadas a cabo en los algoritmos de remodelación ósea desarrollados.

4 Modificaciones del modelo de remodelación ósea interna

En el presente capítulo se adapta el modelo de poblaciones celulares presentado en el Capítulo 3 para simular la acción de las BMUs. Estas modificaciones pueden dividirse siguiendo dos enfoques o estudios. En primer lugar, se realiza un enfoque local en el que se modela como un proceso intermitente la diferenciación de células precursoras a maduras, tanto para los osteoclastos como los osteoblastos. De esta forma se obtienen las fases que tienen lugar en el periodo de vida de una BMU: reabsorción, inversión, formación y quiescencia. En segundo lugar, se realiza un estudio no local en el que se considera la interacción con las BMUs vecinas.

La vida de una BMU comienza cuando los osteoclastos precursores se diferencian y fusionan para formar osteoclastos maduros multinucleados en un sitio óseo determinado. Estas células maduras primero solubilizan el mineral mediante la secreción de ácidos y luego descomponen el colágeno desmineralizado expuesto mediante la secreción de cisteína-proteinasas colagenolíticas lisosomales dentro de sus bordes erizados [57], creando así una cavidad de reabsorción (lagunas de Howship) que puede crecer en ciertas direcciones [58]. Tiempo después de que haya cesado la reabsorción en dicho lugar, los osteoblastos precursores se diferencian en osteoblastos activos y comienzan a formar el tejido óseo. Estas células secretan osteoide, compuesto principalmente de colágeno y agua y posteriormente mineralizado, y siguen a los osteoclastos, rellenando así la cavidad de reabsorción y cerrando el ciclo de remodelación ósea [1].

El lapso entre estas fases catabólica y anabólica, denominado fase de inversión, puede durar desde 8-9 días [59, 60] hasta varias semanas [61, 62]. En primer lugar, la superficie ósea expuesta es preparada por células del linaje osteoblástico que eliminan la matriz colágena no mineralizada y depositan una fina capa no colágena denominada “línea de cemento” que mejora la adherencia osteoblástica [63]. La razón por la que los osteoblastos son reclutados exactamente donde y cuando los osteoclastos han eliminado la matriz ósea ha dado lugar a numerosas investigaciones [64, 65, 66, 67, 68]. Estas investigaciones han identificado una serie de moléculas osteogénicas que probablemente sean liberadas por los osteoclastos, incluyendo factores de crecimiento almacenados en la matriz ósea y solubilizados a través de la actividad de reabsorción [61]. Las células diana de estos factores osteogénicos no pueden ser los osteoblastos activos, que están alejados de los osteoclastos que están llevando a cabo la reabsorción. Estas señales llegan primero a las células más cercanas a los osteoclastos, entre ellas: i) las células de revestimiento óseo, que se han retraído para formar un dosel y dar acceso a los osteoclastos a la matriz ósea; y ii) las células mononucleadas de la médula ósea denominadas células de reversión [69]. Estas células reversas aparecen alargadas con núcleos aplanados cerca de los osteoclastos y más cuboidales cerca de los osteoblastos. En ambos sitios, estas células de inversión son positivas para el marcador osteoblástico Runx2 y negativas para marcadores monocíticos, incluidos los marcadores de osteoclastos [69]. Por lo tanto, se podría

suponer que pertenecen al linaje osteoblástico y podrían ser progenitores de osteoblastos.

Uno de esos factores osteogénicos implicados en la fase de inversión es el TGF- β , como se ha comentado en capítulos anteriores, se encuentra almacenada en la matriz ósea y es liberada por la reabsorción ósea. De este factor se sabe que favorece la apoptosis de los osteoclastos y la diferenciación de los precursores a activos para a población celular de osteoblastos. Por otro lado, regula a la baja la diferenciación de los osteoblastos maduros [70]. En vista de estos efectos, el TGF- β podría coordinar la transición entre la reabsorción y la formación en un determinado sitio óseo, ya que hace que aumente el conjunto de precursores de osteoblastos.

4.1 Modelo de estudio local

El modelo matemático expuesto en el capítulo anterior, modela todos los procesos de diferenciación de manera continua. De esta forma, no se producen las distintas fases presentes en la vida de una BMU. Para solventar esta limitación la diferenciación de las células precursoras se modela como un proceso intermitente basado en la disponibilidad de células precursoras y el daño acumulado. Se establecen unos umbrales que permiten la diferenciación sólo si la población celular se encuentra en un rango determinado. A continuación, se reflejan las ecuaciones que modelan el balance celular expuestas anteriormente con los términos incorporados. La Figura 4.1 esquematiza el modelo implementado. A diferencia del expuesto en el capítulo anterior no se tiene en cuenta el efecto del fármaco denosumab ni la osteoporosis. Esto se hace para realizar un primer ajuste del modelo.

$$\begin{aligned} \frac{dOb_p}{dt} = & D_{Ob_u} \cdot Ob_u \cdot \Pi_{act}^{TGF-\beta} + P_{Ob_p} \cdot Ob_p \cdot \Pi_{act,Ob_p}^{mech} \cdot K_{Ob_p} \\ & - D_{Ob_p} \cdot Ob_p \cdot \Pi_{rep}^{TGF-\beta} \cdot F_{Ob_p} \end{aligned} \quad (4.1)$$

$$\frac{dOb_a}{dt} = D_{Ob_p} \cdot Ob_p \cdot \Pi_{rep}^{TGF-\beta} \cdot F_{Ob_p} - A_{Ob_a} \cdot Ob_a \quad (4.2)$$

$$\frac{dOc_p}{dt} = D_{Oc_u} \cdot Oc_u \cdot \Pi_{act}^{RANKL} - D_{Oc_p} \cdot Oc_p \cdot \Pi_{act}^{RANKL} \cdot F_{Oc_p} \quad (4.3)$$

$$\frac{dOc_a}{dt} = D_{Oc_p} \cdot Oc_p \cdot \Pi_{act}^{RANKL} \cdot F_{Oc_p} - A_{Oc_a} \cdot Oc_a \cdot \Pi_{act}^{TGF-\beta} \quad (4.4)$$

El factor K_{Ob_p} es una función de saturación que impide la proliferación de precursores de osteoblastos si su población supera un determinado valor Ob_p^{max} . Se introduce siguiendo a [72].

$$K_{Ob_p} = \begin{cases} 1 - \frac{Ob_p}{Ob_p^{max}} & \text{si } Ob_p < Ob_p^{max} \\ 0 & \text{si } Ob_p \geq Ob_p^{max} \end{cases} \quad (4.5)$$

La principal novedad es la inclusión del concepto de disponibilidad celular, un fenómeno introducido a partir de los umbrales por el que se supone la diferenciación de precursores en células maduras ocurre sólo cuando la población de los primeros alcanza un determinado umbral superior y continúa hasta que dicha población cae por debajo de un umbral inferior. Así, se definen dos variables binarias F_{Ob_p} y F_{Oc_p} para activar ($F_X = 1$, con $X=Oc_p$ o Ob_p) o desactivar ($F_X = 0$) la diferenciación de células precursoras de osteoblastos y de osteoclastos, respectivamente:

$$\text{si } Ob_p > Ob_p^{up,th} \longrightarrow F_{Ob_p} = 1 \quad \text{hasta} \quad Ob_p < Ob_p^{low,th} \longrightarrow F_{Ob_p} = 0 \quad (4.6a)$$

$$\text{si } Oc_p > Oc_p^{up,th} \longrightarrow F_{Oc_p} = 1 \quad \text{hasta} \quad Oc_p < Oc_p^{low,th} \longrightarrow F_{Oc_p} = 0 \quad (4.6b)$$

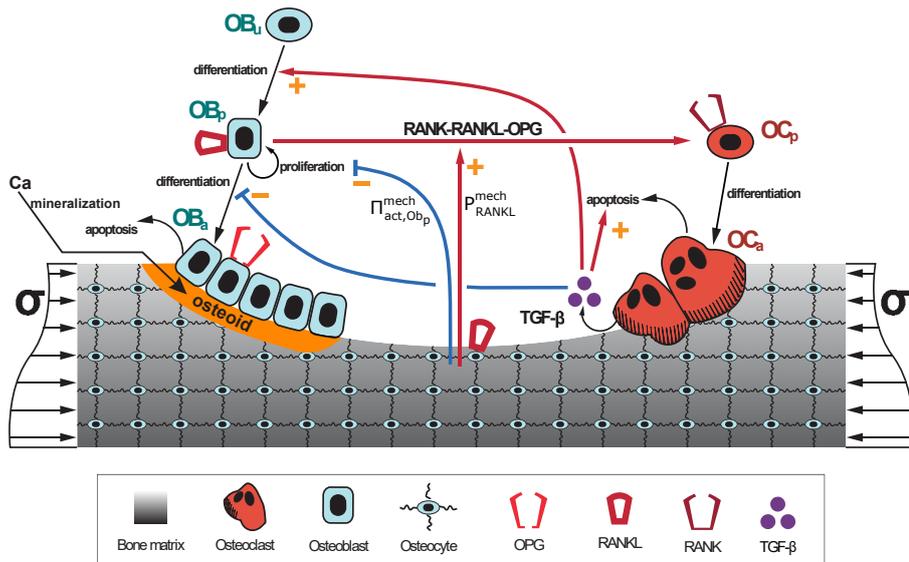


Figura 4.1 Esquema del modelo implementado con los distintos estados de diferenciación de las poblaciones celulares y las interacciones con los factores de regulación [71].

Es interesante destacar que en la ecuación (4.5) $Ob_p^{max} > Ob_p^{up,th}$. Por lo tanto, siguiendo las Ecuaciones (4.6a) y (4.6b), las células precursoras se acumulan hasta que su población alcanza el umbral superior, momento en el que comienzan a diferenciarse en sus respectivas formas maduras y activas. La diferenciación continúa hasta que la reserva de células precursoras desciende el umbral inferior, lo que implica que la concentración no es suficiente para garantizar la continuidad del proceso y en ese momento se detiene la diferenciación. A continuación, la concentración de células precursoras puede volver a aumentar si se dan los factores ambientales necesarios y puede iniciarse un nuevo ciclo de remodelación si se vuelve a alcanzar el umbral superior.

De esta forma se logra la aparición de las fases de reabsorción y formación evitando que se modelen como un proceso continuo lo que difiere del proceso real. Como se comentó anteriormente, la actuación de una BMU es sincronizada, presentando varias fases ordenadas temporalmente, en concreto, ocurre un ciclo de formación seguido de un periodo de aparente inactividad celular conocido como inversión al que continúa un ciclo de formación. Esta sincronización se logra gracias al efecto regulador del $TGF-\beta$, el cual favorece la apoptosis de los osteoclastos activos y el reclutamiento de osteoblastos precusores, es decir, su liberación implica que el ciclo de reabsorción se corte y que los osteoblastos precusores se acumulen para comenzar un ciclo de formación.

El modelo matemático adaptado descrito anteriormente puede aplicarse en un volumen representativo (RVE, *Representative volume element*) para reproducir las diferentes fases de una BMU aislada que actúe localmente dentro del RVE. Sin embargo, si el RVE es lo suficientemente grande como para albergar varias BMUs, modelar la activación discreta de una sola BMU deja de tener sentido y, lo que es más importante, las interacciones entre esas BMUs no pueden modelarse como se ha planteado en este trabajo. Por esta razón, debe considerarse un dominio 3D en el que se tengan en cuenta estas interacciones. En concreto, se propone una malla de elementos finitos tridimensional con un enfoque no local, en el que cada elemento es lo suficientemente pequeño como para albergar como máximo una BMU. De este modo, el movimiento de la BMU también puede modelarse cambiando el elemento que contiene la BMU en cada momento.

4.2 Modelo de estudio no local

En el enfoque local abordado anteriormente, únicamente ha de cumplirse que las concentraciones de células precursoras superen cierto umbral para que comience la diferenciación a células maduras. Analizando el entorno que rodea a una BMU, es decir, en el volumen óseo próximo al lugar en donde se está desarrollando una reabsorción o formación activa se dan otras condiciones adicionales a la local definida previamente. En este enfoque no local se proponen una serie de restricciones que modelen la interacción de las BMUs con el entorno cercano y con otras BMUs existentes. La hipótesis de partida es que una BMU no se activará si ya hay una existente que está avanzando en la vecindad. En su lugar, el coste metabólico de una nueva activación se emplea en "alimentar" la BMU ya existente con el reclutamiento de más células progenitoras en los lugares de reabsorción y formación, respectivamente.

Una consideración previa sobre el modelado en elementos finitos que hay que tener en cuenta es que el algoritmo se implementa en cada punto de integración de la malla, por ello, en adelante las alusiones a las restricciones se realizan a puntos de integración y no elementos.

El entorno cercano o vecindad definido para cada PI se define como una esfera en torno a cada PI (la Figura 4.2 esquematiza la vecindad definida) siguiendo el algoritmo propuesto por [73].

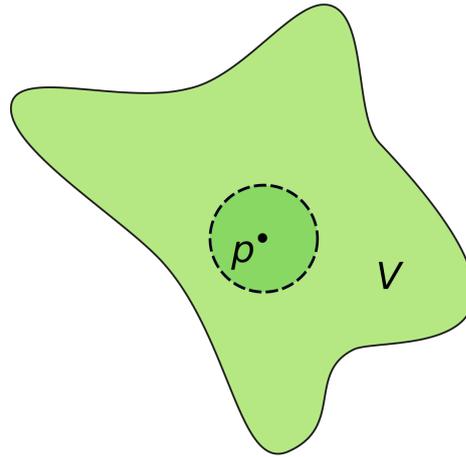


Figura 4.2 Representación de la vecindad de un punto dentro del dominio completo [74].

Para un PI dado, p , se define una vecindad de PIs, NBH^p , por los PIs contenidos en una esfera de radio R centrada en p :

$$NBH^p = \{i \in (\text{PIs de una malla de EF}), i = 1, \dots, N_p; \text{ tal que } \|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_p\| \leq R\} \quad (4.7)$$

donde \mathbf{r}_i denota la posición del PI i . A continuación, se distinguen los frentes de reabsorción y formación de la BMU. Para ello, se definen dos variables de estado en cada PI: estado de reabsorción, RS , y estado de formación, FS , de forma que:

$$RS = \begin{cases} 1 & \text{si este PI es el frente de reabsorción} & \implies & F_{Oc_p} = 1 \\ 2 & \text{la reabsorción está activa pero el PI no es el frente} & \implies & F_{Oc_p} = 1 \\ 0 & \text{la reabsorción está inactiva en este PI} & \implies & F_{Oc_p} = 0 \end{cases} \quad (4.8)$$

$$FS = \begin{cases} 1 & \text{si este PI es el frente de formación} & \implies F_{Ob_p} = 1 \\ 2 & \text{la formación está activa pero el PI no es el frente} & \implies F_{Ob_p} = 1 \\ 0 & \text{la formación está inactiva en este PI} & \implies F_{Ob_p} = 0 \end{cases} \quad (4.9)$$

A continuación, se describe el procedimiento para establecer si un proceso (ya sea de reabsorción o de formación) está activo o inactivo en un determinado PI en el instante t_a . Es importante señalar que la reabsorción y la formación se tratan por separado. Por esta razón, en el procedimiento siguiente, las variables de estado se designan como XS , donde X puede representar R o F .

1. En primer lugar, los PIs de la malla se ordenan de mayor a menor concentración de precursores Oy_p , donde y representa b o c según el proceso que se active. En los pasos siguientes, los PI se analizarán en este orden. La razón de ello se explica detalladamente en la Figura 4.3.

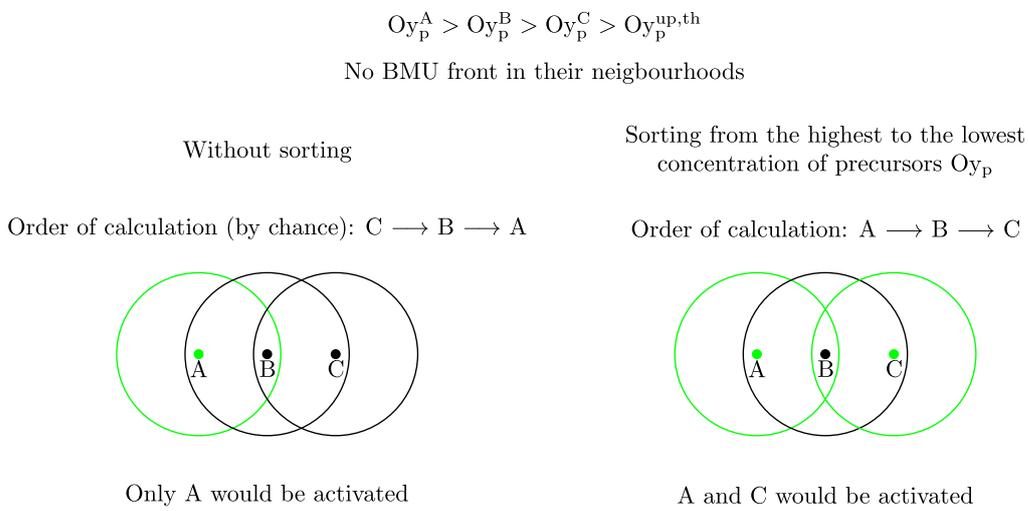


Figura 4.3 Justificación de la clasificación de los PIs de mayor a menor concentración de precursores. Los PIs que se activarían se representan en verde. Si existiera un gradiente de concentración de precursores ($Oy_p^A > Oy_p^B > Oy_p^C > Oy_p^{up,th}$), los PI que se activarían dependerían del orden en que el software EF analizara los PI. Si este orden fuera por casualidad C,B,A (izquierda), sólo se activaría el PI A. Primero se analiza C, pero el algoritmo detecta que B (que está dentro de NBH^C) alberga el máximo de Oy_p dentro de NBH^C e impide la activación en C. A continuación, se analiza B, pero aquí la activación se ve impedida por el máximo de Oy_p dentro de NBH^B , que se produce en A. Por lo tanto, sólo se activa A. Ordenando los PIs por Oy_p , es decir, A,B,C (derecha), se evita esta aleatoriedad y se activarían tanto A como C, ya que $C \notin NBH^A$ [71].

2. Para cada PI j se comprueba si la vecindad NBH^j contiene otro PI con un frente ya activo (es decir, si $XS=1$ para t_{a-1}). Si no, el PI j se incluye en el subconjunto de candidatos a la activación, C . Si hay otro PI en NBH^j con un proceso activo, se debe impedir la activación y este PI j se excluye del subconjunto de candidatos, C .
3. La concentración de células precursoras Oy_p en el PI j es la más alta en NBH^j .
4. La concentración de células precursoras Oy_p supera el umbral superior correspondiente, es decir, $Oy_p > Oy_p^{up,th}$.

Estas son las condiciones para la activación de un nuevo proceso. Una vez activado, la progresión de cada proceso a lo largo de la malla está sujeta al cumplimiento de los siguientes criterios, de lo contrario el frente no se moverá:

5. La concentración de células precursoras (osteoclastos u osteoblastos) del PI de destino debe estar por encima del umbral superior de diferenciación correspondiente.
6. El PI de origen es el frente actual. El PI de destino debe estar dentro de la vecindad del PI de origen.
7. El PI con la mayor concentración de células precursoras dentro de esa vecindad es el primer PI de destino. En consecuencia, esta concentración también debe ser mayor que la del origen.
8. En este punto la BMU puede ramificarse y otro PI de destino puede convertirse en un nuevo frente si se cumplen las tres condiciones anteriores y si este segundo PI de destino no está dentro de la vecindad del primer PI de destino. Podrían aparecer múltiples ramificaciones, pero las condiciones son muy difíciles de cumplir y no se ha observado que ocurra en las simulaciones realizadas.

Si se cumplen estos criterios, los PIs de destino se convierten en los nuevos frentes ($XS=1$) y el PI de origen se convierte en un simple punto activo $XS=2$. Hay que señalar que no está garantizada una progresión suave de la BMU. En efecto, la BMU podría teóricamente saltar uno o varios PI si el radio de la vecindad abarca más de 2 elementos, lo que constituiría una limitación del modelo que puede evitarse eligiendo un radio R suficientemente pequeño.

