

Trabajo Fin de Grado
Grado en Ingeniería en Tecnologías Industriales

Modelo de Remodelación Ósea Basado en
Poblaciones Celulares con el Efecto de los
Osteocitos

Autor: Laura Bordons Carriazo

Tutor: Javier Martínez Reina

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

Sevilla, 2016



Trabajo Fin de Grado
Grado en Ingeniería en Tecnologías Industriales

Modelo de Remodelación Ósea Basado en Poblaciones Celulares con el Efecto de los Osteocitos

Autor:

Laura Bordons Carriazo

Tutor:

Javier Martínez Reina

Profesor Contratado Doctor

Dep. Ingeniería Mecánica y Fabricación

Escuela Técnica Superior de Ingeniería

Universidad de Sevilla

Sevilla, 2016

Trabajo Fin de Grado: Modelo de Remodelación Ósea Basado en Poblaciones Celulares con el Efecto de los Osteocitos

Autor: Laura Bordons Carriazo

Tutor: Javier Martínez Reina

El tribunal nombrado para juzgar el Trabajo arriba indicado, compuesto por los siguientes miembros:

Presidente:

Vocales:

Secretario:

Acuerdan otorgarle la calificación de:

Sevilla, 2016

El Secretario del Tribunal

A mi familia
A mis maestros
A mis amigos

1	Introducción	1
1.1	<i>Motivación</i>	1
1.2	<i>Objetivos</i>	2
1.3	<i>Estructura del documento</i>	2
2	Biología ósea	3
2.1	<i>Tipos de hueso</i>	3
2.1.1	Huesos largos	3
2.1.2	Huesos cortos	4
2.1.3	Huesos planos	4
2.1.4	Huesos irregulares	4
2.1.5	Huesos sesamoideos	5
2.2	<i>Tejido óseo</i>	5
2.2.1	Matriz ósea	5
2.2.2	Células óseas	5
2.3	<i>Tipos de tejido óseo</i>	7
2.3.1	Tejido óseo cortical	7
2.3.2	Tejido óseo trabecular	8
2.4	<i>Comportamiento mecánico del hueso</i>	8
2.4.1	Hueso cortical	8
2.4.2	Hueso trabecular	9
2.5	<i>Remodelación ósea</i>	10
2.5.1	Fisiología del proceso de ROI	10
2.5.2	Etapas de la ROI	11
3	Modelos matemáticos de remodelación ósea basados en poblaciones celulares	13
3.1	<i>Modelo de Pivonka 2008</i>	13
3.1.1	Mecanismos bioquímicos	13
3.1.2	Modelo dinámico de poblaciones celulares	15
3.1.3	Moléculas involucradas en el modelo de poblaciones celulares	18
3.2	<i>Proliferación de OB: Modelo de Buenzli y Pivonka 2012</i>	21
3.2.1	Nuevos parámetros	22
3.3	<i>Modelo de Pivonka 2013</i>	23
3.3.1	Descripción del modelo	24
3.3.2	Desarrollo del modelo	26
3.4	<i>Daño y mineralización</i>	31
3.4.1	Producción de RANKL debida al daño	31
3.4.2	Proceso de mineralización	34
3.5	<i>Papel de los osteocitos en la remodelación ósea</i>	36
3.5.1	Influencia de los osteocitos en la formación ósea	37
3.5.2	Influencia de los osteocitos en la reabsorción ósea	37
3.5.3	Formación y apoptosis de osteocitos	38
4	Resultados	43

4.1	<i>Influencia de A_{OCy}</i>	46
4.1.1	OBa	46
4.1.2	OBp	47
4.1.3	OCa	48
4.1.4	OCp	49
4.1.5	OCy	50
4.1.6	Porosidad	50
4.1.7	Fracción de ceniza	51
4.1.8	Daño	52
4.2	<i>Influencia de N_{OCy}^{RANKL}</i>	53
4.2.1	OBa	54
4.2.2	OBp	55
4.2.3	OCa	55
4.2.4	OCp	56
4.2.5	OCy	57
4.2.6	Porosidad	58
4.2.7	Fracción de ceniza	59
4.2.8	Daño	59
4.3	<i>Comparación con el caso nominal</i>	60
4.3.1	Comparación en función de A_{OCy}	61
4.3.2	Comparación en función de N_{OCy}^{RANKL}	62
5	Conclusiones y trabajos futuros	63
5.1	<i>Conclusiones</i>	63
5.2	<i>Trabajos futuros</i>	64
	Bibliografía	65
	Anexo A: osteocitos1.m	69
	Anexo B: dano2.m	75
	Anexo C: mineral.m y calmineral.m	77