9. Un determinado proceso se desactiva en un PI si la concentración de células precursoras (osteoclastos u osteoblastos) cae por debajo del umbral inferior de diferenciación. En este caso XS pasa de 1 ó 2 a 0.

La activación de una BMU comienza cuando los primeros osteoclastos se diferencian a activos (es decir, cuando se supera el umbral superior $Oc_p^{up.th}$ y $F_{Oc_p} = 1$) en un PI de una vecindad en el que no había ninguna otra BMU existente. En este PI, RS pasa a ser igual a 1.

Para resumir el algoritmo, cada proceso (reabsorción o formación) se activa en el punto en el que la concentración de precursores es mayor para proceder a la diferenciación de precursores a células activas. Esta diferenciación durará hasta que se desactive, cuando la concentración de precursores esté por debajo del umbral inferior. Teniendo en cuenta la ecuación (4.3), un aumento de la producción de RANKL provocará un aumento de la concentración de precursores de osteoclastos. Una posible razón de ese aumento de RANKL es la acumulación de daño microestructural [48] a través del factor Π_{act}^{dam} . De esta manera, una de las razones por las que el frente de reabsorción de la BMU se mueve en este modelo es para reparar zonas muy dañadas, de acuerdo con la teoría de la remodelación ósea [76]. Por otro lado, la concentración de precursores de osteoblastos aumentará en las zonas sobrecargadas, ya que el término de proliferación de la ecuación (4.1) está regulado por la mecanotransducción a través del factor $\Pi_{act}^{\psi_{bm}}$. También aumentará Ob_p en las zonas en las que se haya producido recientemente una reabsorción, ya que los osteoclastos liberan TGF- β de la matriz ósea y esto favorece la diferenciación de los osteoblastos no comprometidos en células precursoras de osteoblastos a través de $\Pi_{act}^{TGF-\beta}$ (véase ecuación (4.1)). Por lo tanto, el frente de formación de la BMU seguirá el camino previamente establecido por los osteoclastos hasta que se desactive la formación, permitiendo así las diferentes fases en orden secuencial: activación, reabsorción, inversión, formación y quiescencia. De esta forma, se obtiene el acoplamiento de ambos procesos y la secuencia correcta sin imposición, sino que surgen como resultado del modelo.

El papel del TGF- β en esta secuencia es primordial, como se verá más adelante en los resultados. Su concentración en el compartimento óseo se rige por la siguiente ecuación diferencial en el modelo original [70]:

$$\frac{d[TGF - \beta]}{dt} = P^{TGF-\beta} + \alpha_{TGF-\beta} \cdot k_{res} \cdot Oc_a + \tilde{D}_{TGF-\beta} \cdot [TGF - \beta] \quad (4.10)$$

donde:

- $P^{TGF-\beta}$ es la producción externa de TGF- β .
- El segundo término del lado derecho representa la liberación de TGF- β de la matriz ósea a través de la reabsorción ósea.
- $\alpha_{TGF-\beta}$ la concentración de TGF- β en la matriz ósea.
- $\tilde{D}_{TGF-\beta}$ es la tasa de degradación del TGF- β .

Se ha considerado que no existe ningún aporte externo de TGF- β ($P^{TGF-\beta}=0$). Este estado estacionario conduce a la ecuación:

$$[TGF - \beta] = \frac{\alpha_{TGF-\beta} \cdot k_{res} \cdot Oc_a}{\tilde{D}_{TGF-\beta}} \quad (4.11)$$

Implementación del algoritmo en código

Previamente se han comentado las condiciones implementadas que incorporan la interacción de una BMU con su entorno. A la hora de trasladar las condiciones impuestas se busca la optimización del algoritmo para reducir el coste computacional. Por ello, las condiciones descritas anteriormente no se implementan en el mismo orden descrito o de la manera indicada.

A continuación, se describe el proceso que realiza el código y algunas de las funciones desarrolladas. Para la explicación se recurre a la Figura 4.4 en la que se muestra el diagrama que resume el algoritmo programado en *Abaqus*.

Antes de desarrollar la codificación del algoritmo es interesante destacar que el código se implementa en la subrutina *UEXTERNALDB* para $LOP=2$. Esto quiere decir que se llama a esta función, y por tanto se implementa el algoritmo, al final del incremento lo que implica que se trabaje con las variables de estado convergidas. Realizar esto difiere y optimiza el proceso implementado en el trabajo final de grado realizado anteriormente en el que el código se implementaba dentro de la subrutina *UMAT* lo cual aumenta el tiempo de computación en caso de no converger las variables en el incremento.

Una vez comentado este aspecto, se desarrolla la implementación. En primer lugar, se evalúan los PIs que presentan la bandera activa de algún proceso, de manera que si su concentración es inferior al umbral inferior establecido se desactiva la bandera. Para esto se realiza un bucle recorriendo los PIs (Véase la Figura 4.4 *Deactivation process*).

A continuación, se ordenan los PIs en función de la concentración de precursores. Para ello, se utiliza la función *MAXNEIGHB* que recibe la posición de la variable de estudio y devuelve un vector auxiliar (AUX, para la segunda X=C o B) con la posición de los PIs ordenados en función de la variable. Este proceso se realiza tanto para los osteoclastos como los osteoblastos.

Una vez realizado lo anterior, se implementan los procesos de activación de la BMU o avance de la misma. Para ello, se realiza un bucle recorriendo los PIs en el orden reflejado en los vectores auxiliares e implementando la condición de superar el umbral y presentar la bandera de diferenciación inactiva, lo que implica ser un candidato para una posible activación de una BMU. En caso de cumplirse esta condición, se estudia la vecindad del PI a partir de la función *FINDFLAG2*. Esta función recibe el PI que cuya vecindad se analiza, la bandera del proceso estudiado, la población de estudio y devuelve una bandera que indica si se activa el proceso analizado y la variable activación BMU. El proceso que realiza la función definida es recorrer la vecindad del PI analizado evaluando si existe algún vecino con la bandera de diferenciación activa (lo que implica que la variable BMU sea devuelta con valor nulo) y comparando las concentraciones de la población celular estudiada.

En el caso de que algún vecino presente una concentración superior, la bandera será devuelta con valor nulo y dejará de recorrer la vecindad lo que reduce el tiempo de simulación (Véase la Figura 4.4 *Advance conditions for ZAV*).

Por otro lado, si no se cumple la condición de superar el umbral y no presentar la bandera activa, se evalúa un posible avance de la BMU. En el caso de presentar la bandera activa se recorre la vecindad del punto evaluando si en su vecindad existe algún PI que presente una concentración de la población celular de estudio mayor. Este análisis se realiza a partir de la función *FINDFLAG* la cual recibe el PI de estudio y las posiciones de la bandera y concentración analizadas. También devuelve el nuevo valor de la variable avance BMUs. Esta tomará valor uno si es el frente de proceso o, si la concentración de un vecino con la bandera activa es superior, valor dos manteniendo el proceso de diferenciación activo pero no será el frente de reabsorción o formación (Véase la Figura 4.4 *Second differentiation stage*).

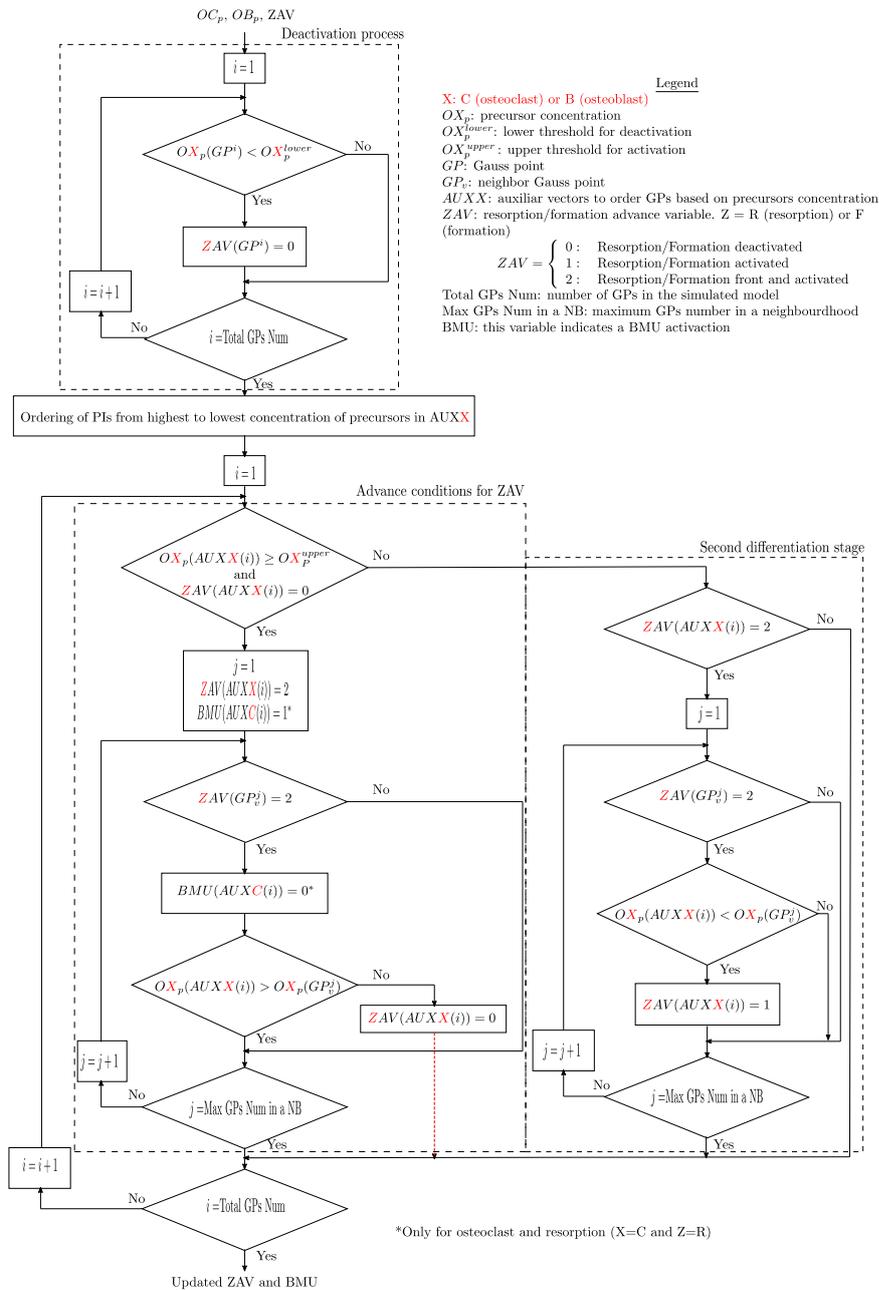


Figura 4.4 Diagrama de flujo del algoritmo desarrollado.

4.3 Modelo de elementos finitos

El nuevo modelo desarrollado se aplicó en un dominio 3D (véase la figura 4.6). Este modelo fue generado a partir de *Matlab* y consiste en un paralelepípedo de dimensiones $0,9 \times 0,9 \times 1,8 \text{ mm}^3$ (véase la figura 4.6). La malla está compuesta de 6750 elementos isoparamétricos hexaédricos de ocho nodos, con integración reducida (un punto de integración por elemento, denominado C3D8R en la *ABAQUS Element Library* véase Figura 4.5).

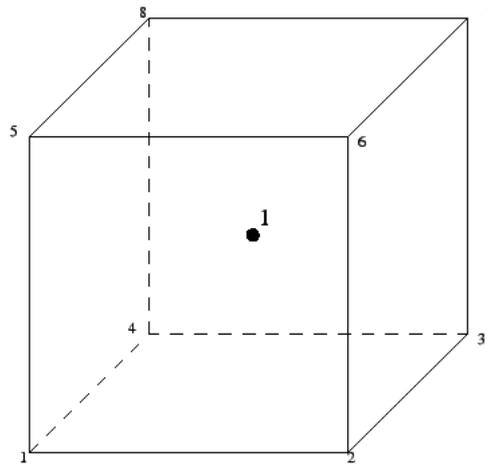


Figura 4.5 Elemento de ocho nodos con integración reducida [75].

Todos los hexaedros son regulares de lado $60 \mu\text{m}$. La elección de este tamaño se basó en el hecho de que una BMU progresa a un ritmo entre $20 \mu\text{m/día}$ [76] y $40 \mu\text{m/día}$ [1]. Además, el modelo corresponde a una pieza de hueso trabecular que se analiza a mesoescala, es decir, desde el punto de vista de la Mecánica de los Medios Continuos y sin considerar su microestructura, aunque teniendo en cuenta la variación espacial de f_{bm} a través de la estructura trabecular a mesoescala. Para ello, también es adecuado un tamaño de elemento de $60 \mu\text{m}$.

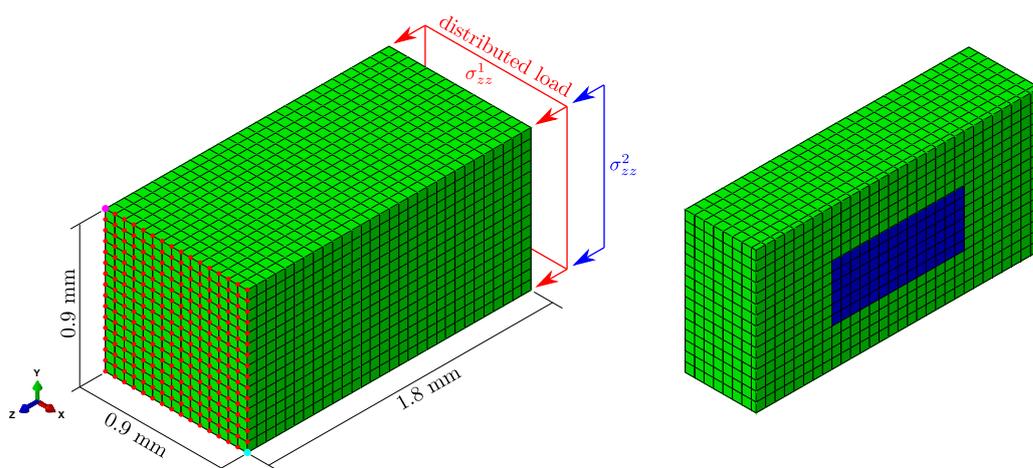


Figura 4.6 Modelo de EF utilizado para las simulaciones. A la derecha, el modelo está cortado para mostrar en azul una sección YZ del dominio en estudio, que abarca una profundidad de 6 elementos en la dirección X y está centrada a lo largo de esta dirección.

Se seleccionó un subdominio de este modelo (azul en la Figura 4.6 izquierda), lo suficientemente alejada de las condiciones de contorno y de las cargas concentradas (aplicación de principio de Saint-Venant), para evaluar los resultados. Este subdominio es un paralelepípedo compuesto por 504 elementos (6 x 6 x 14) y situado en el núcleo del modelo. En lo sucesivo, esta subregión se denominará subdominio de estudio.

En primer lugar se realizó un análisis de sensibilidad de algunos parámetros siguiendo el enfoque local para entender cómo afecta la variación de los mismos y a continuación se ajustó el modelo completo (enfoque no local).

Una vez evaluado el modelo no local se han simulado dos casos: una situación de homeostasis, o equilibrio, y un modelo que incluye una región muy dañada. Para la situación de homeostasis se analizaron tres casos de carga para el modelo completo: compresión uniaxial ($\sigma_{zz}^1 = -0,5$ MPa), tensión uniaxial ($\sigma_{zz}^1 = +0,5$ MPa) y compresión más flexión ($\sigma_{zz}^1 = -0,5$ MPa y $\sigma_{zz}^2 = -1,33$ N/mm, de modo que las tensiones longitudinales oscilan entre -0,2 y -0,8 MPa). Las condiciones de contorno se eligieron para garantizar un estado de tensión uniaxial uniforme en los dos primeros casos. En concreto, el desplazamiento Z de todos los nodos de una cara (puntos rojos, ver Figura 4.6 izquierda); los desplazamientos Z e Y en una esquina (punto azul) y los desplazamientos Z y X en la esquina opuesta (punto magenta) fueron restringidos para evitar los movimientos de cuerpo rígido. Estas mismas condiciones de contorno se aplicaron al caso de compresión más flexión.

A continuación, se explican los casos simulados:

Homeostasis

El primer objetivo era investigar si se puede alcanzar una situación de homeostasis en la malla de EF bajo las condiciones de carga especificadas anteriormente. Las condiciones iniciales impuestas a cada elemento se obtuvieron de la siguiente manera. En primer lugar, se ejecutó el modelo continuo de poblaciones celulares anterior [48] en un RVE bajo una compresión uniaxial de 0,5 MPa, de forma similar a lo realizado por Smit y Burger en [77]. Esta carga se aplicó durante un periodo de tiempo lo suficientemente largo como para alcanzar un estado de equilibrio u homeostático. Los valores de todas las variables en este estado se impusieron como condiciones iniciales uniformes excepto para la fracción volumétrica ósea (f_{bm}), el daño y la concentración de Oc_p , que se perturbaron. En concreto, se asignó aleatoriamente a los elementos un valor dentro de un cierto rango: $[2,5 \cdot 10^{-6}, 3,5 \cdot 10^{-6}]$ para el daño inicial, $[0,5 \cdot 10^{-4}, 1,5 \cdot 10^{-4}]$ pM para la concentración inicial de Oc_p y $[10,80]$ % para la f_{bm} inicial, con un valor medio en torno al 40%. Como ya se ha indicado, el modelo de EF representa un trozo de hueso trabecular analizado a mesoescala. Cada elemento finito actúa como el RVE en el análisis actual, pero la distribución de f_{bm} a través de la malla debe responder de la variación espacial de la fracción de volumen óseo dentro de la estructura trabecular a mesoescala. Por esta razón, el valor de f_{bm} en elementos individuales puede estar fuera del rango normal para el hueso trabecular, aunque en una escala mayor (macroscópica, por ejemplo todo el modelo de EF o unas decenas de elementos) su promedio sí corresponde al hueso trabecular.

El objetivo de esas perturbaciones era partir de una situación más realista que una distribución uniforme de todas las variables. Tres fuentes de desviación de la homeostasis están implícitas en este procedimiento:

1. El equilibrio en el modelo de poblaciones celulares no coincide necesariamente con el de una malla EF 3D, ya que en esta última se implementan restricciones para la activación, el movimiento y la desactivación de las BMUs.
2. Las condiciones iniciales no son uniformes debido a la asignación aleatoria de f_{bm} , el daño y Oc_p .
3. Un valor $f_{bm} = 40$ % puede no corresponder a la porosidad en equilibrio con 0.5 MPa, pero esto pondrá a prueba la capacidad del modelo para alcanzar la situación homeostática cambiando f_{bm} con el tiempo.

El segundo objetivo es evaluar si las distintas fases del ciclo de la BMU y sus duraciones ocurren correctamente, así como la frecuencia de activación de la BMU. La duración media de los periodos de reabsorción y formación se define como el tiempo medio necesario para completar la reabsorción y la formación óseas, respectivamente, en un punto determinado (PI en este estudio). La duración media del periodo de inversión se define como el tiempo medio transcurrido entre el final de la reabsorción y el inicio de la formación en un punto determinado. Por último, el periodo de quiescencia se define como el tiempo medio transcurrido entre el final de la formación y el comienzo del siguiente ciclo de reabsorción, es decir, el periodo en el que no se produce remodelación en el punto considerado.

La frecuencia de activación se define de dos formas diferentes en la literatura, basándose en mediciones 3D o 2D [78]. La primera, expuesta por Frost en 1964 [79], define la frecuencia de activación como el número de BMUs activadas por unidad de volumen y unidad de tiempo. Desde esta perspectiva, el observador seguiría la progresión de la BMU desde la activación de los primeros osteoclastos hasta el cese completo de la formación de osteoblastos. La definición 2D surge de los estudios histomorfométricos, en los que se utilizan secciones histológicas para caracterizar el proceso. En este caso, se cuenta una activación tras la aparición de una BMU en la sección estudiada. Las técnicas basadas en la histología siguen siendo la referencia actual para analizar la microestructura ósea. Aunque están surgiendo muchos métodos prometedores para medir los parámetros de las BMUs en 3D, los autores no han encontrado ningún estudio que haya obtenido experimentalmente una frecuencia de activación 3D. [81] y [82] proporcionaron ecuaciones para relacionar la frecuencia de activación en 2D y 3D, aunque advirtieron que las ecuaciones dependen de parámetros difíciles de estimar y que no se miden en detalle. En el trabajo presentado se indica la frecuencia de activación 3D, que puede calcularse fácilmente en un modelo de EF, aunque no puede compararse con los resultados experimentales en 2D. A efectos de validación, también se ha estimado la frecuencia de activación 2D como la inversa del tiempo total del ciclo de la BMU.