1 INTRODUCCIÓN

La masa y arquitectura del hueso están influenciadas por las cargas mecánicas a las que este tejido se somete durante la actividad física diaria. Dichas cargas determinan el comportamiento del tejido óseo, el cual se manifiesta a través de un proceso repetido de renovación realizado por las células óseas: la remodelación ósea. Gracias a este proceso el hueso se adapta al medio mecánico y biológico que le rodea, al mismo tiempo que consigue conservar la homeostasis de Calcio en el cuerpo.

La remodelación ósea es realizada por una asociación temporal de células llamada *basic multicelular unit* (BMU) compuesta por un conjunto de células que reabsorben y que segregan hueso (osteoclastos y osteoblastos, respectivamente) que de una forma secuencial y organizada realizan este proceso dando como resultado posibles cambios en la porosidad del hueso, anisotropía, una disminución en la densidad de microgrietas y una disminución en el contenido de mineral [1]. Este último hecho tiene lugar gracias a que las BMUs actúan sobre el tejido óseo más viejo, es decir, el más mineralizado y por tanto, el más dañado, pues presentará mayor número de microgrietas, y sustituyen ese tejido por uno nuevo e intacto llamado osteoide, el cual está compuesto inicialmente solo de materia orgánica (principalmente colágeno y agua).

1.1 Motivación

En el periodo de vida de una BMU podemos distinguir tres etapas [2]: activación, reabsorción y formación, seguidas de una etapa de inactividad. Muchas enfermedades óseas como la osteoporosis, la enfermedad de Paget o el cáncer de hueso se deben a desequilibrios en el ciclo activación-reabsorción-formación de la remodelación ósea. De aquí surge la motivación de este trabajo por estudiar el comportamiento de las células óseas que llevan a cabo la remodelación. Estas células son principalmente de dos tipos: las de linaje osteoclástico, derivadas de células hematopoyéticas, y las de linaje osteoblástico, procedentes de células mesenquimales localizadas en la médula ósea, el bazo o el hígado. Durante la actividad de una BMU podemos encontrar estas células en diferentes estados de maduración desde su diferenciación a partir de las células ya mencionadas hasta su muerte celular o apoptosis.

Además de la actuación de dichas células, numerosas investigaciones revelan interacciones endocrinas, paracrinas y autocrinas que implican la participación de receptores y ligandos en el proceso de remodelación ósea. Sin embargo, debido a la complejidad del sistema regulatorio del hueso y de los numerosos factores e interacciones implicadas, aún no se comprende por completo el comportamiento de dicho sistema.

Los modelos matemáticos proporcionan una herramienta poderosa para reducir la ambigüedad y comprender las causas y los efectos de sistemas complejos, nos permiten probar hipótesis experimentales y teóricas, hipótesis que serían difíciles o imposibles de comprobar in-vitro o in-vivo. A pesar de esto, existen relativamente pocos modelos matemáticos que estudien el efecto de las interacciones conocidas entre las células óseas, entre ellos se encuentran el modelo propuesto por Kamarova et al. [3], el modelo de Lemaire et al. [4] o el modelo de Pivonka et al. [2]. Los dos primeros modelos permiten realizar investigaciones cuantitativas de varios aspectos de la remodelación ósea, incluyendo la eficacia de terapias actuales y la verificación de hipótesis. Sin embargo, el modelo de Pivonka et al. es el primero en investigar la estructura del modelo de interacciones célula a célula de manera teórica.

A raíz de esto, motivados por el interés en conocer mejor todo el proceso de remodelación ósea y dado el escaso número de modelos existentes en los que se estudie dicho proceso, se decide desarrollar el modelo ya propuesto por Pivonka et al. para tratar de acercarlo cada vez más a la realidad del proceso de remodelación.

1.2 Objetivos

Pivonka et al. [2] considera como variables dinámicas del modelo las poblaciones celulares de osteoblastos precursores (OBp), osteoblastos activos (OBa) y osteoclastos activos (OCa), en modelos posteriores [5] incluye también la población de osteoclastos precursores (OCp). Es por ello que el objetivo principal de este trabajo se centra en incluir una población celular más al modelo, la población de osteocitos.

Los osteocitos son células no proliferativas terminalmente diferenciadas del linaje de los osteoblastos, es decir, que se originan en la etapa final de la diferenciación de los osteoblastos. Cuando un osteoblasto alcanza su estado de madurez puede diferenciarse en células de borde, osteocitos o simplemente sufrir apoptosis. Todas estas etapas celulares serán explicadas con mayor detalle en los capítulos posteriores.

Los osteocitos se encuentran enterrados en la matriz ósea ocupando unos espacios llamados lagunas osteocíticas que están conectadas entre sí a través de unos conductos denominados canalículos. A través de estos conductos los osteocitos pueden enviar señales a las células óseas que les rodean y de esta forma informar del estado del tejido óseo en cada momento. Dichas señales son emitidas a través de moléculas que al entrar en contacto con las células óseas pueden alterar su comportamiento y diferenciación. Un ejemplo de estas moléculas es el *ligando del receptor activador del factor nuclear kappa-beta* (RANKL) que tiene un papel fundamental en la diferenciación de osteoclastos.

Como podemos comprobar, los osteocitos juegan un papel fundamental en el proceso de remodelación ósea y de ahí el interés en pasar a considerarlos como una variable dinámica más del modelo matemático.

Con el fin de llevar a cabo nuestro objetivo principal, será necesario diseñar una serie de ecuaciones que permitan implementar el efecto de los osteocitos en el modelo ya existente. A raíz de la creación de las nuevas ecuaciones surgen una serie de objetivos particulares centrados en analizar el efecto de los nuevos parámetros implementados sobre las variables dinámicas del modelo y su adecuación a unos resultados coherentes. Es decir, trataremos de analizar cómo de sensible es el modelo a variaciones en los nuevos parámetros de forma que se llegue a soluciones estables y, por tanto, aceptables.

1.3 Estructura del documento

En primer lugar, a lo largo del Capítulo 2 se desarrollan varias nociones sobre biología ósea de importante relevancia para la mejor comprensión del documento. Entre ellas, se tratará de explicar la composición del hueso, los tipos de huesos y tejidos óseos y, por supuesto, el proceso de remodelación ósea, cuya comprensión es crucial para entender la importancia de este trabajo.

En segundo lugar, en el Capítulo 3, se realiza un recorrido por los modelos de remodelación ósea más relevantes para la elaboración de nuestro proyecto. Comenzando por el modelo de Pivonka et al. [2], pasando por modelos posteriores como el de Buenzli et. al [6], el de Pivonka et al. de 2013 [5] o el de Buenzli de 2015 [7]. Además, en este capítulo se desarrollan las nuevas ecuaciones creadas para incluir el efecto de los osteocitos en los modelos anteriores, dando lugar a expresiones que o bien modifican las ya existentes, o bien son completamente nuevas.

El Capítulo 4 es el cuerpo central de este documento, en él se exponen los resultados obtenidos tras la aplicación del nuevo modelo. Se analiza la influencia de los nuevos parámetros en las poblaciones de OBa, OBp, OCa, OCp y osteocitos, así como en el daño, la porosidad y la fracción de ceniza.

Finalmente, en el Capítulo 5 se exponen las conclusiones obtenidas tras el análisis de los resultados, dando lugar a la consideración de este nuevo modelo como un modelo válido y útil para alcanzar los objetivos que hemos planteado.

2 BIOLOGÍA ÓSEA

El sistema musculoesquelético da forma y movimiento al cuerpo humano. Huesos, articulaciones, músculos y ligamentos forman parte de este sistema. En adelante nos centraremos en el estudio de la parte esquelética del mismo, es decir, en los 206 huesos, que unidos mediante articulaciones, conforman el esqueleto humano.

Los huesos desempeñan una serie de funciones fundamentales para la vida y el desarrollo del individuo, entre las cuales destacan las siguientes:

1. **Función estructural:** proporcionan un soporte y dan forma al cuerpo, actuando como sostén contra la fuerza de la gravedad. Sirven de protección a los órganos vitales, manteniéndolos a salvo frente a impactos.
2. **Función locomotora:** su interacción con el sistema muscular permite la generación de movimiento, gracias a la acción combinada de músculos, huesos, articulaciones y tendones.
3. **Reserva de minerales:** los huesos actúan como reserva de calcio, cuando este mineral escasea en alguna zona del cuerpo, es posible extraerlo del hueso y transportarlo a través de la sangre hasta donde sea necesario.
4. **Almacén de médula ósea:** la médula ósea se encuentra relleno de los poros del tejido óseo, desde donde actúa como fuente principal de producción de células madre, glóbulos rojos y glóbulos blancos, esenciales para nuestro organismo.