Por último, también se estudió la influencia del TGF- β en el proceso de remodelación. Como ya se ha comentado, el TGF- β es una citocina que podría desempeñar un papel clave en la coordinación de la reabsorción y la formación en un determinado lugar óseo. Para evaluar su efecto, se analizó un caso especial que simulaba la ausencia de TGF- β , es decir, si no se liberaba TGF- β de la matriz ósea a través de la reabsorción o, de forma equivalente, $\alpha_{TGF-\beta} = 0$ (véase la ecuación (4.10)).

Región con elevada presencia de daño

Las siguientes simulaciones pretenden demostrar la capacidad del modelo actual para simular la reparación del daño microestructural tal, hipótesis principal de la remodelación ósea dirigida. Se considera una región altamente dañada estableciendo una línea de cinco elementos a lo largo de la dirección z en el núcleo del modelo con un nivel de daño mucho mayor que el resto del dominio y un gradiente de daño como se muestra en la Figura 4.7. El daño, d , es una variable en el rango $[0,1]$ que está relacionada con la degradación de la rigidez, de modo que $d = 0$ representa un elemento intacto (sin daños), mientras que $d = 1$ representa un fallo local. Pattin et al. [83] demostraron experimentalmente, en ensayos de fatiga realizados en muestras de hueso cortical, que $d \sim 0,01$ representa de hecho un nivel de daño elevado, ya que el fallo por fatiga puede producirse unos pocos ciclos después de haber alcanzado ese valor, dependiendo de la carga aplicada. El objetivo consiste en evaluar si una BMU se activa en el elemento con mayor daño y progresa a lo largo del gradiente de daño para reparar, o al menos reducir, el nivel de daño.

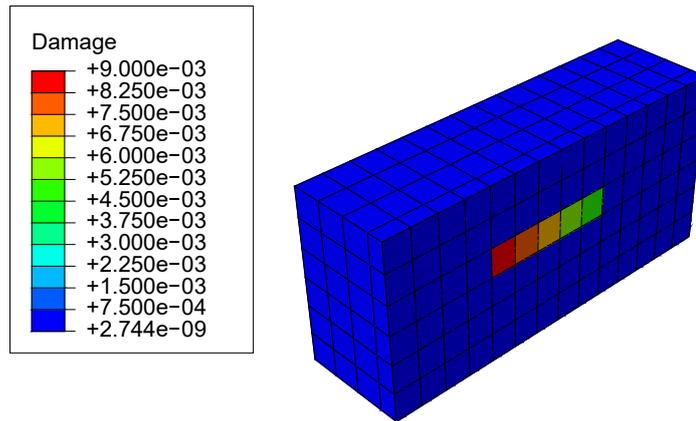


Figura 4.7 Distribución inicial del daño para la simulación llevada a cabo (vista cortada por un plano medio del subdominio de estudio donde se evalúan los resultados).

Inclusión del efecto de la Osteoporosis y del fármaco denosumab

Con el modelo ajustado y los resultados validados con respecto a los reflejados en la literatura, se procede a la inclusión del efecto de la osteoporosis. Como se comentó en el capítulo anterior, la osteoporosis es una enfermedad que se caracteriza por una disminución de la densidad ósea debido a una mayor reabsorción de tejido óseo por parte de los osteoclastos. Para simular su efecto en el modelo, se libera una mayor concentración de RANKL, una proteína clave en el proceso de remodelación ósea, lo que aumenta la diferenciación y actividad osteoclástica y favorece una mayor reabsorción, reduciendo el volumen óseo neto. El modelo de EF simulado será el mismo que para las simulaciones anteriores y para el caso de compresión. El efecto de la enfermedad se modela como un incremento lineal en el RANKL, debido a una mejor evolución de la pérdida de densidad ósea comparado con los resultados expuestos en la literatura:

$$P_{RANKL}^{PMO}(t) = K_{RANKL}^{PMO} \cdot (t - t_{onset}) \quad \text{para } t > t_{onset} \quad (4.12)$$

siendo K_{RANKL}^{PMO} una constante, la cual se ajustará para que la pérdida de densidad ósea se asemeje a la obtenida en los resultados clínicos. Una vez realizado el ajuste se analizarán los resultados obtenidos para la frecuencia de activación y la duración que presenta cada una de las fases.

A continuación, partiendo de los resultados de la simulación anterior se incluye el efecto del tratamiento con el fármaco denosumab. Este fármaco, como se comentó anteriormente, se encuentra dentro del grupo de los antiresortivos lo que reduce la actividad osteoclástica. De nuevo, la simulación llevada a cabo se realiza para el caso de compresión uniaxial.

5 Resultados

En este capítulo, se presentan detalladamente los resultados obtenidos de las simulaciones realizadas. En primer lugar, se exponen las conclusiones obtenidas de un análisis de sensibilidad, realizado según el enfoque local, que permite evaluar el impacto de los diferentes parámetros sobre el comportamiento del modelo. Posteriormente, se presentan las simulaciones realizadas desde el enfoque global en el que se implementan las condiciones que tienen en cuenta el entorno cercano e interacción entre las BMUs, lo que permitirá una evaluación más completa del comportamiento del modelo en situaciones más complejas y cercanas a la realidad.

5.1 Análisis de sensibilidad del modelo local

Este análisis consiste en la variación de algunos parámetros del modelo para evaluar su influencia en las diferentes fases y ciclos de remodelación. De esta forma, se profundiza en el entendimiento del funcionamiento del modelo.

Durante el análisis de sensibilidad se identificaron varios parámetros críticos que afectan significativamente al comportamiento del modelo. Los resultados obtenidos de esta evaluación serán el punto de partida que permita ajustar y mejorar el modelo completo (enfoque no local), facilitando la obtención de los resultados deseados.

5.1.1 Consideraciones previas

Antes de exponer los efectos producidos por la variación de los parámetros del modelo es interesante comentar que los resultados expuestos se han obtenido en una situación de homeostasis o equilibrio entre los procesos de reabsorción y formación. Para verificar este estado, se ha estudiado la evolución de la fracción volumétrica ósea (f_{bm}), teniendo que presentar esta una tendencia constante en el tiempo.

Los resultados obtenidos en el dominio de estudio se exportaron del programa *Abaqus* y se analizaron a partir de un archivo de *Matlab*. Este código permite cargar las variables de interés, en concreto: el volumen óseo reabsorbido (RBV), el volumen óseo formado (FBV), la variable activación de BMU y la fracción volumétrica de densidad ósea (f_{bm}). Estos datos permiten el cálculo de la duración de cada fase, la frecuencia de activación de las BMUs y la representación de la evolución de f_{bm} . Para la representación de la misma se realiza un promediado entre los elementos del dominio de estudio y posteriormente una media móvil para diversas ventanas de tiempo que permita observar la evolución global en el dominio de estudio. A continuación, se comenta el procedimiento para los cálculos realizados:

Cálculo de la duración de las fases

- Tiempo de reabsorción (T_R): se considera que comienza un ciclo de reabsorción en un elemento cuando el valor de RBV en el instante de tiempo estudiado (t) sea superior a cero y en el instante temporal anterior (t-1) sea cero, y se considera que finaliza cuando el valor de RBV en el instante de tiempo estudiado (t) sea igual a cero y en el instante anterior (t-1) sea mayor que cero.
- Tiempo de formación (T_F): se considera que comienza un ciclo de formación en un elemento cuando el valor de FBV en el instante de tiempo estudiado (t) sea superior a cero y en el instante temporal anterior (t-1) sea cero, y se considera que finaliza cuando el valor de FBV en el instante de tiempo estudiado (t) sea igual a cero y en el instante anterior (t-1) sea mayor que cero.
- Tiempo de inversión (T_I): comienza cuando en un elemento finaliza un ciclo de reabsorción y finaliza cuando ocurre un ciclo de formación. En caso de que haya solape entre los ciclos de reabsorción y formación se considera que este tiempo es nulo y la fase no ha tenido lugar.
- Tiempo de quiescencia (T_Q): una fase de quiescencia comienza cuando en un elemento finaliza un ciclo de FBV y termina cuando tiene lugar un ciclo de RBV en el mismo.

Cálculo de la frecuencia 3D

Para el cálculo de la frecuencia se ha realizado el cociente del sumatorio de las veces que se activa la variable BMU en el subdominio de estudio durante el periodo analizado entre la duración del periodo por el volumen del subdominio de estudio:

$$f_{act}^{3D} = \frac{\sum_{t_i}^{t_f} BMU}{(t_f - t_i) \cdot vol} \cdot 365 \left[\frac{BMU}{año \cdot mm^3} \right] \quad (5.1)$$

siendo:

- t_i el instante temporal a partir del cual se analizan los resultados medido en días.
- t_f el instante final de análisis de los resultados medido en días.
- vol el volumen del dominio de estudio medido en mm^3 .

Importancia del factor regulador TGF- β

Otro aspecto importante a destacar que se ha observado en las primeras simulaciones es que la proliferación de Ob_p está más influenciada por la liberación de TGF- β que tiene lugar por la reabsorción llevada a cabo por los Oc_a que por la velocidad de diferenciación de las células sin comprometer a precursoras D_{Ob_u} . Es decir, la contribución a la producción de células precursoras de Ob_p debido al efecto del TGF- β es mayor que la propia diferenciación (velocidad D_{Ob_u}), lo que implica que los ciclos de Ob_p dependen de los de Oc_p , sincronizándose entre ellos. Esto se analizará en mayor profundidad más adelante.

En la Figura 5.1 se puede observar lo comentado anteriormente. En el instante en el que la bandera de diferenciación de Oc_p a Oc_a se desactiva tiene lugar un crecimiento en la diferenciación de Ob_u a Ob_p , favoreciendo la acumulación de precursores para que alcancen el umbral superior y comience la formación de tejido óseo. En la Figura 5.1.b se puede comparar la velocidad de diferenciación D_{Ob_u} , siendo esta la pendiente de la recta entre ciclos, frente al crecimiento brusco que produce la liberación del TGF- β . Esto refleja la gran importancia del TGF- β como factor regulador del proceso, permitiendo esa actuación sincrónica de las poblaciones celulares que ocurre en las BMUs.

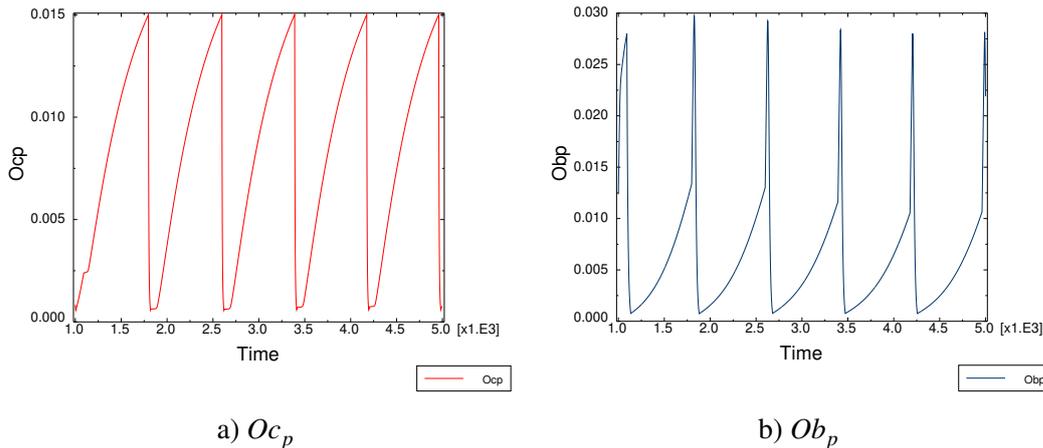


Figura 5.1 Evolución de las poblaciones celulares precursoras. En la figura a) se puede observar la evolución de los Oc_p , justo cuando decrecen y comienzan a diferenciarse a células activas comienza la liberación del TGF- β . En la figura b) se refleja la evolución de los Ob_p en la cual se puede observar una ligera pendiente entre ciclos asociada a la velocidad de diferenciación y a continuación la aparición de un ciclo con un cambio brusco de pendiente que coincide con la liberación del TGF- β . Estas dos figuras reflejan la importancia del factor regulador en la sincronización de los ciclos de RBV y FBV.

Una vez comentado estos aspectos se indican los efectos que se producen al variar algunos parámetros.

5.1.2 Influencia de la variación de los umbrales

Para las poblaciones celulares precursoras (Oc_p y Ob_p) los umbrales indican las cantidades máximas y mínimas que, aproximadamente, van a presentar estas concentraciones. De esta forma, a mayor valor del umbral superior, mayor concentración se producirá en un ciclo, y a mayor valor del umbral inferior, mayor concentración mínima de precursoros habrá. Si se disminuye el valor de los umbrales ocurren efectos inversos.

Atendiendo a las poblaciones activas (Oc_a y Ob_a), los umbrales determinan el instante temporal en el que se activan-desactivan las banderas de diferenciación. Es decir, indican cuando comienzan y terminan los ciclos de los Oc_a y Ob_a . Al ser proporcionales los volúmenes óseos reabsorbido y formado a estas concentraciones, también dependerán estos ciclos de los umbrales. Es decir, los umbrales indicarán aproximadamente, ya que influirá la velocidad de apoptosis de las células activas, cuando comienza y finaliza un ciclo de reabsorción o formación.

Además de permitir aumentar o reducir la duración de los ciclos de las poblaciones activas, presentan influencia en las cantidades producidas. Elevar el umbral superior supone una activación posterior de la bandera y también aumentará la cantidad de precursoros que se diferenciará a activos. Algunos de los efectos mencionados se pueden observar en la Figura 5.2 en la que se muestra la evolución de los Ob_a para dos valores diferentes del umbral superior.

Por otro lado, reducir el valor del umbral inferior provoca una desactivación posterior de la bandera. Esto influye en una mayor concentración de la población celular activa debido a que se prolonga el tiempo de diferenciación. Un efecto inverso se produce si se aumenta el valor del umbral inferior.

También es interesante destacar la importancia que tienen para ajustar la forma de los ciclos. La actividad osteoclástica es mayor que la osteoblástica, esto significa que los osteoclastos "trabajan" a una velocidad mayor, lo que implica que la duración de los ciclos de reabsorción es menor que la de los ciclos de formación pero se reabsorbe una mayor cantidad de tejido por día que la que se forma.

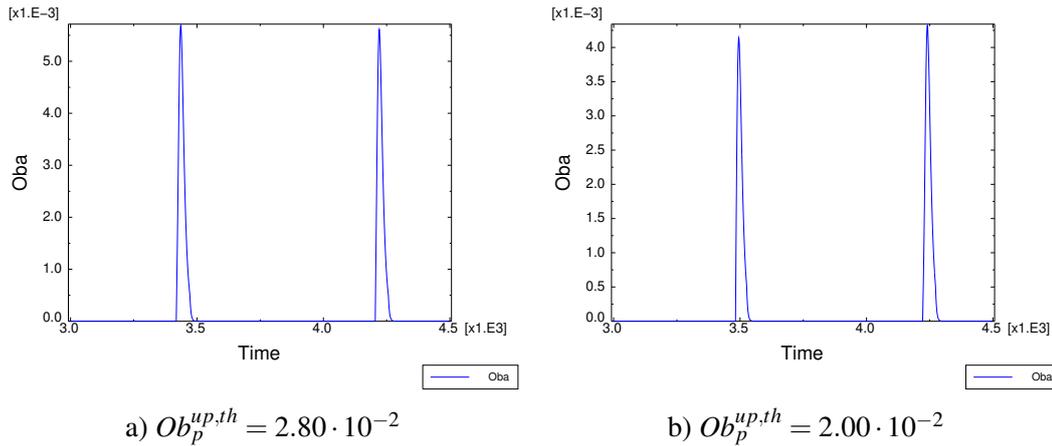


Figura 5.2 Evolución Ob_a para dos umbrales superiores distintos. Se puede observar cómo para un umbral superior de menor valor el tiempo entre ciclos se reduce y la cantidad generada es inferior.

A continuación, se incluye una tabla que refleja la influencia de los umbrales en duración de los procesos. Luego se comentarán los resultados tomando la simulación S1 como punto de partida comparando los valores obtenidos para las demás con esta.

Tabla 5.1 Duración de las fases en función de los umbrales. Siendo: $Oc_p^{up,th}$ y $Oc_p^{low,th}$ los umbrales superior e inferior de los Oc_p , $Ob_p^{up,th}$ y $Ob_p^{low,th}$ los umbrales superior e inferior de los Ob_p , y t_R , t_I , t_F , t_Q los tiempos de reabsorción, inversión, formación y quiescencia, respectivamente. Se refleja en rojo los parámetros y resultados que varían con respecto del caso inicial.

Nombre	$Oc_p^{up,th}$	$Oc_p^{low,th}$	$Ob_p^{up,th}$	$Ob_p^{low,th}$	t_R	t_F	t_I	t_Q
S1	1,50E-02	2,00E-03	2,20E-02	1,50E-03	20	60	2	55
S2	1,50E-02	2,00E-03	2,50E-02	1,50E-03	20	59	5	55
S3	1,50E-02	2,00E-03	3,00E-02	1,50E-03	20	40	18	55
S4	1,50E-02	2,00E-03	2,20E-02	1,20E-03	20	63	2	52
S5	1,50E-02	2,00E-03	2,20E-02	1,00E-03	20	65	2	52
S6	1,75E-02	2,00E-03	2,20E-02	1,50E-03	17	60	2	80
S7	2,00E-02	2,00E-03	2,20E-02	1,50E-03	-	-	-	-
S8	1,50E-02	1,75E-03	2,20E-02	1,50E-03	22	60	2	55
S9	1,50E-02	1,00E-03	2,20E-02	1,50E-03	24	60	0	55

En las simulaciones S2 y S3 se aumenta el valor del umbral superior de los Ob_p . Esto provoca una posterior activación de la bandera de diferenciación de los Ob_p a Ob_a , retrasando el ciclo de formación. Con los resultados de la tabla se comprueba que al activarse más tarde la bandera y dejar el umbral inferior en el mismo valor (la desactivación ocurre en el mismo instante) se acorta el tiempo de formación y se amplía el tiempo de inversión. En resumen, el umbral superior de los Ob_p permite ajustar el tiempo inversión entre los ciclos de RBV y FBV.

En las simulaciones S4 y S5 se reduce el umbral inferior de los Ob_p . Esto provoca que se alargue la duración de los ciclos de FBV debido a la posterior desactivación de la bandera de diferenciación de Ob_p a Ob_a y, a alargar este ciclo, reduce el tiempo de quiescencia.

La variación de los umbrales de los osteoblastos no presenta influencia en los ciclos de reabsorción.

En la simulación S6 el estado de homeostasis se alcanza con ciertas perturbaciones. Variar los umbrales puede alejar los resultados de este estado. En esta simulación se aumenta el umbral superior de los Oc_p que provoca que el ciclo de Oc_a ocurra más tarde. Al no variar el umbral inferior se esperaría que el ciclo de reabsorción se retrase y, por tanto, el ciclo de remodelación completo, sin embargo el tiempo de reabsorción disminuye. Esto se debe a las perturbaciones comentadas en la evolución de f_{bm} . Alejarse del estado homeostático puede producir alteraciones en el modelo. Para la simulación S7 no se indican los resultados, ya que el estado de equilibrio no se alcanza. Esto refleja que la sensibilidad del modelo a la variación de este umbral.

En las simulaciones S8 y S9 se ha reducido el valor del umbral inferior de los Oc_p . Con esto se desactiva la bandera más tarde y se prolongan los ciclos de RBV. Al disminuir el valor del umbral inferior, la concentración de Oc_p tarda algo más en alcanzar ese umbral, en la tabla se puede ver que la variación es baja. Esta variación leve se debe a la rápida diferenciación de los Oc_p (ver Figura 5.3.b). Reducir el umbral inferior de Ob_p aumenta el tiempo de RBV y reduce el tiempo de inversión.

Al igual que ocurre para los osteoblastos, los umbrales de los osteoclastos no influyen en los ciclos de formación, para las variaciones de los umbrales probadas.

Por último, indicar que en las simulaciones S8 y S9 ocurre algo similar a lo producido en la S6. Se alejan de la homeostasis sin presentar grandes perturbaciones (Figura 5.3), pero en estos casos los resultados son coherentes con el comportamiento esperado del modelo.

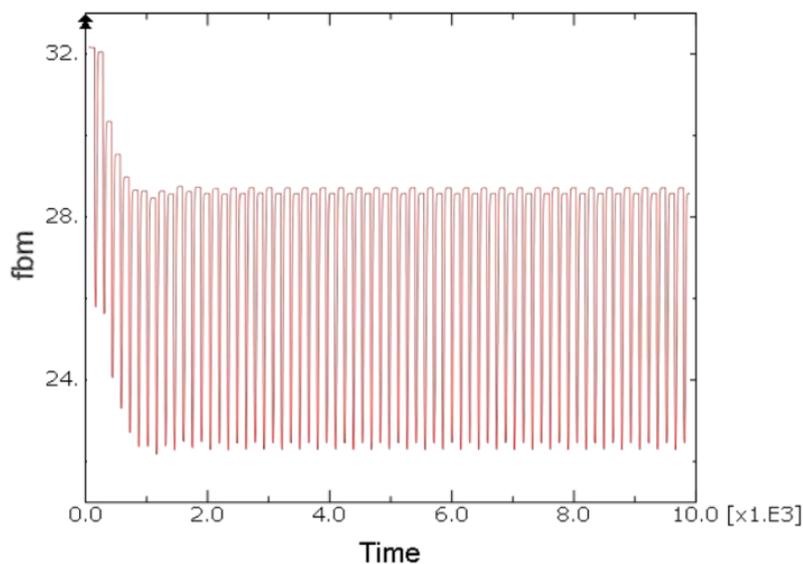


Figura 5.3 Evolución de f_{bm} para la simulación S8 (similar para S9).

Resumen de la variación de los umbrales

- Tienen influencia en los rangos abarcados en la evolución de las concentraciones de las células precursoras. Las concentraciones de precursores oscilarán entre los valores del umbral superior e inferior.
- Influyen en la cantidad de las concentraciones celulares activas. Para un umbral superior mayor se produce una mayor concentración de células activas.
- Determinan el instante en el que se activan-desactivan las banderas de diferenciación. Esto también supone que determinan el instante en el que aparecen-desaparecen células activas, influyendo así directamente en la duración de los ciclos de las concentraciones activas. Por ejemplo, si se realizan dos simulaciones con el mismo umbral superior y reduciendo el valor

del inferior, los ciclos de la concentración activa de la simulación que tenga un menor valor del umbral inferior presentarán una mayor amplitud.

- Al considerarse proporcional RBV y FBV a los Oc_a y Ob_a , respectivamente, se pueden trasladar las conclusiones obtenidas para los ciclos de las concentraciones celulares a los ciclos de reabsorción y formación.

5.1.3 Influencia de la variación de parámetros del modelo

Velocidades de diferenciación

Las velocidades variadas son: D_{Oc_u} , que modela la diferenciación de Oc_u a Oc_p , y D_{Oc_p} , que modela la diferenciación de Oc_p a Oc_a .

La variación de la velocidad D_{Oc_u} influye directamente en la pendiente de crecimiento de las concentración de Oc_p . En la Figura 5.4 se representa un ejemplo.

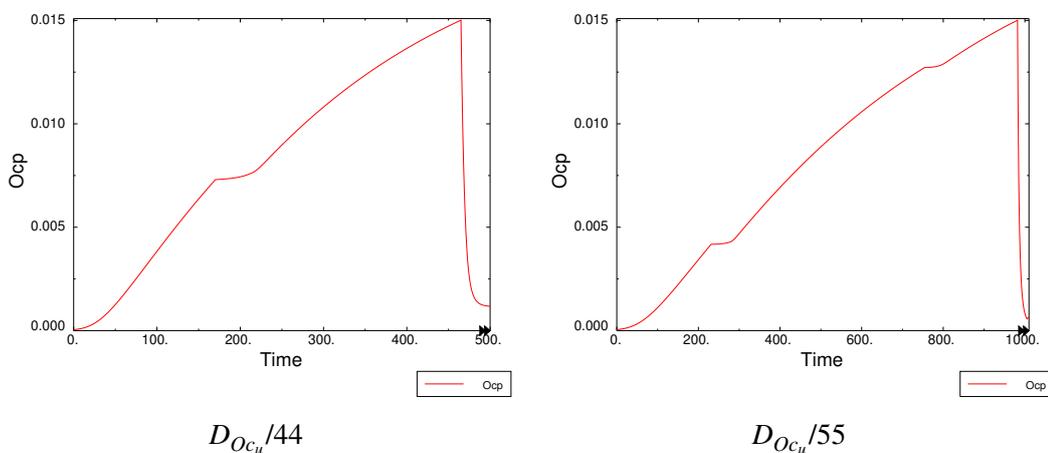


Figura 5.4 Evolución Oc_p para dos velocidades de diferenciación de Oc_u a Oc_p distintas. Se puede observar cómo para una menor velocidad de diferenciación D_{Oc_u} es necesario un mayor tiempo para alcanzar el umbral superior.

En este caso, a menor valor de la velocidad de diferenciación (Figura 5.4.a), menor pendiente de crecimiento y tardará más tiempo en alcanzar el umbral superior. Este hecho repercute en los ciclos de la concentración de Oc_a , debido a que al tardar más en alcanzar el umbral se retrasa el ciclo de Oc_a y se reduce el número total de ciclos que tienen lugar.

Por otro lado, la variación de D_{Oc_p} influye en la diferenciación de los Oc_p y en el crecimiento de los Oc_a . Es decir, a mayor valor de este parámetro se alcanzará el umbral inferior antes, reduciendo así la duración de los ciclos de Oc_a .

Al igual que se ha reflejado para el apartado anterior, lo comentado para los ciclos de Oc_a se puede trasladar al RBV.

Por último, para los Ob_p y Ob_a las variaciones en las velocidades de diferenciación provocarían un efecto similar.

Velocidad de apoptosis de los osteoclastos activos

Las variaciones se han realizado únicamente en la apoptosis de los Oc_a (A_{Oc_a}). A mayor valor de esta, menor duración del ciclo de los Oc_a . Esto se refleja en la Figura 5.5.

De nuevo, es interesante indicar que al considerarse proporcional el volumen óseo reabsorbido a la concentración de Oc_a , las variaciones producidas en los ciclos de Oc_a se trasladan a RBV.

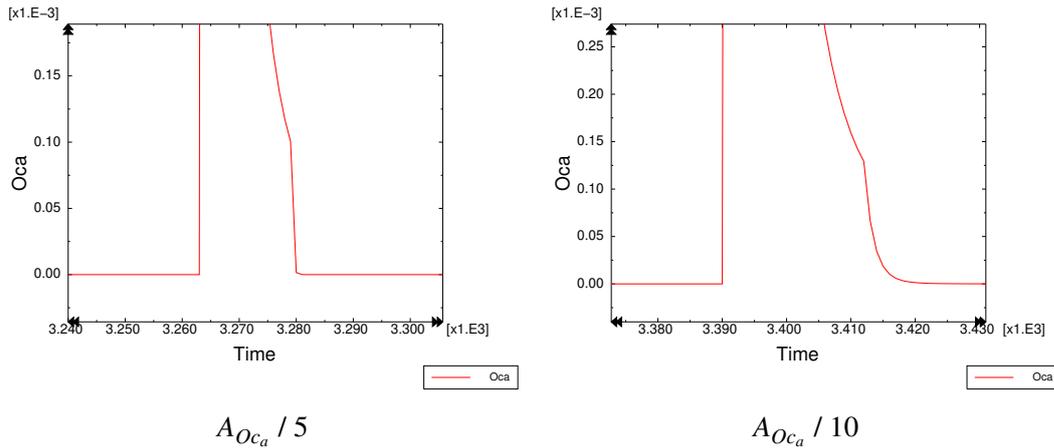


Figura 5.5 Evolución de O_{c_a} para varios valores de $A_{O_{c_a}}$. Se puede observar como a menor valor de la apoptosis mayor duración presenta el ciclo de O_{c_a} .

La influencia temporal que presenta la variación de estos parámetros se refleja en la siguiente tabla. De nuevo, se toma la S1 como referencia para comparar.

Tabla 5.2 Duración de los procesos y periodos de reposo en función de los parámetros. Donde: $D_{O_{c_p}}$ es la velocidad de diferenciación de O_{c_p} a O_{c_a} , $D_{O_{c_u}}$ la velocidad de diferenciación de O_{c_u} a O_{c_p} , $A_{O_{c_a}}$ la velocidad de apoptosis de los O_{c_a} , y $D_{O_{b_p}}$ la velocidad de diferenciación de O_{b_p} a O_{b_a} . Se resalta en rojo las modificaciones realizadas y la variación de los resultados.

Nombre	$D_{O_{c_p}}$	$D_{O_{c_u}}$	$A_{O_{c_a}}$	$D_{O_{b_p}}$	t_R	t_F	t_I	t_Q
S81	Inicial/5	Inicial/10	Inicial/10	Inicial	20	60	2	55
S91	Inicial/5	Inicial/10	Inicial/12.5	Inicial	25	60	-8	55
S92	Inicial/5	Inicial/10	Inicial/15	Inicial	32	60	-18	55
S93	Inicial/7.5	Inicial/10	Inicial/10	Inicial	25	60	0	63
S94	Inicial/10	Inicial/10	Inicial/10	Inicial	30	60	-3	63
S95	Inicial/5	Inicial/20	Inicial/10	Inicial	20	60	2	120
S96	Inicial/5	Inicial/15	Inicial/10	Inicial	20	60	2	110
S97	Inicial/5	Inicial/10	Inicial/10	Inicial/2	20	75	7	60
S98	Inicial/5	Inicial/10	Inicial/10	Inicial/5	20	130	13	15

En las simulaciones S91 y S92 se ha reducido la velocidad de apoptosis de los O_{c_a} . Al reducir esta velocidad, la concentración de O_{c_a} tarda más en eliminarse alargando la duración del ciclo de reabsorción. Por otro lado, al prolongarse este ciclo se reduce el tiempo de inversión. Es interesante comentar que el valor del tiempo de inversión es negativo para estas simulaciones, lo que indica un solapamiento de ciclos de RBV y FBV siendo el tiempo de inversión inexistente. En futuras versiones del archivo que posprocesa los resultados se ha corregido para que el valor resultante del T_I sea nulo.

En las simulaciones S93 y S94 se reduce la velocidad de diferenciación de los O_{c_p} . Con esto los O_{c_p} tardarán más tiempo en alcanzar el umbral inferior, prolongando el tiempo de reabsorción. Lo que supone que se reduzca el tiempo de inversión y se retrase el ciclo de RBV, aumentando el tiempo de quiescencia.

Se ha variado la velocidad de diferenciación de los O_{c_u} en las simulaciones S95 y S96. Esta variación controla el tiempo de quiescencia. Al reducir esta velocidad se reduce el crecimiento de los O_{c_p} , retrasando el proceso completo. Esto se debe a lo comentado anteriormente de que el ciclo

de Ob_p se produce por la liberación del TGF- β , si se redujese mucho la velocidad de diferenciación de Oc_u a Oc_p se eliminaría esa sincronización de los ciclos de reabsorción y formación (pero tiene que reducirse en exceso).

Finalmente, se ha tenido que variar la velocidad de diferenciación de los Ob_p para aumentar el tiempo de formación. Para realizar lo indicado se reduce el valor de este parámetro, lo cual provoca que los Ob_p se diferencien en menor cantidad y tarden más en alcanzar el umbral inferior. De esta forma se alarga el tiempo de formación y se reduce el tiempo de quiescencia. Otro aspecto a destacar es el aumento del tiempo de inversión. Esto se debe a que al diferenciarse más lentamente y aumentar el tiempo que tardan los Ob_p en alcanzar el umbral inferior, aumenta la amplitud del ciclo de Ob_p retrasando la aparición del ciclo y aumentando el tiempo de inversión.

Resumen de la variación de los parámetros del modelo

- Las velocidades diferenciación controlan el crecimiento de las concentraciones celulares. En las concentraciones precursoras se refleja en alcanzar el valor del umbral superior en un mayor o menor periodo de tiempo. Interesa sobre todo la velocidad de diferenciación de Oc_u a Oc_p . Esta condiciona el periodo de quiescencia.
- Con las velocidades de apoptosis se regula la duración de los ciclos de las concentraciones activas. A mayor valor de la apoptosis menor duración presenta el ciclo.

5.1.4 Combinación de varios parámetros

Se exponen los resultados obtenidos a partir de la combinación de la variación de los parámetros mencionados buscando obtener resultados acordes con lo reflejado en la literatura [85]. En concreto los valores son:

Tabla 5.3 Valores de los parámetros para la obtención de los tiempos deseados. Siendo INI el valor inicial del parámetro.

Nombre	$Oc_p^{up,th}$	$Oc_p^{low,th}$	$Ob_p^{up,th}$	$Ob_p^{low,th}$	D_{Oc_p}	D_{Oc_u}	A_{Oca}	D_{Ob_p}
S110	1,50E-02	6,00E-04	2,40E-02	6,00E-04	INI/5	INI/40	INI/10	INI/2,7

Y la duración de las fases obtenida es:

Tabla 5.4 Duración de los tiempos de estudio con el ajuste de los parámetros.

Nombre	t_R	t_F	t_I	t_Q
S110	23	97	7	339

Los resultados obtenidos en este modelo serán el punto de partida para las simulaciones del modelo no local. Además, las conclusiones obtenidas en el análisis se pueden trasladar parcialmente al enfoque global permitiendo una primera aproximación y facilitando el ajuste del mismo.

5.2 Simulaciones del modelo no local

Una vez analizada la influencia de la variación de distintos parámetros se procede a ajustar el modelo completo para obtener unos resultados que se asemejen a los reflejados en la literatura. Como se comentó durante el desarrollo del modelo, se simulan dos casos: uno de homeostasis y otro en el que la presencia de daño es elevada. En primer lugar, se exponen los resultados obtenidos para el caso de equilibrio:

5.2.1 Homeostasis

Calibración de los umbrales

Los umbrales de las ecuaciones (4.6) se calibraron para obtener una frecuencia de activación y duración de las fases de las BMUs acordes con la literatura. Para ello, los umbrales se variaron entre los siguientes rangos: $Ob_p^{up,th} \in [0.04, 0.02]$, $Ob_p^{low,th} \in [0.0025, 0.0005]$, $Oc_p^{up,th} \in [0.025, 0.005]$ y $Oc_p^{low,th} \in [0.0025, 0.0005]$. El rango definido para cada umbral se dividió en 3 subrangos del mismo tamaño y se evaluó en los 4 puntos definidos para cada umbral. Posteriormente, se realizó una optimización, partiendo de la mejor combinación, teniendo como objetivo minimizar la diferencia total con las duraciones presentadas en la literatura reflejados en la Tabla 5.6. El resultado óptimo obtenido se muestra en la Tabla 5.6 y los valores definidos para los umbrales se utilizaron como los nominales se refleja en la Tabla 5.5. A continuación, se realizó un análisis de sensibilidad de los umbrales en torno a esos valores nominales para evaluar su efecto sobre la duración de las fases.

Tabla 5.5 Valor nominal de los umbrales.

$Ob_p^{up,th}$	$Ob_p^{low,th}$	$Oc_p^{up,th}$	$Oc_p^{low,th}$
$2.8 \cdot 10^{-2}$	$9.0 \cdot 10^{-4}$	$1.5 \cdot 10^{-2}$	$8.0 \cdot 10^{-4}$

Calibración fases

Para comprobar si se alcanzaba la homeostasis tras la perturbación inicial, se analizó la evolución de f_{bm} en el dominio de estudio para el caso de compresión. En primer lugar, se calculó la media de f_{bm} para los elementos del dominio de estudio para obtener $f_{bm}^{aver}(t)$. La evolución temporal de $f_{bm}^{aver}(t)$ mostró una adaptación inicial a la carga aplicada. Esta carga fue baja para la distribución inicial de f_{bm} asignada, lo que se tradujo en una disminución de la masa ósea. Durante esta fase de adaptación se observaron fluctuaciones muy pronunciadas como consecuencia de los numerosos acontecimientos de remodelación que se producían dentro del dominio de estudio. Por esto, se aplicó un filtro de media móvil a la evolución temporal de $f_{bm}^{aver}(t)$ para obtener:

$$f_{bm}^{mv}(t) = \sum_{t-n/2}^{t+n/2} f_{bm}^{aver}(t) \quad (5.2)$$

donde n es el número de puntos de tiempo considerados para el promedio (o ventana de tiempo). Hay que tener en cuenta que $t + n/2$ no puede exceder el tiempo de simulación (t_{max}) y $t - n/2$ no puede ser inferior a 0 y, por tanto, la ventana debe establecerse en esos puntos finales.

También se obtuvo la evolución de ψ_{bm} en el dominio estudiado, para analizar la relación entre f_{bm} y el estímulo mecánico. Se calcularon ψ_{bm}^{aver} y ψ_{bm}^{mv} mediante el promedio espacial y temporal de ψ_{bm} , de forma análoga a f_{bm}^{aver} y f_{bm}^{mv} . La Figura 5.6.a muestra la evolución temporal de f_{bm}^{mv} después de aplicar el filtro para dos ventanas temporales diferentes. La Figura 5.6.b compara $f_{bm}^{mv}(t)$ y $\psi_{bm}^{mv}(t)$.

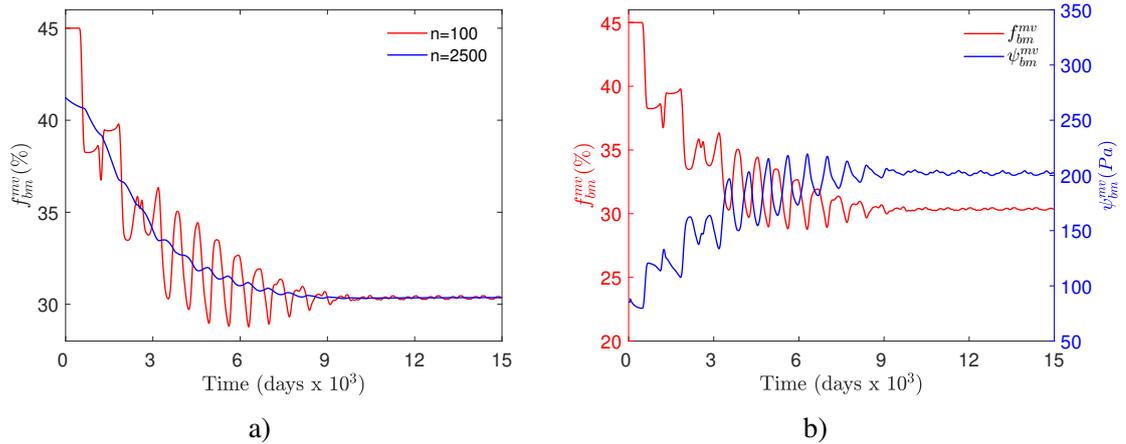


Figura 5.6 a) Evolución temporal de f_{bm}^{mv} (%) para dos ventanas temporales diferentes de la media móvil. Primero, la media f_{bm} se adapta a la carga aplicada y luego se estabiliza para alcanzar una situación homeostática con pequeñas oscilaciones. b) Evolución temporal de f_{bm}^{mv} (%) y ψ_{bm}^{mv} (Pa), ambas promediadas para una ventana temporal $n=100$.