Los huesos, además de las funciones anteriores, son capaces de “regenerarse”, es decir, se van renovando conforme el tejido va envejeciendo dando lugar a un nuevo hueso más joven, con menor cantidad de mineral. De esta forma se reduce el desgaste provocado por el uso diario o los malos hábitos. Todo este proceso de renovación se denomina remodelación ósea y es el motivo por el cual se ha decidido llevar a cabo este trabajo. Estudiando y modelando el proceso de remodelación ósea es posible acercarse al comportamiento del tejido óseo, posibilitando el control y la prevención de enfermedades causadas por fallos en el mismo.

A continuación expondremos los tipos, la composición, la estructura y las propiedades mecánicas del hueso para poder entender con mayor claridad el proceso de remodelación ósea.

2.1 Tipos de hueso

Según su forma y sus funciones los huesos pueden clasificarse en los siguientes grupos: huesos largos, huesos cortos, huesos planos, huesos irregulares y huesos sesamoideos.

2.1.1 Huesos largos

En este tipo de huesos una dimensión predomina respecto a las otras dos, ejemplos de ello son el fémur, la tibia o el húmero. Son huesos acostumbrados a soportar cargas muy elevadas y de naturaleza variada según su posición en el esqueleto: flexión-compresión, flexión-tracción o sólo flexión. Ya en el siglo XVII, Borelli [8] explicó porqué las cargas soportadas por este tipo de huesos podían ser tan elevadas. El motivo es que para que sea posible el movimiento de las extremidades, los músculos tienen que contraerse y tirar de los huesos, sin embargo, la contracción que producen estos está muy limitada y es necesario amplificarla para poder realizar movimientos normales. En este proceso, los huesos actúan como palanca recibiendo las reacciones provocadas por las contracciones musculares. Por ejemplo, para levantar un peso con la mano, el bíceps, que se inserta en el radio (hueso largo), debe ejercer una fuerza nueve veces mayor que el peso que ha de levantar y toda este esfuerzo recaerá por tanto en el hueso.

En los huesos largos se pueden distinguir tres regiones anatómicas (ver Figura 2.1): a) Epífisis; son los extremos del hueso, constituidos por hueso trabecular recubierto de una capa de hueso cortical. Es la parte encargada de interaccionar con los otros huesos para formar las articulaciones mediante el cartílago articular que se encuentra en su extremo. b) Diáfisis; es la zona central del hueso plano, tiene forma de cilindro hueco con paredes gruesas formadas por tejido óseo cortical. En su interior se encuentra la médula ósea. c) Metáfisis;

es la zona intermedia entre las dos anteriores. La diáfisis se ensancha en los extremos, a la vez que disminuye el espesor de la capa de tejido cortical y comienza a aparecer hueso trabecular.

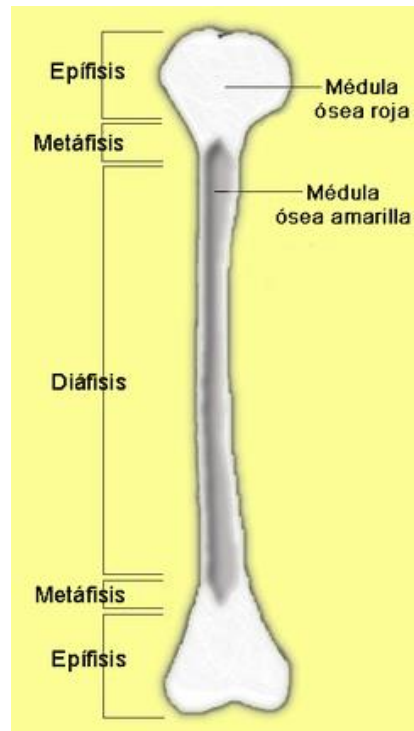


Figura 2.1. Partes del hueso largo. Tomado de [9].

2.1.2 Huesos cortos

Los huesos cortos no tienen una dimensión predominante, todas las dimensiones son del mismo orden. Suelen encontrarse agrupados y permiten el movimiento de las extremidades. Su función fundamental es dar sostén y soportar pesos. Ejemplos de este tipo de hueso son las vértebras, el carpo o el tarso. Ver Figura 2.2.