La Figura 5.7 representa la evolución temporal del volumen de hueso reabsorbido y el volumen de hueso formado por unidad de volumen y unidad de tiempo (es decir, $RBV=k_{res} \cdot Oc_a$ y $FBV=k_{form} \cdot Ob_a$), para un elemento dentro del dominio de estudio.

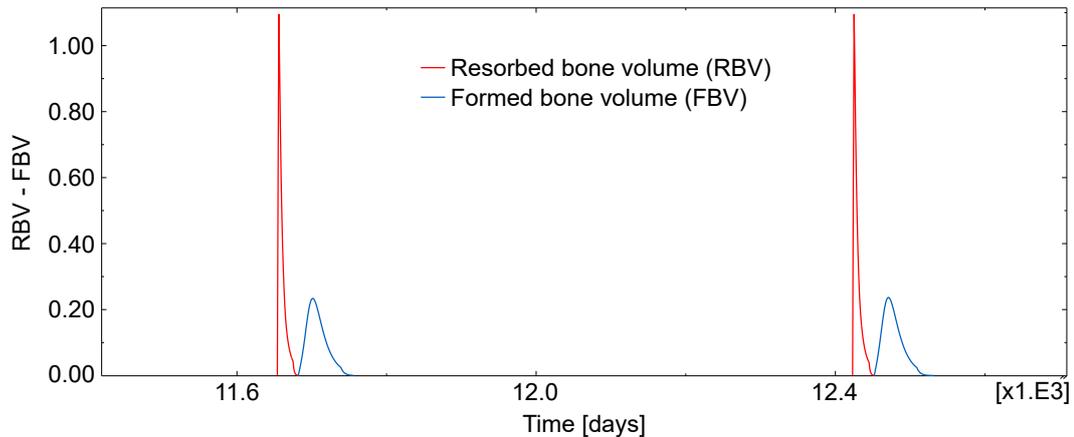


Figura 5.7 Evolución de RBV y FBV para un elemento que se encuentra dentro del dominio de estudio.

Dentro del dominio de estudio se produjeron varias activaciones de BMUs, aunque no simultáneamente. La duración media de las fases de reabsorción, inversión (o reversión), formación y quiescencia se calculó a partir de los resultados de todos los elementos dentro del dominio de estudio. Los resultados obtenidos los primeros días de la simulación corresponden a un periodo transitorio durante el cual la fracción de volumen óseo se está adaptando a la carga aplicada y debe descartarse para centrarse en la situación homeostática, que se supone alcanzada alrededor del día 10.000 (véase Figura 5.6). Las duraciones medias de las fases se calcularon desde el día 13.000 hasta el final de la simulación (día 15.000). Estos promedios se indican en la Tabla 5.6 y se comparan con los datos experimentales reflejados en la literatura. La frecuencia de activación se calcula en estudios histomorfométricos a partir de la longitud media de las fases de las BMUs

[84, 85] y representa el número de BMUs que pasan por un determinado lugar del hueso al año:

$$f_{act,hist} \left(\frac{\text{BMUs}}{\text{año}} \right) = \frac{365}{T_R + T_I + T_F + T_Q} \quad (5.3)$$

donde T_R , T_I , T_F y T_Q son los tiempos medios de reabsorción, inversión (reversión), formación y quiescencia. Los valores obtenidos para esta frecuencia se dan y se comparan con la literatura en la Tabla 5.6.

Tabla 5.6 Duración en días de las distintas fases del ciclo de la BMU y frecuencias de activación obtenidas para los tres casos de carga. Comparación de los resultados del modelo y la bibliografía existente.

Variable	Modelo			Literatura
	Compresión	Tracción	Flexocompresión	
T_R (días)	21.9	21.1	21.9	24 [60]
T_I (días)	8.3	8.8	8.2	8 [60]
T_F (días)	65.5	65.4	65.5	64 [60]
T_Q (días)	595	562	595	597 [84]
$f_{act,hist} \left(\frac{\text{BMUs}}{\text{ao}} \right)$	0.53	0.56	0.53	0.52 [84]
$f_{act,3D} \left(\frac{\text{BMUs}}{\text{año} \cdot \text{mm}^3} \right)$	1.55	1.58	1.55	1 - 2 ($f_{act,2D}$) [79]

La frecuencia de activación de BMUs en 3D, $f_{act,3D}$, se calculó contando el número de activaciones de BMUs que ocurren dentro del dominio en estudio por unidad de tiempo y unidad de volumen. Esta frecuencia de activación 3D puede convertirse en una frecuencia de activación 2D siguiendo a [81] que relacionó ambas mediante

$$f_{act,3D} = k f_{act,2D} \quad (5.4)$$

siendo k un parámetro de longitud. El valor de este parámetro fue definido posteriormente por Hernández et al. [82] utilizando $k = 1$, identificando así las frecuencias 2D y 3D. Si se acepta esta suposición, los valores estimados de $f_{act,2D}$ estarían en el intervalo dado por [79] (véase la Tabla 5.6).

Los resultados del análisis de sensibilidad se presentan en la Tabla 5.7 para el caso de la compresión, en el que se estudió la influencia de los umbrales y de R (el radio de la esfera que define la vecindad).

En cuanto a la simulación del caso de ausencia de TGF- β , en la Figura 5.8 se representa la evolución del volumen de hueso reabsorbido por unidad de tiempo y unidad de volumen (RBV) y el correspondiente volumen de hueso formado (FBV) para un elemento dentro del dominio de estudio. En comparación con la Figura 5.7, donde los ciclos tenían una forma razonable y seguían la secuencia normal reabsorción - inversión - formación - quiescencia, ahora los ciclos de la BMU aparecen totalmente desacoplados. En la Figura 5.8 pueden observarse diferentes eventos poco frecuentes: varios ciclos de formación que tienen lugar (antes o después de un ciclo de reabsorción), reabsorción y formación que ocurren simultáneamente y ciclos con duraciones de reabsorción y formación muy variables.

Para cuantificar la ocurrencia de estos eventos no deseables, se han definido tres tipos de ciclos de reabsorción/formación:

- Un ciclo de una BMU (o evento de remodelación) se considera normal si a un ciclo de reabsorción le sigue un ciclo de formación en menos de $T_I^{max} = 20$ días, el tiempo de inversión máximo admisible definido.
- Un evento de reabsorción aislado se define como un ciclo de reabsorción no seguido de un ciclo de formación en menos de T_I^{max} días, ya sea porque el ciclo de formación tarda más en

iniciarse o porque al ciclo de reabsorción le sigue otro ciclo de reabsorción. Un evento de formación aislado se define de forma análoga, ya sea porque el ciclo anterior también fue de formación o porque el ciclo de reabsorción precedente se produjo hace más de T_I^{max} días.

- Los ciclos de reabsorción/formación se denominan ciclos solapados cuando la reabsorción y la formación tienen lugar al mismo tiempo.

Tabla 5.7 Análisis de sensibilidad de los umbrales y de R . T_R , T_I , T_F y T_Q son los tiempos medios de reabsorción, inversión, formación y quiescencia en días, respectivamente. $f_{act,3D}$ es la frecuencia de activación 3D en BMUs/año/mm³. Los valores nominales aparecen resaltados en gris.

$Ob_p^{low,th}$	$f_{act,3D}$	T_R	T_I	T_F	T_Q
$1.08 \cdot 10^{-3}$	1.64	21.7	7.9	63.8	590
$0.99 \cdot 10^{-3}$	1.62	21.8	8.1	64.5	593
$0.90 \cdot 10^{-3}$	1.55	21.9	8.3	65.5	595
$0.81 \cdot 10^{-3}$	1.59	22.0	8.4	65.7	598
$0.72 \cdot 10^{-3}$	1.50	22.1	8.8	67.0	601
$Oc_p^{low,th}$	$f_{act,3D}$	T_R	T_I	T_F	T_Q
$9.60 \cdot 10^{-4}$	1.71	20.4	9.9	64.6	588
$8.80 \cdot 10^{-4}$	1.63	21.1	9.1	64.9	591
$8.00 \cdot 10^{-4}$	1.55	21.9	8.3	65.5	595
$7.20 \cdot 10^{-4}$	1.59	22.2	7.9	65.8	598
$6.40 \cdot 10^{-4}$	1.43	23.0	7.3	66.3	601
$Ob_p^{up,th}$	$f_{act,3D}$	T_R	T_I	T_F	T_Q
$3.36 \cdot 10^{-2}$	1.41	21.7	288.0	105.0	443
$3.08 \cdot 10^{-2}$	1.57	21.7	60.0	59.0	536
$2.80 \cdot 10^{-2}$	1.55	21.9	8.3	65.5	595
$2.52 \cdot 10^{-2}$	1.64	21.9	4.5	68.8	598
$2.24 \cdot 10^{-2}$	1.38	22.0	3.0	71.1	599
$Oc_p^{up,th}$	$f_{act,3D}$	T_R	T_I	T_F	T_Q
$1.80 \cdot 10^{-2}$	1.21	23.6	3.55	81.73	717
$1.65 \cdot 10^{-2}$	1.40	22.9	4.0	70.6	661
$1.50 \cdot 10^{-2}$	1.55	21.9	8.3	65.5	595
$1.35 \cdot 10^{-2}$	1.83	20.2	63.7	55.6	461
$1.20 \cdot 10^{-2}$	1.63	19.9	251.0	75.2	306
R	$f_{act,3D}$	T_R	T_I	T_F	T_Q
1.5	0.62	22.0	8.8	65.0	594
1.2	1.27	21.9	8.4	65.3	595
0.9	1.55	21.9	8.3	65.5	595
0.6	2.14	21.9	8.1	65.8	595
0.3	2.46	21.8	8.8	65.6	594

Todos estos ciclos se han contado en cada elemento del dominio en estudio en el caso normal y en el caso de ausencia de TGF- β . Los resultados se presentan en la Tabla 5.8 para los tres casos de carga. La evolución temporal de f_{bm} en ausencia de TGF- β (no mostrada) es similar a la de la Figura 5.6a, aunque con oscilaciones más irregulares.

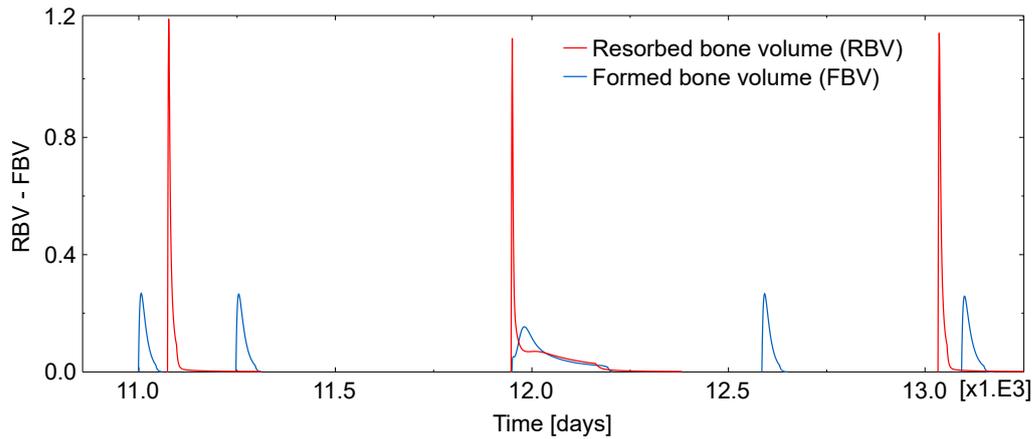


Figura 5.8 Evolución temporal de RBV y FBV obtenida en un elemento en caso de ausencia de TGF-β. Se eligió este intervalo de tiempo por ser representativo del comportamiento descoordinado observado en ausencia de TGF-β, con ciclos en los que la formación precede a la reabsorción, ciclos aislados, ciclos solapados y también ciclos normales.

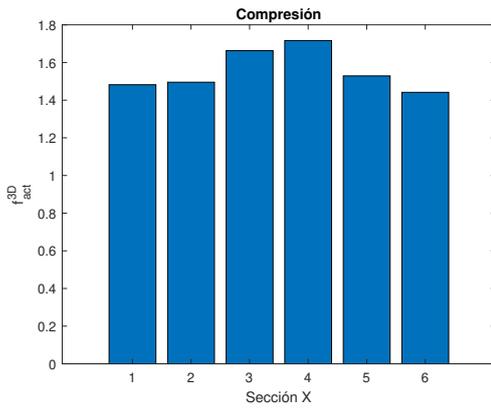
Tabla 5.8 Recuento de ciclos normales y eventos no deseados para los tres casos de carga, en las simulaciones normales y en los casos en los que no se libera TGF-β de la matriz ósea por reabsorción.

Tipo de ciclo	Compresión		Tracción		Flexocompresión	
	Normal	Sin TGF-β	Normal	Sin TGF-β	Normal	Sin TGF-β
Normal	93.6%	0.66%	93.6%	0%	94.1%	0.40%
Reabsorción aislada	3.40%	30.9%	2.68%	15.5%	2.66%	31.0%
Formación aislada	2.98%	61.7%	3.74%	72.8%	3.14%	62.7%
Solape	0%	6.76%	0%	11.7%	0.14%	5.93%

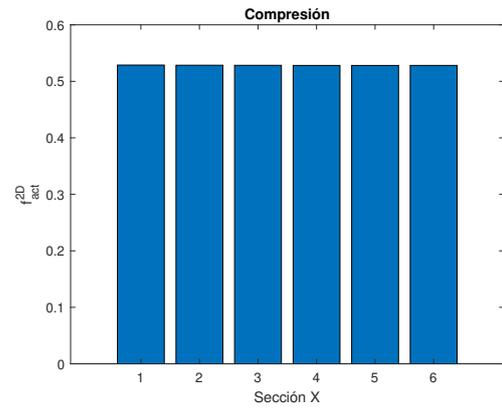
Análisis de la frecuencia de activación 2D y 3D

A continuación, se muestran los resultados obtenidos para la frecuencia de activación en distintas secciones del dominio de estudio del modelo de EF. Este presenta 6 secciones en las direcciones X e Y y 14 en la dirección Z. Se representan los valores obtenidos para la frecuencia de activación 3D, a partir de la variable BMU definida en el algoritmo presentado (véase la ecuación 5.1), y la frecuencia de activación 2D calculada cómo se refleja en la literatura (véase la ecuación 5.3). Únicamente se muestran los resultados obtenidos para el caso de compresión ya que para el resto de casos simulados los resultados son similares.

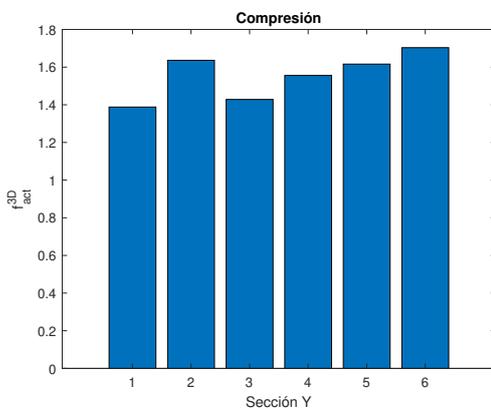
Compresión



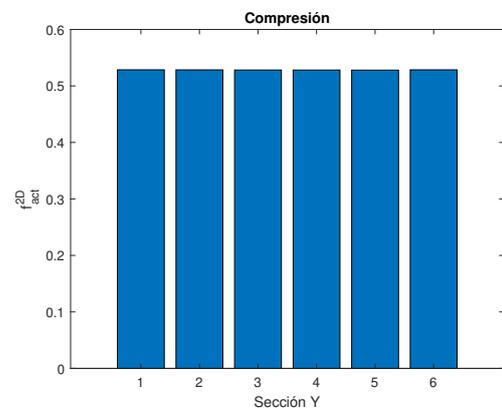
a) Frecuencia 3D



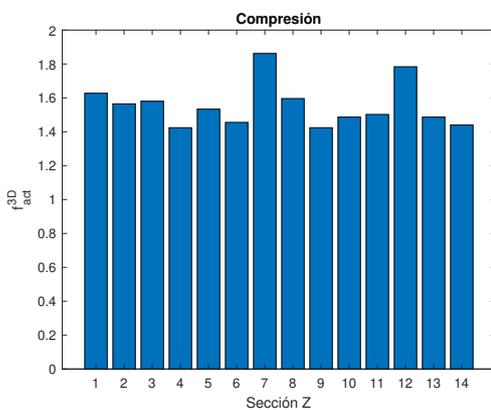
b) Frecuencia 2D



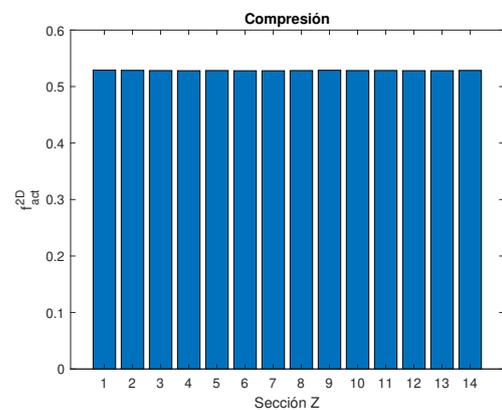
c) Frecuencia 3D



d) Frecuencia 2D



d) Frecuencia 3D



e) Frecuencia 2D

Para el caso de la frecuencia de activación 2D, al calcularse a partir de la duración de las fases y haber ajustado el modelo para que todos los elementos presenten una duración similar, la frecuencia de activación presenta un valor casi constante a lo largo de las tres direcciones y en todas las secciones. Estos resultados no son muy relevantes y no permiten comparar con las mediciones experimentales a partir de histomorfometrías. En estos casos se inyectan varias dosis espaciadas temporalmente de tetraciclina y se realiza la medición de varios parámetros óseos que permiten el cálculo de los tiempos de las fases [80]. Por último, a partir de las duraciones calculadas se obtiene la frecuencia de activación 2D como se ha comentado anteriormente.

Atendiendo a la frecuencia de activación 3D, esta sí presenta cierta variación y no tiene una

evolución tan homogénea como la anterior, aunque también se obtienen valores similares en las secciones de las tres direcciones.

5.2.2 Simulación con elevada presencia de daño

Para analizar cómo progresa la BMU a lo largo de la matriz ósea reparando el tejido dañado, se ha estudiado el frente de la BMU y aquellos elementos en donde la diferenciación de células precursoras a células maduras está activa. En la Figura 5.9, se muestra la línea de elementos altamente dañados en diferentes momentos del ciclo de reabsorción:

- En azul: aquellos en los que la diferenciación celular de precursoras a activas no está activa.
- En rojo: el frente de BMU, con el proceso de diferenciación activo.
- En verde, aquellos elementos con diferenciación activa pero que ya no son el frente de BMU.

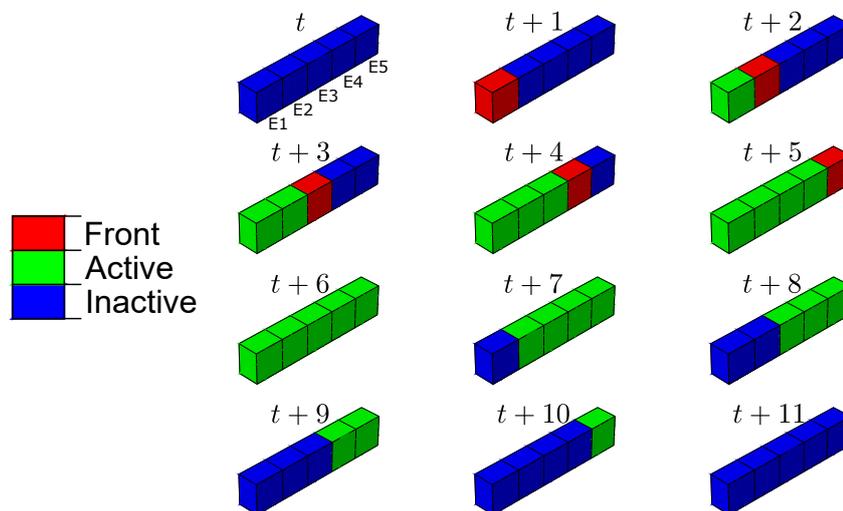


Figura 5.9 Progresión del frente de reabsorción de la BMU a lo largo de la trayectoria del daño y elementos en los que está activa la diferenciación de células precursoras a células maduras, en el día t y días posteriores. Los elementos se nombran en el primer fotograma de E1 a E5 en orden decreciente de daño (véase la Figura 4.7). En este caso se aplicó la carga de compresión.