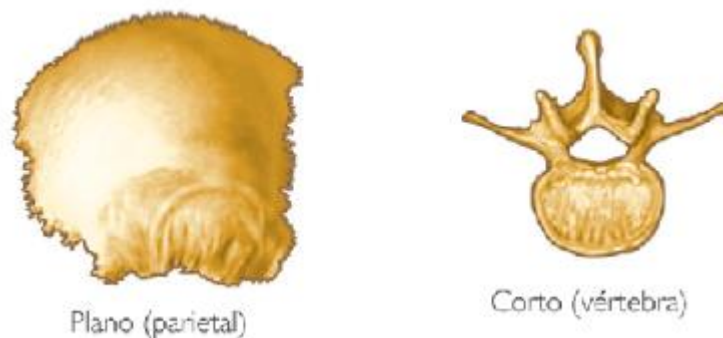


Figura 2.2. Hueso plano y hueso corto. Adaptado de [10].

2.1.3 Huesos planos

Se caracterizan por tener dos dimensiones mucho mayores que la tercera. Su función principal es proteger los órganos y las zonas delicadas del cuerpo, como el caso del cráneo, que protege el cerebro. Son huesos que apenas soportan cargas. Su forma es aplanada. Otros ejemplos de este tipo de huesos son el omóplato y las crestas ilíacas. Ver Figura 2.2.

2.1.4 Huesos irregulares

Son huesos de formas características y diferentes, de tal manera que no pueden encuadrarse dentro de los tipos anteriores. Los huesecillos del oído representan ejemplos claros de huesos irregulares.

2.1.5 Huesos sesamoideos

Se trata de huesos pequeños y redondeados que se encuentran junto a las articulaciones. Tienen la misión de incrementar la función de palanca de los músculos. Un ejemplo de este tipo de huesos es la rótula. Ver Figura 2.3.



Figura 2.3. Hueso sesamoideo: rótula. Tomado de [11].

2.2 Tejido óseo

El tejido óseo es una variedad de tejido conjuntivo que forma los huesos. Como todos los tejidos conjuntivos está formado por una matriz, en este caso es una matriz extracelular llamada matriz ósea, y por células.

2.2.1 Matriz ósea

La matriz ósea está compuesta principalmente de una fase orgánica, una fase mineral y agua.

La componente orgánica, conocida como osteoide, constituye el 20% de la matriz ósea y está formada principalmente por colágeno tipo I, aunque también presenta colágeno tipo III y tipo VI. En menor medida está compuesta por proteínas no colágenas como la osteocalcina, la osteonectina, la osteopontina o la sialoproteína ósea, y por proteoglicanos. El colágeno se dispone en cadenas de triple hélice que constituyen fuertes fibras, las cuales aportan al tejido óseo resistencia a tracción y sobretodo flexibilidad.

La componente inorgánica del tejido óseo es una fase mineral denominada hidroxiapatita, formada por fosfato de calcio cristalino, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, supone el 70% del peso total de la matriz ósea. El cristal de hidroxiapatita puro presenta una estructura de simetría hexagonal que al agruparse con otros cristales da lugar a una superceldilla de simetría ortorrómbica. Las impurezas presentes en él hacen que termine presentando una estructura amorfa. Ésta componente es la encargada de aportar resistencia a compresión y rigidez al hueso, además sirve como reserva de iones. El 90% del calcio, el 85% del fósforo y cerca del 50% del sodio y el magnesio presente en el cuerpo humano se almacenan en esta componenete mineral.

El agua presente en la matriz ósea supone en torno al 10% del total de la misma. Durante la formación del tejido óseo, éste está compuesto solo por osteoide (fase orgánica) y agua, pero a medida que envejece, el agua va siendo sustituida por la fase mineral, es lo que se conoce como proceso de mineralización.

2.2.2 Células óseas

El tejido óseo está formado por varios tipos de células óseas, cada una de las cuales desarrolla un papel bien definido en el proceso de remodelación ósea. Los cuatro tipos de células más destacables son: osteoclastos, osteoblastos, osteocitos y células de borde. Tanto los osteoclastos como los osteoblastos sufren diferenciaciones durante la remodelación ósea desarrollando funciones diferentes según la etapa de maduración en la que se encuentren. Los osteocitos y las células de borde son resultado de la diferenciación final de osteoblastos.