Puede observarse que la BMU se activó en el elemento con mayor daño (véase la Figura 4.7). A continuación, el frente de BMU progresó a lo largo del gradiente de daño hacia los siguientes elementos con daño elevado. La diferenciación de los osteoclastos maduros se mantiene activa en aquellos elementos por los que discurre el frente BMU, reabsorbiendo así hueso y reparando el daño hasta que la concentración de precursores cae por debajo del umbral inferior, momento en el que se vuelven inactivos.

La evolución de la variable daño a lo largo del tiempo en el caso de carga de compresión puede verse para los elementos dañados en la Figura 5.10. Se puede observar cómo una fracción del daño se repara en el primer elemento cuando se activa la BMU y cómo el proceso de reparación progresa a lo largo de la línea de elementos dañados. Se repara entre el 20% y el 25% del daño original.

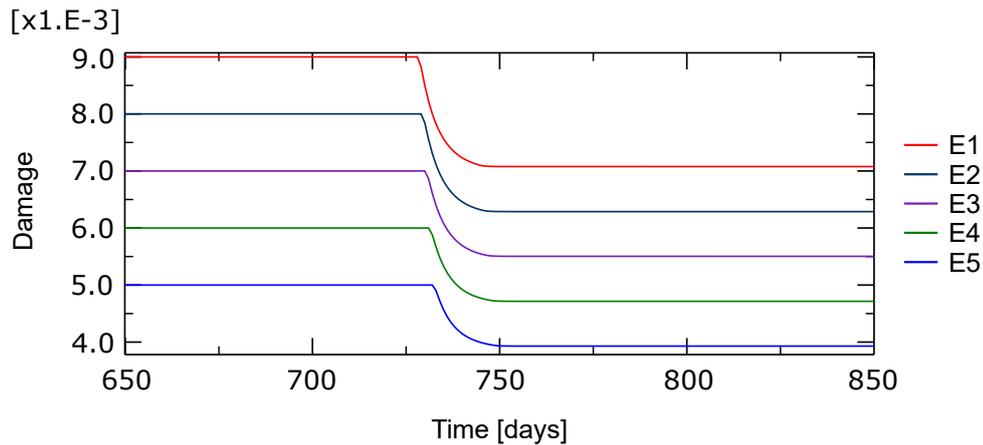


Figura 5.10 Evolución temporal de la variable daño en los cinco elementos con un alto nivel de daño inicial (E1 a E5, ver Figura 5.9). En torno al día 730 de simulación la BMU se activa, primero en el elemento más dañado, y avanza a través de estos elementos particulares reparando parcialmente el tejido mediante reabsorción..

5.2.3 Inclusión del efecto de la osteoporosis

A partir de los resultados obtenidos en caso de la simulación del estado de homeostasis se realiza una nueva simulación incluyendo el efecto de de la osteoporosis postmenopáusica. El efecto de la enfermedad se modela aumentando la producción de RANKL que favorece la diferenciación de osteoclastos precursores a activos, esto se refleja en la ecuación 4.12. Para la simulación se parte del estado de equilibrio, alcanzado en torno al día 12.000 de simulación y a continuación se activará el efecto de la enfermedad (día 17.000).

En la Figura 5.11 se muestra la evolución de la fracción volumétrica de tejido óseo (f_{bm}). Como se puede observar, a partir del día 12.000 de simulación se alcanza el estado de homeostasis y el día 17.000 comienza un descenso de la misma debido a la activación de la enfermedad.

En la Tabla 5.9 se muestran las duraciones de las fases obtenidas para la simulación con los efectos de la osteoporosis:

Tabla 5.9 Frecuencia de activación y duraciones de las fases bajo los efectos de la osteoporosis.

$f_{act,3D}$	T_R	T_I	T_F	T_Q
1.844	18	13.3	63,87	514

Según el trabajo presentado por Eriksen et al. [85] los ciclos de RBV bajo los efectos de la osteoporosis presentan una duración menor pero una mayor velocidad de reabsorción. Atendiendo a la frecuencia de activación se indica que aumenta, siendo los resultados obtenidos coherentes con lo comentado.

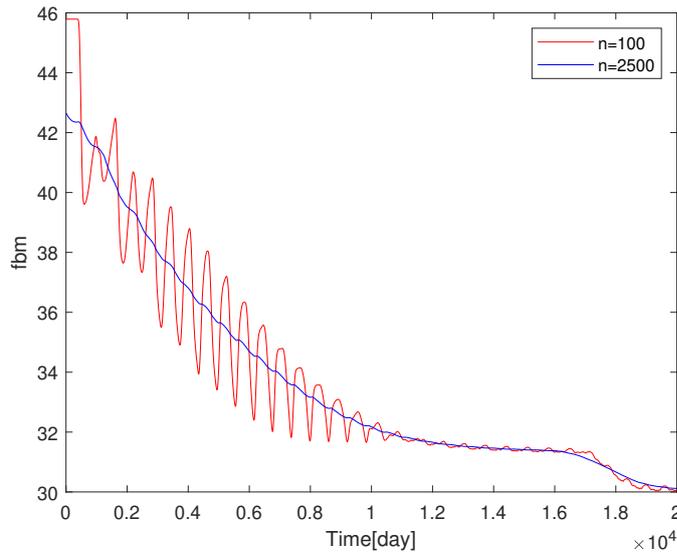


Figura 5.11 Evolución de la fracción volumétrica de tejido óseo (f_{bm}) bajo los efectos de la osteoporosis.

En la Figura 5.12 se ha representado la evolución de los ciclos de RBV y FBV para un elemento del dominio de estudio para el caso de compresión una vez alcanzada la homeostasis y con la inclusión del efecto de la osteoporosis. Se puede observar que el ciclo de RBV para el caso de osteoporosis presenta una mayor velocidad de reabsorción a pesar de presentar una menor duración (Esto último se observa con mayor facilidad en la Tabla 5.9), es decir, la reabsorción se realiza con una mayor intensidad acortando la duración de la fase. Atendiendo al FBV se observa que presentan una velocidad de formación similar.

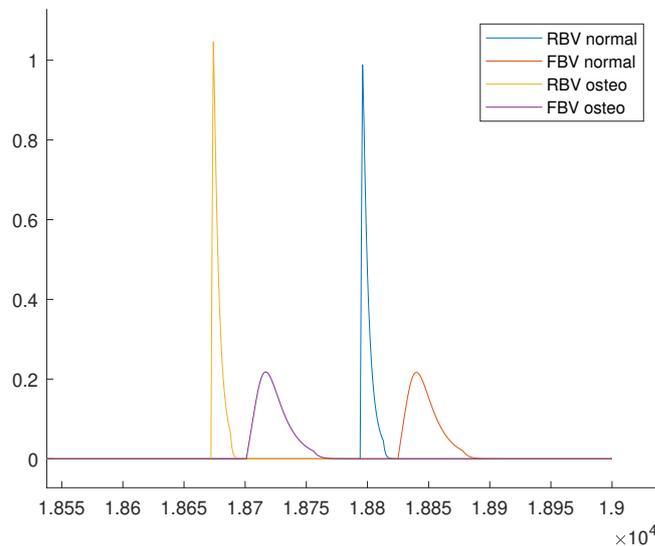


Figura 5.12 Evolución del RBV y FBV para un elemento del dominio de estudio en el caso de compresión y bajo los efectos de la osteoporosis.

Por último, se indica la variación de los resultados obtenidos para el caso de compresión con y sin los efectos de la enfermedad y se compara con los resultados reflejados en la literatura.

Tabla 5.10 Resultados obtenidos en el caso de compresión para personas sanas y enfermos con osteoporosis y comparativa con la variación reflejada en la literatura.

Variable	Modelo			Literatura [85]
	Sano	Enfermo	Variación (%)	Variación (%)
T_R (días)	21,9	18	-17,81	-29,53
T_F (días)	65,5	63,87	-2,49	9,91
f_{act}^{3D} ($\frac{BMUs}{año \cdot mm^3}$)	1,55	1,85	19,35	45,00

En la Tabla 5.10 se puede observar cómo la tendencia seguida en el modelo se asemeja a la literatura tanto para el tiempo de reabsorción como para la frecuencia de activación. Sin embargo, en el caso del tiempo de formación difiere ya que para el caso del paciente disminuye cuando debería aumentar, aunque el aumento reflejado en la literatura no es relevante comparado con el aumento del resto de variables estudiadas. Es decir, aunque el resultado obtenido en la simulación presente una tendencia opuesta, la disminución es baja al igual que el aumento reflejado en la literatura lo cual asemeja los resultados obtenidos en la simulación con los experimentales.

5.2.4 Inclusión del efecto de la osteoporosis y el fármaco denosumab

A continuación, se muestran los resultados obtenidos para varias simulaciones en las cuales se incluye el efecto del fármaco denosumab. Como se comentó en la introducción de este trabajo, este fármaco pertenece al grupo de los antirresortivos. El fármaco actúa compitiendo con el RANK en la unión con el RANKL, lo que influye sobre los osteoclastos inhibiendo la diferenciación de Oc_p a Oc_a . El tratamiento más común para este fármaco consiste en la administración de dosis de 60 mg cada 6 meses. Para las siguientes simulaciones el tratamiento comenzará a los 2.000 días de detectarse la osteoporosis. En concreto, el día 19.000 de simulación, ya que de nuevo se parte de la situación homeostática, y se modelará su efecto durante 1.000 días.

En la Figura 5.13 se muestra la evolución de la fracción volumétrica de tejido óseo (f_{bm}). Al igual que para la simulación anterior, en torno al día 12.000 de simulación se alcanza el estado de homeostasis y el día 17.000 comienza un descenso de la misma debido a la activación de la enfermedad. A partir del día 19.000 se revierte la evolución de f_{bm} debido al comienzo del efecto del tratamiento.

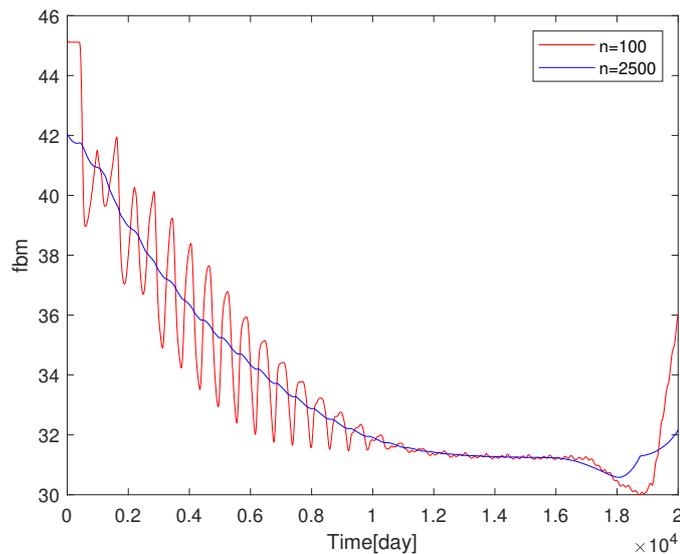


Figura 5.13 Evolución de la fracción volumétrica de tejido óseo bajo los efectos de la osteoporosis y del fármaco denosumab.

5.3 Discusión de los resultados

En este trabajo se presenta un nuevo modelo espacio-temporal de remodelación ósea basado en BMUs. A diferencia del modelo sólo temporal desarrollado anteriormente [48], que se basa en un conjunto de ecuaciones diferenciales continuas, el modelo aquí propuesto incluye funciones binarias adicionales que activan o desactivan la diferenciación de precursoras en células activas maduras. Esto conduce a una activación intermitente de los procesos de reabsorción y formación que simulan la remodelación espacio-temporal de la BMU de una manera fisiológicamente significativa. De hecho, la conocida secuencia de la BMU: reabsorción - inversión - formación - quiescencia surgió en las simulaciones, simplemente incluyendo los umbrales en los procesos de diferenciación. Estos umbrales definidos para Ob_p y Oc_p tienen en cuenta la disponibilidad de células precursoras óseas.

Este modelo representa un avance en el estado del arte de los modelos espacio-temporales de remodelación ósea. El modelo desarrollado por Quexada et al. [86] tenía en cuenta la dinámica celular cíclica y asíncrona de la remodelación ósea, pero no de la progresión espacial del proceso, como puede deducirse de la coincidencia en el tiempo de osteoclastos y osteoblastos dentro de un determinado dominio espacial. Esta limitación, junto con el breve tiempo de quiescencia entre ciclos de remodelación, es común al modelo de Komarova et al. [87], en el que se basa. El modelo de Ryser et al. [88] también se basa en las mismas ecuaciones y conduce de nuevo a la coincidencia temporal de osteoclastos y osteoblastos. Aunque estos últimos autores no modelaron explícitamente las células precursoras, estas se incluyeron en la variable que medía la concentración de células maduras, introduciendo así el concepto de disponibilidad celular. Así, si la concentración de un determinado tipo de células está por debajo del valor del estado estacionario (que actúa como umbral), se consideran células precursoras, mientras que si supera el valor, el número de células que supera ese umbral se consideran células activas.

Kameo et al. [89] propusieron un modelo de difusión para las moléculas de señalización que determinan la probabilidad de las distintas génesis celulares. Así, las células aparecían aleatoriamente en la superficie ósea sin un patrón espacio-temporal claro, en contraste con lo que ocurre en las BMUs. Un comportamiento similar predijo el modelo basado en agentes desarrollado por Tourolle et al. [90]. Buenzli et al. [91] desarrollaron un modelo 1D de remodelación ósea del hueso cortical que incluía la difusión de células y moléculas de señalización a través de la cavidad de reabsorción resultante y el cono de corte. Sin embargo, el movimiento de las células estaba controlado por el crecimiento del capilar que suministraba células precursoras y nutrientes, que se imponía *a priori*. Esto equivalía a imponer el movimiento de los osteoclastos, pero había que impedir el movimiento de los osteoblastos y sus precursores para conseguir un patrón espacial significativo de las células dentro de la BMU. Posteriormente, estos autores ampliaron su modelo a un modelo de celosía 2D basado en agentes [92], pero sólo se simuló el proceso de reabsorción y hubo que seguir imponiendo el crecimiento capilar para obtener BMUs alargadas. El modelo actual supera la mayoría de esas limitaciones y el patrón espacio-temporal de la BMU se consigue ahora sin imposición, básicamente mediante el concepto de disponibilidad celular y el papel del TGF- β en las interacciones intercelulares.

5.3.1 Homeostasis

Los resultados obtenidos demuestran que el modelo espacio-temporal de remodelación ósea basado en poblaciones celulares es capaz de alcanzar un estado homeostático en un dominio espacial 3D, caracterizado por una variación ligeramente oscilante de f_{bm} que permanece constante en promedio (ver Figura 5.6a) debido a un equilibrio entre los ciclos de reabsorción y formación de BMUs. Esto se opone a la forma monótona y suave en que el modelo anterior (sólo temporal) alcanza un estado homeostático tras una perturbación de los parámetros.

Es importante señalar que durante la primera fase de la simulación mostrada en la Figura 5.6 el promedio de f_{bm} presenta una evolución con perturbaciones ya que se está adaptando a la carga externa, que es demasiado baja para la distribución inicial asumida para f_{bm} . Esto conduce a una pérdida ósea global durante un período transitorio relativamente largo en el que las fluctuaciones de f_{bm} son pronunciadas. Estas fluctuaciones se amortiguan a largo plazo, lo que demuestra que el modelo es capaz de alcanzar un estado de equilibrio adaptado a la carga aplicada. La amplitud de las oscilaciones y la duración del período transitorio dependen de la carga aplicada en comparación con la carga homeostática y de la distribución inicial de las variables. Para considerar una situación más realista que la distribución uniforme, algunas variables se distribuyeron aleatoriamente en el espacio. En el caso del daño y la concentración de precursores de osteoclastos, la amplitud de esta perturbación se basó en los valores normales alcanzados con el modelo BCPM anterior [48]. La perturbación del daño se amortiguó rápidamente, sin tener efecto a medio plazo. La perturbación de otras variables como el contenido mineral también se amortiguan muy rápidamente, por lo que no se incluyeron en estas simulaciones. Las perturbaciones de Oc_p y especialmente de f_{bm} tienen un efecto más fuerte ya que hacen que las activaciones de las BMUs se distribuyan más uniformemente en el tiempo en el dominio de estudio. Partir de una distribución uniforme de Oc_p y f_{bm} (no mostrada) conduce a una activación casi sincrónica de las BMUs con grandes fluctuaciones de f_{bm} , lo que no es realista. El período transitorio se omitirá del resto de la discusión y el análisis se centra en el estado de equilibrio.

La Figura 5.6b permite comparar la evolución temporal de f_{bm} y el estímulo ψ_{bm} . Se puede observar cómo los mínimos de f_{bm} coinciden con los máximos de ψ_{bm} . A medida que avanza la fase de reabsorción y f_{bm} disminuye en una determinada región, el tejido remanente se sobrecarga y el estímulo mecánico (SED) aumenta, promoviendo así la proliferación de precursores de osteoblastos y, finalmente, el inicio de la fase de formación. Durante esta fase, la tendencia se invierte, ya que el aumento de f_{bm} incrementa la rigidez, reduciendo así las deformaciones y, en consecuencia, el SED (obsérvese que la tensión se mantiene constante). Durante la fase de quiescencia ($f_{bm} \sim$ constante), la lenta caída de ψ_{bm} sigue el aumento gradual de la rigidez causado por la mineralización del tejido recién formado.

Las distintas fases de una BMU se simulan con el modelo actual de forma realista. En primer lugar, la BMU se activa en un lugar determinado con la diferenciación de los precursores de osteoclastos en osteoclastos maduros, iniciándose así un ciclo de reabsorción destinado a reparar el tejido dañado. Los picos más altos observados en la Figura 5.7 corresponden a los ciclos de reabsorción, que son más altos y mucho más cortos que los ciclos de formación, lo que revela que la reabsorción es más rápida que la formación, pero se extiende durante un período de tiempo más corto. El nuevo modelo también ha demostrado ser válido para simular la fase de inversión, separando así la reabsorción de la formación. Así, una vez que los osteoclastos han finalizado la fase de reabsorción en un lugar, se desplazan o sufren apoptosis y la fase de reversión tiene lugar antes de que comience la fase de formación. Finalmente, el ciclo de formación termina y la región remodelada permanece en estado de quiescencia durante bastante tiempo (alrededor de 1,5-2 años) hasta que se activa una nueva BMU. Las áreas bajo las curvas RBV y FBV son iguales, lo que indica que el volumen reabsorbido en un ciclo es igual al volumen formado (homeostasis). Además, los umbrales introducidos en el modelo BCPM fueron suficientes para obtener un conjunto de longitudes de fase similares a las encontradas en la literatura (véase la Tabla 5.6).

La fase de inversión puede durar desde 8-9 días [59, 60] hasta varias semanas [61, 62]. La discrepancia en estos resultados experimentales puede deberse a una interpretación diferente de la fase de inversión, ya que los últimos estudios incluyen en ella el tiempo de retraso de la mineralización. También existen discrepancias similares en la duración del período de formación, con valores que oscilan entre 64 [60] y 174 días [85]. Incluso en este último estudio, el intervalo entre los percentiles 10% y 90% abarca (74,481) días. Con motivo a estas discrepancias, se han utilizado aquí los valores proporcionados por [60] para la validación de los tiempos medios obtenidos para los

periodos de reabsorción, formación e inversión, ya que estos autores compararon muchos estudios histomorfométricos.

Algunos estudios histomorfométricos calcularon la frecuencia de activación de la BMU como la inversa del tiempo total del ciclo de la BMU, es decir, la suma de los períodos de reabsorción, reversión, formación y quiescencia [84, 85]. Por lo tanto, como los resultados obtenidos en este trabajo para esos periodos son similares a los dados en la literatura, también lo es la frecuencia de activación medida de esta manera. La frecuencia de activación 3D también se calculó aquí, aunque no es posible compararla con ningún resultado experimental. Teniendo en cuenta la relación entre las frecuencias de activación 2D y 3D propuesta por [82], el resultado estaría de acuerdo con los valores proporcionados por [79]. Este autor midió la evolución de la tasa de activación de las BMUs con la edad, obteniendo valores entre 1 y 2 BMUs/año/mm² para personas mayores de 30 años. El valor medio obtenido en este trabajo se encuentra en ese rango; sin embargo, es importante señalar que la relación entre las frecuencias 2D y 3D no es absolutamente fiable debido a que los parámetros fueron estimados con un alto grado de incertidumbre, tal y como afirman los autores [81, 82].

El análisis de sensibilidad cuyos resultados figuran en la Tabla 5.7 muestra que $Oc_p^{up,th}$ es el umbral con mayor sensibilidad. Afecta significativamente a los tiempos de inversión y quiescencia y en menor medida al tiempo de formación y a la frecuencia de activación. Puede observarse que $Ob_p^{low,th}$ sólo influye ligeramente en las longitudes medias de fase, al igual que $Oc_p^{low,th}$, excepto en el tiempo de inversión, que parece ser muy sensible a valores bajos de $Oc_p^{low,th}$. $Ob_p^{up,th}$ tiene una gran influencia en el tiempo de inversión, mientras que el resto de los tiempos y la frecuencia de activación siguen siendo más o menos similares. Se puede comprobar que los valores anormalmente altos de T_I estaban causados por la misma falta de coordinación de los ciclos de la BMU observada en las simulaciones sin TGF- β . El radio de la esfera que define la vecindad, R , tiene una fuerte influencia en la frecuencia de activación 3D: cuanto mayor es el radio, menor es la frecuencia de activación 3D, dado que las nuevas activaciones se restringen en un volumen mayor cuando una BMU ya está activa dentro de la vecindad. Los valores pequeños de R también dieron lugar a ciclos descoordinados y, en consecuencia, a T_I elevados. Por último, tanto los umbrales como R parecen tener una pequeña influencia en la duración del periodo de reabsorción.

El TGF- β es una citoquina almacenada en la matriz ósea y liberada por los osteoclastos durante la reabsorción ósea. En el presente trabajo se ha reflejado el papel crucial que desempeña en la sincronización entre los ciclos de reabsorción y formación [68]. Se sabe que esta citocina promueve la apoptosis de los osteoclastos y la diferenciación de los osteoblastos no comprometidos en precursores de osteoblastos, mientras que regula a la baja la diferenciación de los precursores de osteoblastos en osteoblastos maduros [70]. En otras palabras, el TGF- β promueve la acumulación de precursores de osteoblastos, preparando así el próximo ciclo de formación. El aumento de la apoptosis de los osteoclastos también ayuda a poner fin al ciclo de reabsorción en curso. Por lo tanto, el TGF- β parece ser de suma importancia en la sincronización del ciclo de BMU. Se ha demostrado con el modelo que en presencia de TGF- β los ciclos de BMU presentan un patrón normal, con reabsorción seguida de formación tras una fase de inversión y un largo periodo de quiescencia antes del siguiente ciclo de reabsorción (véase la Figura 5.7). Además, el tiempo medio de cada fase concuerda con el reflejado en la bibliografía. Sin embargo, en ausencia del TGF- β (ver Figura 5.8), los ciclos de BMU se desacoplan completamente. La reabsorción y la formación tendrían lugar simultáneamente en un sitio óseo determinado, lo que no tendría ningún sentido biológico. La fase de inversión podría ser extremadamente larga e incluso los ciclos de formación o reabsorción podrían aparecer aislados. Además, estos raros acontecimientos no son puntuales. Al contrario, ocurren con mucha frecuencia, siendo los ciclos normales los menos habituales, cómo puede verse en la Tabla 5.8.

Se ha simulado la activación, progresión y desactivación de BMUs en un modelo de EF 3D de una pieza de hueso trabecular con $f_{bm} \sim 30\%$ bajo diferentes casos de carga. Esta fracción de volumen óseo se seleccionó basándose en los datos experimentales tomados para comparar el tiempo de quiescencia que se midió en el hueso esponjoso [84]. El grosor trabecular es de aproximadamente

90 μm [94] y el tamaño del elemento de la malla de EF es de 60 μm . Por lo tanto, modelar el hueso poroso como un medio continuo permite a las BMUs moverse en cualquier dirección, mientras que en la realidad sólo podrían progresar sobre el tejido óseo existente, viéndose obligadas a girar para seguir la trabécula, algo que no ocurre en nuestro modelo, que no tiene en cuenta la microestructura del hueso trabecular. Esto requiere un modelo más complejo con restricciones geométricas al movimiento de las BMU y se deja para futuros trabajos.

5.3.2 Elevada presencia de daño a nivel local

El modelo de poblaciones celulares presentado en este trabajo es capaz de modelar la activación de las BMUs en zonas muy dañadas y dirigir las para que sigan una grieta (o una región con mucho daño) con el fin de reparar ese daño, como sostiene la teoría de la remodelación ósea dirigida. Es importante señalar que no se activaron varias BMUs, sino una sola, para seguir la trayectoria de la grieta. El modelo se diseñó para evitar la activación múltiple de BMUs en una región pequeña, lo que no tendría sentido desde un punto de vista biológico o metabólico. Esto significa que los osteoclastos siguen siendo reclutados en la BMU existente si el estímulo mecanobiológico (la presencia de daño en este caso) sigue siendo lo suficientemente alto.

Como se presenta en los resultados de la simulación de la grieta, la BMU repara sólo el 20-25 % del daño existente. Este resultado no es muy realista desde el punto de vista biomecánico y constituye una limitación del estudio. De hecho, los osteoclastos disuelven el mineral óseo mediante la secreción de ácidos y degradan la matriz orgánica con proteinasas especializadas [93]. Si el frente de reabsorción abarcara toda la región dañada, la cavidad de reabsorción resultante sería un vacío dentro de la malla del tamaño de varios elementos, similar a los vacíos que pueden aparecer aplicando la técnica de eliminación de elementos. Esto puede dar lugar a problemas numéricos en las simulaciones de EF, derivados de la rigidez nula que implica la eliminación total del tejido óseo, y aquí no se tuvo en cuenta. El modelo no puede contemplar las cavidades de reabsorción como tales y trata la porosidad en el sentido de la Mecánica de Medios Continuos, como una variable que representa el volumen ocupado por los poros dentro de los elementos, sin representar los poros explícitamente. De forma similar, el daño también se considera en el sentido de la Mecánica de Medios Continuos, como una medida de la densidad de microfisuras. Este modelo es incapaz de reparar completamente el daño y, por esta razón, sería más apropiado tratar este caso como la remodelación de una región de alto daño difuso en lugar de una grieta.

5.3.3 Enfermedad osteoporosis y fármaco denosumab

En estas simulaciones se ha modelado el efecto de la osteoporosis, la cual genera un efecto que produce una disminución neta de la densidad ósea, junto con el tratamiento del fármaco denosumab para paliar dichos efectos.

En primer lugar, los resultados estudiados en este trabajo (duración de las fases y frecuencia de activación) que se han obtenido para la simulación osteoporótica tienen una tendencia similar a la reflejada en la literatura (véase Tabla 5.9). Además, los ciclos de RBV y FBV son coherentes con la literatura, siendo los primeros más intensos pero de menor duración y los segundos similares entre ellos (véase la Figura 5.12). Comparando la variación presentada frente al caso de un paciente sano los resultados obtenidos difieren sin llegar a superar un 45 % (véase Tabla 5.10), lo cual implica que a futuro se podría ajustar el modelo para lograr unos resultados más próximos a los reflejados en la literatura. Atendiendo a los resultados obtenidos para la evolución de la fracción volumétrica ósea (f_{bm}) estos son coherentes, ya que al simular los efectos de la enfermedad f_{bm} presenta una disminución (véase la Figura 5.11). Al ajuste futuro comentado anteriormente, sería interesante sumar un correcto ajuste de la disminución de la fracción volumétrica de densidad ósea (f_{bm}) junto con la evolución de la pérdida de densidad ósea (BDG) que permite estudiar la variación de la porosidad, para que se asemeje a los resultados experimentales.

Una vez obtenida la primera simulación con los efectos de la enfermedad que sirve como punto de partida para el estudio de la osteoporosis se simula el tratamiento del fármaco denosumab. Atendiendo a la evolución de f_{bm} , la inclusión del tratamiento revierte el efecto de la osteoporosis provocando un aumento de la fracción volumétrica de densidad ósea (véase la Figura 5.13). Esta evolución no es del todo correcta debido a que se debería de "congelar" la pérdida de masa ósea, no producir un aumento en la misma.

Al igual que la simulación osteoporótica, supone un punto de partida para el modelado de la enfermedad y el tratamiento considerándose como una primera aproximación al estudio, no como los resultados presentados anteriormente que buscan una mayor precisión y coherencia con los valores expresados en la literatura.

6 Conclusiones y líneas futuras

En este capítulo se realiza una evaluación de los resultados obtenidos en el estudio y se extraen las implicaciones más relevantes para el campo de investigación en cuestión. A partir de la discusión de las limitaciones del trabajo se plantean recomendaciones para futuras investigaciones que permitan superarlas y avanzar en el desarrollo del tema.

6.1 Conclusiones

En este trabajo, se ha adaptado un modelo de poblaciones celulares local y temporal desarrollado previamente introduciendo modificaciones que afectan a la disponibilidad de algunas células óseas. Este nuevo modelo se implementó en un dominio espacial 3D y se simuló mediante elementos finitos permitiendo lograr la activación intermitente de BMUs y su progresión a lo largo de la malla, teniendo lugar las fases que suceden durante la vida de una BMU bien diferenciadas y varios eventos de remodelación distribuidos por toda la pieza ósea.

Se alcanza un nuevo estado de homeostasis tras una pequeña perturbación del equilibrio que incluye un estado de subcarga, aunque se observan pequeñas oscilaciones de f_{bm} debido a los ciclos intermitentes de las BMUs. La forma de los ciclos de reabsorción y formación obtenidos con el modelo es bastante precisa.

El desfase entre las fases de reabsorción y formación (fase de inversión) surge de forma natural del modelo debido a dos razones:

1. Vía TGF- β , que demostró tener un papel clave en el acoplamiento de la reabsorción y la formación.
2. Los umbrales implementados para activar y desactivar la diferenciación de precursores a células maduras, que modelan el proceso para que ocurra de manera intermitente.

Las duraciones medias de las fases de la BMU (reabsorción, inversión, formación y quiescencia) obtenidas en este trabajo son similares a las encontradas en la literatura. Utilizar el concepto de vecindad y limitar la activación de una BMU dentro de esa vecindad mientras ya exista en ella una BMU activa permite adaptar el modelo local a uno no local, que es capaz de simular la progresión de las BMUs y de arrojar una frecuencia media de activación acorde con la bibliografía.

Por otro lado, se ha analizado la influencia que presenta el daño en la activación de las BMUs en el modelo a partir de la simulación de la grieta. Esto refleja la importancia del daño en el reclutamiento de osteoclastos precursores que permita alcanzar el umbral y activar el proceso de diferenciación y por consiguiente la BMU.

Una vez realizado el ajuste y verificado el correcto funcionamiento del modelo presentado con las modificaciones implementadas, se ha modelado la inclusión del efecto de la enfermedad de la osteoporosis y posteriormente el uso del fármaco denosumab que sirve para paliar los efectos

de dicha enfermedad. Los resultados obtenidos presentan la tendencia reflejada en la literatura, a pesar de que es necesario un correcto ajuste futuro que afine los resultados obtenidos para que se asemejen en mayor medida a la realidad.

Finalmente, es interesante destacar que parte del trabajo realizado y los resultados obtenidos se han presentado en un artículo bajo el nombre de *Spatio-temporal simulations of bone remodelling using a bone cell population model based on cell availability* en la revista *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* [71].

6.2 Líneas futuras

A continuación, se exponen algunas de las líneas futuras que podrían desarrollarse para avanzar en el desarrollo de los modelos de remodelación ósea:

- Una limitación presentada durante los resultados es que al modelar el hueso poroso como un continuo permite a las BMUs moverse en cualquier dirección, mientras que en la realidad sólo podrían progresar sobre el tejido óseo existente, viéndose obligadas a girar para seguir la trabécula, algo que no ocurre en nuestro modelo, que no tiene en cuenta la microestructura del hueso trabecular. Esto requiere un modelo más complejo con restricciones geométricas al movimiento de las BMUs y se deja para futuros trabajos.
- Otra limitación reflejada previamente es el cálculo de la frecuencia de activación 2D. Esta se obtiene a partir histomorfometrías realizando la medición de algunos parámetros óseos como el perímetro o superficie de osteoide, mineral... Y con estos se obtienen la duración de las fases que, finalmente, permiten obtener el valor de la frecuencia. Una futura línea que permitiría ajustar mejor el modelo podría ser encontrar la manera de obtener los parámetros analizados en las histomorfometrías y se llegase a una comparativa correcta de la frecuencia de activación.
- Como se ha reflejado en los resultados obtenidos bajo los efectos de la osteoporosis la tendencia que presenta la variación con respecto al estado sano es similar a la reflejada en la literatura, pero difiere un poco. Una de las propuestas de mejora sería lograr que bajo los efectos de la enfermedad la variación se acerque más a la presentada en la literatura. Esto también debería realizarse con el modelado del fármaco estudiado e incluso sería interesante avanzar en la inclusión tratamientos a partir de otros fármacos como el alendronato.
- Por último, una vez ajustado por completo el modelo de remodelación ósea interna, sería interesante incluir la remodelación ósea externa. Un objetivo ambicioso a corto plazo pero viable a largo y permitiría grandes avances en el campo.

Apéndice A

Parámetros empleados

Parámetro	Valor	Descripción
k_{res}	200 [%]	Velocidad de reabsorción ósea
k_{form}	40 [%]	Velocidad de formación ósea
$\alpha_{TGF-\beta}$	1 [%]	TGF- β almacenado en la matriz ósea
D_{OB_u}	$6.3 \cdot 10^{-4}$ [día ⁻¹]	Velocidad o tasa de diferenciación de OB_u
D_{OB_p}	$1.657 \cdot 10^{-1}$ [día ⁻¹]	Velocidad o tasa de diferenciación de OB_p
A_{OB_a}	0.211 [día ⁻¹]	Velocidad de apoptosis de los OB_a
P_{OB_p}	0.0211 [día ⁻¹]	Velocidad de proliferación OB_p
η	0.04143	Concentración de osteocitos en la matriz ósea
δ_{50}	0.2	Valor del daño a un 50 % de la respuesta máxima
ξ	1.5	Factor de forma para la expresión del RANK
D_{OC_u}	0.42 [día ⁻¹]	Velocidad o tasa de diferenciación de los OC_u
D_{OC_p}	2.10 [día ⁻¹]	Velocidad o tasa de diferenciación de los OC_p
A_{OC_a}	1 [día ⁻¹]	Velocidad de apoptosis de los OC_a
$K_{act}^{TGF-\beta}$	$5.6327 \cdot 10^{-4}$ [pM]	Coefficiente de activación TGF- β
$K_{rep}^{TGF-\beta}$	$1.7543 \cdot 10^{-4}$ [pM]	Coefficiente de represión TGF- β
K_{act}^{PTH}	150 [pM]	Coefficiente de activación PTH
K_{rep}^{PTH}	0.2223 [pM]	Coefficiente de represión PTH
K_{act}^{RANKL}	5.6797 [pM]	Coefficiente de activación RANKL
K_{act}^{MCSF}	1 [pM]	Coefficiente de activación MCSF
$P_{RANKL}^{PMO,max}$	600 [pM/día]	Inyección de RANKL para simular PMO
δ_{PMO}	730	Constante temporal
$K_{d,[RANKL-OPG]}$	$1 \cdot 10^{-3}$ [pM ⁻¹]	Constante de disociación RANKL-OPG
$K_{d,[RANKL-RANK]}$	$3.41 \cdot 10^{-3}$ [pM ⁻¹]	Constante de disociación RANKL-RANK
$K_{d,[RANKL-den]}$	$3.41 \cdot 10^{-3}$ [pM ⁻¹]	Constante de disociación RANKL-denosumab
ξ	0.02	Factor de accesibilidad en la ecuación del denosumab
\tilde{D}_{PTH}	86 [día ⁻¹]	Velocidad de degradación del PTH
β_{OPG}	$1.6249 \cdot 10^8$ [pM/día]	Velocidad mínima de producción de OPG
β_{PTH}	250 [pM/día]	Velocidad de síntesis de PTH
\tilde{D}_{OPG}	0.35 [día ⁻¹]	Velocidad de degradación del OPG
β_{RANKL}	168.4 [pM/día]	Velocidad de producción de RANKL
\tilde{D}_{RANKL}	10.13 [día ⁻¹]	Velocidad de degradación del RANKL
R_{RANKL}	$2.7 \cdot 10^6$	Máximo RANKL en cada superficie celular
$\tilde{D}_{TGF-\beta}$	2 [día ⁻¹]	Velocidad de degradación del TGF- β

κ	0.064 [día ⁻¹]	Velocidad de mineralización (segunda fase)
V_{min}/V_{RVE}	0.442	Volumen mineral del tejido saturado
N	10000	Número de ciclos diarios
ψ_{bm1}	0.2	Valor de la SED para el cambio de pendiente
ψ_{bm2}	1.0	Valor saturación de la SED
MES_r	$1.0 \cdot 10^{-3}$ [με]	Valor MES para valor de SED correspondiente a ψ_r
MES_1	$1.0 \cdot 10^{-9}$ [με]	Valor MES para valor de SED correspondiente a ψ_{bm1}
MES_2	$0.8 \cdot 10^{-3}$ [με]	Valor MES para valor de SED correspondiente a ψ_{bm2}
MES_3	$1.6 \cdot 10^{-3}$ [με]	Valor MES para valor de SED máximo
P_{RANKL}^{mech}	500 [pM]	Valor máximo de producción de RANKL por desuso
γ	2	Factor de forma para el cálculo de la función peso
β	2	Parámetro fatiga
K_t	$1.445 \cdot 10^{53}$	Parámetro fatiga tracción
K_c	$9.333 \cdot 10^{40}$	Parámetro fatiga compresión
δ_t	14.1	Parámetro fatiga tracción
δ_c	10.3	Parámetro fatiga compresión
C_{t2}	-20	Parámetro fatiga
K_c	$9.333 \cdot 10^{40}$	Parámetro fatiga compresión
$OB_u(t_o)$	$1.00 \cdot 10^{-2}$ [pM]	Concentración inicial de OB_u
$OC_u(t_o)$	$1.00 \cdot 10^{-2}$ [pM]	Concentración inicial de OC_u
$OB_p(t_o)$	$1.12 \cdot 10^{-3}$ [pM]	Concentración inicial de OB_p
$OB_a(t_o)$	$5.44 \cdot 10^{-4}$ [pM]	Concentración inicial de OB_a
$OC_u(t_o)$	$9.03 \cdot 10^{-4}$ [pM]	Concentración inicial de OC_u
$OC_p(t_o)$	$1.00 \cdot 10^{-4}$ [pM]	Concentración inicial de OC_p
$OC_a(t_o)$	$1.09 \cdot 10^{-4}$ [pM]	Concentración inicial de OC_a
$f_{bm}(t_o)$	85.66 [%]	Valor inicial de f_{bm}
$dam(t_o)$	$2.39 \cdot 10^{-2}$	Valor inicial del daño

Bibliografía

- [1] R. B. Martin, D. B. Burr, N. A. Sharkey, and D. P. Fyhrie. *Skeletal Tissue Mechanics*. Springer, New York, 2015.
- [2] A. M. Parfitt. Quantum concept of bone remodeling and turnover: implications for the pathogenesis of osteoporosis. *Calcif Tissue Int*, 28(1):1–5, 1979.
- [3] J. Martínez-Reina, J. M. García-Aznar, and M. Domínguez, J. and Doblaré. On the role of bone damage in calcium homeostasis. *J Ther Biol*, 254(3):704–712, 2008.
- [4] P. Manchado-Morales. Implementación de modelos de remodelación ósea en elementos finitos con activación discreta de bmus. *ETSI, Universidad de Sevilla*, 2021.
- [5] P. Pivonka, J. Zimak, D.W. Smith, B.S. Gardiner, C.R. Dunstan, N.A. Sims, T.J. Martin, and G.R. Mundy. Model structure and control of bone remodeling: A theoretical study. *Bone*, 43(2):249–263, 2008.
- [6] J. C. Galofré Ferrater. Osteoporosis. <https://www.cun.es/enfermedades-tratamientos/enfermedades/osteoporosis>, 2022. [Online; Acceso 28-06-2023].
- [7] A. Callejo Mora. Osteoporosis. <https://cuidateplus.marca.com/enfermedades/musculos-y-huesos/osteoporosis.html>, 2022. [Online; Acceso 28-06-2023].
- [8] A. Callejo Mora. Osteoporosis. <https://www.geriatricarea.com/2022/02/17/la-osteoporosis-una-enfermedad-silenciosa-que-afecta-a-casi-3-millones-de-personas-en-espana/>, 2022. [Online; Acceso 28-06-2023].
- [9] M. T. Hermoso de Mendoza. Clasificación de la osteoporosis: Factores de riesgo. clínica y diagnóstico diferencial. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 26:29 – 52, 2003.
- [10] J. Martínez-Reina, J. L. Calvo-Gallego, and P. Pivonka. Are drug holidays a safe option in treatment of osteoporosis? — insights from an in silico mechanistic PK–PD model of denosumab treatment of postmenopausal osteoporosis. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 113:104–140, 2021.
- [11] J. Gordon Betts, K. A. Young, J. A. Wise, E. Johnson, B. Poe, D. H. Kruse, O. Korol, J. E. Johnson, M. Womble, and P. DeSaix. *Anatomy and Physiology*. OpenStax, 2013.
- [12] MedlinePlus. Células de la matriz ósea. <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/002249.htm>, 2019. [Online; Acceso 28-06-2023].
- [13] Blog de iniciación a la anatomía. El esqueleto humano: nuestro sostén y armadura. <https://blogdeanatomia.wordpress.com/tag/huesos/>, 2016. [Online; Acceso 28-06-2023].

- [14] J. Henkel, M. A. Woodruff, D. R. Epari, R. Steck, V. Glatt, I. C. Dickinson, P. F. M. Choong, M. A. Schuetz, and D. W. Huttmacher. Bone regeneration based on tissue engineering conceptions — a 21st century perspective. *Bone Research*, 1:216–248, 2013.
- [15] A. Iborra, M. A. Montañés, and L. Lacalle. Células de la matriz ósea. <http://atlas.gechem.org/es/component/k2/item/9-osteoclasto>, 2018. [Online; Acceso 28-06-2023].
- [16] A. Domingo-Claros. Células de la matriz ósea. <http://atlas.gechem.org/es/component/k2/item/9-osteoclasto>, 2018. [Online; Acceso 28-06-2023].
- [17] A. Consolaro. Miniplates and mini-implants: bone remodeling as their biological foundation. *Dental Press Journal of Orthodontics*, 20:16 – 31, 2015.
- [18] V. Everts, J. M. Delaissé, W. Korper, D. C. Jansen, W. Tigchelaar-Gutter, P. Saftig, and W. Beertsen. The bone lining cell: Its role in cleaning howship’s lacunae and initiating bone formation. *Journal of Bone and Mineral Research*, 17(1):77–90, 2002.
- [19] L. F. Bonewald. The amazing osteocyte. *Journal of Bone and Mineral Research*, 26(2):229–238, 2011.
- [20] M. Pérez-Alcaraz. Osteoporosis. huesos frágiles. *Farmacia Profesional*, 16:7–90, 2002.
- [21] SEER Training Modules. Structure of Bone Tissue. <https://training.seer.cancer.gov/anatomy/skeletal/tissue.html>, 2021. [Online; Acceso 28-06-2023].
- [22] V. Mooney. Bone Remodeling and its Relationship to Metabolic Bone Diseases. *Physical Therapy*, 53(10):1146–1146, 1973.
- [23] J. Gasser and M. Kneissel. *Bone Physiology and Biology*. Springer, Cham, 2017.
- [24] H. M. Frost. Bone’s mechanostat: a 2003 update. *The anatomical record. Part A, Discoveries in molecular, cellular, and evolutionary biology*, 275A:1081–1101, 2003.
- [25] Pontificia Universidad Católica de Chile. Desarrollo del esqueleto y consolidación ósea. <http://www.docencia-traumatologia.uc.cl/desarrollo-del-esqueleto-y-consolidacion-osea/>, 2021. [Online; Acceso 14-05-2023].
- [26] R. B. Martin. Toward a unifying theory of bone remodeling. *Bone*, 26(1):1–6, 2000.
- [27] M. Spasic and C. R. Jacobs. Lengthening primary cilia enhances cellular mechanosensitivity. *Eur Cell Mater*, (33):158–168, 2017.
- [28] R. Levasseur. Fisiología del tejido óseo. *EMC - Aparato Locomotor*, 52(2):1–25, 2019.
- [29] B. Lisowska, D. Kosson, and K. Domaracka. Lights and shadows of NSAIDs in bone healing: The role of prostaglandins in bone metabolism. *Drug Design, Development and Therapy*, Volume 12:1753–1758, 2018.
- [30] P. Pivonka. *Multiscale Mechanobiology of Bone Remodeling and Adaptation*. Springer, Cham, 2018.
- [31] B. Langdahl, S. Ferrari, and D. W. Dempster. Bone modeling and remodeling: potential as therapeutic targets for the treatment of osteoporosis. *Therapeutic advances in musculoskeletal disease*, 8(6):225–235.

- [32] D. W. Dempster, H. Zhou, R. R. Recker, J. P. Brown, C. P. Recknor, E. M. Lewiecki, P. D. Miller, S. D Rao, D. L. Kendler, R. Lindsay, J. H. Krege, J. Alam, K. A Taylor, T. E Melby, and V. A. Ruff. Remodeling- and modeling-based bone formation with teriparatide versus denosumab: A longitudinal analysis from baseline to 3 months in the ava study. *Journal of Bone and Mineral Research*, 33(2):298–306, 2018.
- [33] P. Pivonka and S. V. Komarova. Mathematical modeling in bone biology: From intracellular signaling to tissue mechanics. *Bone*, 47(2):181–189, 2010.
- [34] I. Rodríguez-García and M. Rodríguez-Pérez. Teriparatida (1-34 hormona paratiroidea recombinante humana): un potente fármaco osteoformador para el tratamiento de la osteoporosis postmenopáusica. *Canarias médica y quirúrgica*, 3(9):63–67, 2006.
- [35] R. Lindsay and F. Cosman. *Principios de Medicina Interna: Osteoporosis*. McGraw Hill, 20 edition, 2021.
- [36] A. Fathi-Kazerooni, J. María-Pozo, E. V. McCloskey, H. Salighed Rad, and A. F. Frangi. Diffusion MRI for assessment of bone quality; a review of findings in healthy aging and osteoporosis. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 51, 2019.
- [37] R. Pérez-Cano and R. Pérez-Temprano. Protocolos osteoporosis: Capítulo II. *Sociedad Española de Medicina Interna*, pages 21–41, 2002.
- [38] L. C. Hofbauer and M. Schoppet. Clinical implications of the osteoprotegerin/rankl/rank system for bone and vascular diseases. *JAMA*, 292(4):490–5, 2004.
- [39] J. del Pino-Montes. Osteoporosis: Concepto e importancia. cuadro clínico. *Revista de Osteoporosis y Metabolismo mineral*, 2:15–20, 2010.
- [40] J. Martínez-Reina, J. Ojeda, and J. Mayo. On the use of bone remodelling models to estimate the density distribution of bones. Uniqueness of the solution. *PLoS One*, 11(2):e0148603, 2016.
- [41] J. L. Calvo-Gallego, F. Gutiérrez-Millán, J. Ojeda, M. A. Pérez, and J. Martínez-Reina. The correlation between bone density and mechanical variables in bone remodelling models: Insights from a case study corresponding to the femur of a healthy adult. *Mathematics*, 10(18):3367, 2022.
- [42] J. Martínez-Reina, J. M. García-Aznar, and M. Domínguez, J. and Doblaré. Numerical estimation of bone density and elastic constants distribution in a human mandible. *J Biomech*, 40(4):828–836, 2007.
- [43] J. Ojeda, J. Martínez-Reina, J. M. García-Aznar, and M. Domínguez, J. and Doblaré. Numerical simulation of bone remodelling around dental implants. *Proc Inst Mech Eng H: J Eng Med*, 225(9):897–906, 2011.
- [44] J. Martínez-Reina, J. M. García-Aznar, J. Domínguez, and M. Doblaré. A bone remodelling model including the directional activity of BMUs. *Biomech Model Mechanobiol*, 8(2):111–127, 2009.
- [45] J. Martínez-Reina, I. Reina, J. Domínguez, and J.M. García-Aznar. A bone remodelling model including the effect of damage on the steering of BMUs. *J Mech Behav Biomed Mater*, 32:99–112, 2014.

- [46] J. Martínez-Reina and P. Pivonka. Effects of long-term treatment of denosumab on bone mineral density: insights from an in-silico model of bone mineralization. *Bone*, 125:87–95, 2019.
- [47] J. Martínez-Reina, J. L. Calvo-Gallego, Martin. M., and P. Pivonka. Assessment of strategies for safe drug discontinuation and transition of denosumab treatment in PMO – Insights from a mechanistic PK/PD model of bone turnover. *Front Bioeng Biotechnol*, 10:886579, 2022.
- [48] J. Martínez-Reina, J. L. Calvo-Gallego, and P. Pivonka. Combined effects of exercise and denosumab treatment on local failure in post-menopausal osteoporosis—insights from bone remodelling simulations accounting for mineralisation and damage. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 2021.
- [49] J. L. Calvo-Gallego, P. Pivonka, R. Ruiz-Lozano, and J. Martínez-Reina. Mechanistic PK-PD model of alendronate treatment of postmenopausal osteoporosis predicts bone site-specific response. *Front Bioeng Biotechnol*, 10:940620, 2022.
- [50] P. Pivonka, P. R. Buenzli, S. Scheiner, C. Hellmich, and C. R. Dunstan. The influence of bone surface availability in bone remodelling—a mathematical model including coupled geometrical and biomechanical regulations of bone cells. *Engineering Structures*, 47:134–147, 2013.
- [51] R. B. Martin. Porosity and specific surface of bone. *Crit Rev Biomed Eng*, 10(3):179–222, 1984.
- [52] J. M. Garcia-Aznar, T. Rüberg, and M. Doblaré. A bone remodelling model coupling microdamage growth and repair by 3D BMU-activity. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, 4:147–67, 2005.
- [53] C.A. Pattin, W.E. Caler, and D.R. Carter. Cyclic mechanical property degradation during fatigue loading of cortical bone. *Journal of Biomechanics*, 29(1):69–79, 1996.
- [54] J. Martínez-Reina, J. García-Aznar, J.M. Domínguez, and M. Doblaré. A bone remodelling model including the directional activity of BMUs. *Biomech Model Mechanobiol*, 8:111–127, 2009.
- [55] J. D. Currey. Tensile yield in compact bone is determined by strain, post-yield behaviour by mineral content. *Journal of Biomechanics*, 37(4):549–556, 2004.
- [56] D. D. Marathe, A. Marathe, and D. E. Mager. Integrated model for denosumab and ibandronate pharmacodynamics in postmenopausal women. *Biopharmaceutics Drug Disposition*, 32(8):471–481, 2011.
- [57] G. Vaes, J. M. Delaissé, and Y. Eeckhout. Relative roles of collagenase and lysosomal cysteine-proteinases in bone resorption. *Matrix Suppl*, 1:383–388, 1992.
- [58] E. H. Burger, J. Klein-Nulend, and T. H. Smit. Strain-derived canalicular fluid flow regulates osteoclast activity in a remodelling osteon—a proposal. *J Biomech*, 36(10):1453–1459, 2003.
- [59] E. F. Eriksen, H. J. Gundersen, F. Melsen, and L. Mosekilde. Reconstruction of the formative site in iliac trabecular bone in 20 normal individuals employing a kinetic model for matrix and mineral apposition. *Metab Bone Dis Relat Res*, 5:243–252, 1984.
- [60] S. J. Hazelwood, R. B. Martin, M. M. Rashid, and J. J. Rodrigo. A mechanistic model for internal bone remodeling exhibits different dynamic responses in disuse and overload. *J Biomech*, 34(3):299–308, 2001.

- [61] J. M. Delaisse. The reversal phase of the bone-remodeling cycle: cellular prerequisites for coupling resorption and formation. *BoneKEY Reports*, 3:Article ID 561, 2014.
- [62] T. J. Martin. Aspects of intercellular communication in bone and implications in therapy. *Bone*, 153:116148, 2021.
- [63] H. Zhou, R. Chernenky, and J. E. Davies. Deposition of cement at reversal lines in rat femoral bone. *J Bone Miner Res*, 9:367–374, 1994.
- [64] N. A. Sims and T. J. Martin. Coupling the activities of bone formation and resorption: a multitude of signals within the basic multicellular unit. *Bonekey Rep ;3:.*, 3:481, 2014.
- [65] N. A. Sims and R. Civitelli. Cell-cell signaling: broadening our view of the basic multicellular unit. *Calcif Tissue Int*, 94:2–3, 2014.
- [66] K. Henriksen, M. A. Karsdal, and T. J. Martin. Osteoclast-derived coupling factors in bone remodeling. *Calcif Tissue Int*, 94:88–97, 2014.
- [67] B. J. Kim and J. M. Koh. Coupling factors involved in preserving bone balance. *Cell Mol Life Sci*, 76:1243–1253, 2019.
- [68] M. M. Durdan, R. D. Azaria, and M. M. Weivoda. Novel insights into the coupling of osteoclasts and resorption to bone formation. *Semin Cell Dev Biol*, 123:4–13, 2022.
- [69] T. L. Andersen, M. E. Abdelgawad, H. B. Kristensen, E. M. Hauge, L. Rolighed, J. Bollerslev, P. Kjærsgaard-Andersen, and J. M. Delaisse. Understanding coupling between bone resorption and formation: are reversal cells the missing link? *Am J Pathol*, 183(1):235–246, 2013.
- [70] P. Pivonka, J. Zimak, D.W. Smith, B.S. Gardiner, C.R. Dunstan, N.A. Sims, T.J. Martin, and G.R. Mundy. Model structure and control of bone remodeling: A theoretical study. *Bone*, 43(2):249–263, 2008.
- [71] J. L. Calvo-Gallego, P. Manchado-Morales, P. Pivonka, and J. Martínez-Reina. Spatio-temporal simulations of bone remodelling using a bone cell population model based on cell availability. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11, 2023.
- [72] P. R. Buenzli, P. Pivonka, B. S. Gardiner, and D. W. Smith. Modelling the anabolic response of bone using a cell population model. *J Theor Biol*, 307:42–52, 2012.
- [73] J. L. Calvo-Gallego, P. Pivonka, J. M. García-Aznar, and J. Martínez-Reina. A novel algorithm to resolve lack of convergence and checkerboard instability in bone adaptation simulations using non-local averaging. *International Journal for Numerical Methods in Biomedical Engineering*, 37(2):e3419, 2021.
- [74] Wikipedia. Entorno (matemática). https://es.wikipedia.org/wiki/Entorno_%28matem%C3%A1tica%29, 2021. [Online; Acceso 28-06-2023].
- [75] MIT. Eight-node brick element with reduced integration (C3D8R and F3D8R). https://web.mit.edu/calculix_v2.7/CalculiX/ccx_2.7/doc/ccx/node27.html, 2014. [Online; Acceso 28-06-2023].
- [76] A. M. Parfitt. Targeted and nontargeted bone remodeling: relationship to basic multicellular unit origination and progression. *Bone*, 30(1):5–7, 2002.
- [77] T. H. Smit and E. H. Burger. Is BMU-coupling a strain-regulated phenomenon? A finite Element analysis. *J Bone Miner Res*, 15(2):301–307, 2010.

- [78] R. B. Martin. On the histologic measurement of osteonal BMU activation frequency. *Bone*, 15(5):547–549, 1994.
- [79] H. M. Frost. *Mathematical elements of lamellar bone remodelling*. Charles C. Thomas Co., Springfield, IL, 1964.
- [80] J. Compston, L. Skingle, and D. W. Dempster. Chapter 53 - bone histomorphometry. In David Feldman, editor, *Vitamin D (Fourth Edition)*, pages 959–973. Academic Press, fourth edition edition, 2018.
- [81] R. B. Martin. Porosity and specific surface of bone. *Crit Rev Biomed Engl*, 10(3):179–222, 1984.
- [82] C. J. Hernandez, S. J. Hazelwood, and R. B. Martin. The relationship between basic multicellular unit activation and origination in cancellous bone. *Bone*, 25(5):585–587, 1999.
- [83] C. A. Pattin, W. E. Caler, and D. R. Carter. Cyclic mechanical property degradation during fatigue loading of cortical bone. *J Biomech*, 29(1):69–79, 1996.
- [84] T. Steiniche, P. Christiansen, A. Vesterby, C. Hasling, R. Ullerup, et al. Marked changes in iliac crest bone structure in postmenopausal osteoporotic patients without any signs of disturbed bone remodeling or balance. *Bone*, 15(1):73–79, 1994.
- [85] E. F. Eriksen, S. F. Hodgson, R. Eastell, S. L. Cedel, W. M. O’Fallon, and B. L. Riggs. Cancellous bone remodeling in type I (postmenopausal) osteoporosis: quantitative assesment of rates of formation, resorption and bone loss at tissue and cellular levels. *J Bone Miner Res*, 5(4):311–319, 1990.
- [86] D. Quexada, S. Ramtani, O. Trabelsi, K. Marquez, M. C. Ho Ba Tho, D. L. Linero Segrera, C. Duque-Daza, and D. A. Garzón Alvarado. A unified framework of cell population dynamics and mechanical stimulus using a discrete approach in bone remodelling. *Comput Methods Biomech Biomed Engin*, 19:1–13, 2022.
- [87] S. V. Komarova, R. J. Smith, S. J. Dixon, S. M. Sims, and L. M. Wahl. Mathematical model predicts a critical role for osteoclast autocrine regulation in the control of bone remodeling. *Bone*, 33(2):206–215, 2003.
- [88] M. D. Ryser, N. Nigam, and S. V. Komarova. Mathematical modeling of spatio-temporal dynamics of a single Bone Multicellular Unit. *J Bone Miner Res*, 24(5):860–870, 2009.
- [89] Y. Kameo, Y. Miya, M. Hayashi, T. Nakashima, and T. Adachi. In silico experiments of bone remodeling explore metabolic diseases and their drug treatment. *Sci Adv*, 6(10):eaax0938, 2020.
- [90] D. C. Tourolle, D. W. Dempster, C. Ledoux, D. Boaretti, M. Aguilera, N. Saleem, and R. Müller. Ten-year simulation of the effects of denosumab on bone remodeling in human biopsies. *JMBR Plus*, 5(6):e10494, 2021.
- [91] P. R. Buenzli, P. Pivonka, and D. W. Smith. Spatio-temporal structure of cell distribution in cortical bone multicellular units: a mathematical model. *Bone*, 48(4):918–926, 2011.
- [92] P. R. Buenzli, J. Jeon, P. Pivonka, D. W. Smith, and P. T. Cummings. Investigation of bone resorption within a cortical basic multicellular unit using a lattice-based computational model. *Bone*, 50(1):378–389, 2012.
- [93] H. C. Blair. How the osteoclast degrades bone. *Bioessays*, 20(10):837–846, 1998.

-
- [94] A. Vesterby, Li. Mosekilde, H. J. G. Gundersen, F. Melsen, Le. Mosekilde, K. Holme, and S. Sorensen. Biologically meaningful determinants of the in vitro strength of lumbar vertebrae. *Bone*, 12:219–224, 1991.