A continuación detallaremos las características de cada uno de estos cuatro tipos de células:

2.2.2.1 Osteoclastos

Los osteoclastos se diferencian a partir de células madre hematopoyéticas, gracias a la unión de varios osteoclastos precursores mediante la acción del factor de estimulación de colonias de macrófagos (M-CSF), debido a ello son células multinucleadas que pueden presentar desde 3 hasta 20 núcleos. Pueden alcanzar un tamaño de 100 μm y contienen gran cantidad de mitocondrias y vacuolas en su citoplasma. Su función es reabsorber el tejido óseo dañado o en desuso. A través de la zona de su superficie que está en contacto con el hueso segregan ácidos que provocan una disminución del PH y disuelven el mineral del tejido óseo. La fase orgánica del hueso es disuelta gracias a enzimas segregadas también por los osteoclastos. La velocidad de reabsorción de los osteoclastos puede alcanzar las decenas de micras al día. Una vez que han completado su función, los osteoclastos sufren apoptosis, es decir, muerte celular programada. Ver Figura 2.4.

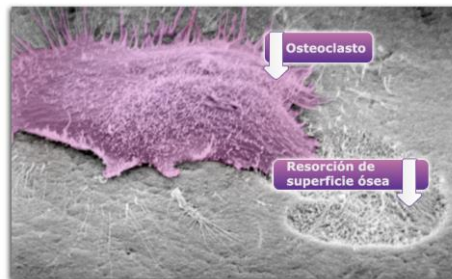


Figura 2.4. Osteoclasto reabsorbiendo superficie ósea. [12].

2.2.2.2 Osteoblastos

Los osteoblastos se diferencian de células madre mesenquimales, tardando entre 2 y 3 días en hacerlo. Para diferenciarse necesitan un cierto nivel de estímulo mecánico que provocará la aparición de factores de crecimiento como el TGF- β o factores de regulación como el PTH. Estas células son mucho menores en tamaño que los osteoclastos, pues poseen un único núcleo y tienen forma cuboidal. Son responsables de la formación de matriz ósea, aunque segregan sólo la fase mineral, el osteoide. El espesor de la capa de osteoide crece a una velocidad de 1 μm por día, aproximadamente. También segregan RANKL, que interviene en la diferenciación de los osteoclastos. Al finalizar su actuación, los osteoblastos pueden sufrir apoptosis, también pueden quedar atrapados en la matriz ósea y transformarse en osteocitos, o quedarse en la superficie del hueso dando lugar a células de borde. Ver Figura 2.5.

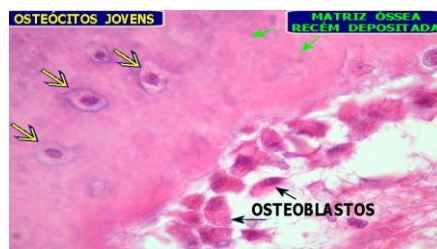


Figura 2.5. Osteoblastos. Adaptado de [13].

2.2.2.3 Osteocitos

Son células terminales diferenciadas de los osteoblastos que se quedan atrapados dentro de la matriz ósea en las llamadas lagunas osteocíticas. Al diferenciarse se estiran dando lugar a unas prolongaciones o dendritas que, a través de túneles dentro de la matriz, denominados canaliculos, se conectan con otros osteocitos y con las células de borde. Constituyen más del 90% de todas las células óseas. Su función es “sentir” los estímulos a los que está sometido el hueso e informar a las células efectoras (osteoclastos y osteoblastos) para que puedan realizar sus funciones de reabsorción o formación según las necesidades del tejido óseo. Esta propiedad mecanosensible de los osteocitos tiene lugar gracias al flujo de fluidos que circulan por el sistema lacuno-canalicular (resultado de la unión entre los canaliculos y las lagunas osteocíticas), en el que se transportan las moléculas que transmiten la información de unas células a otras.

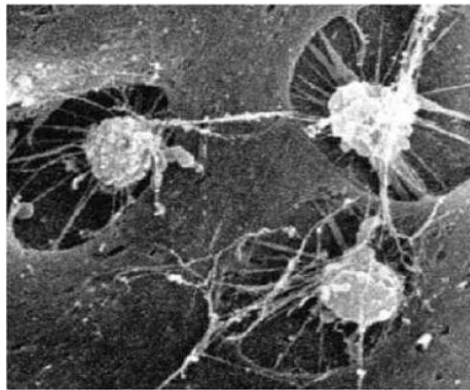


Figura 2.6. Osteocitos conectados mediante sus prolongaciones, ubicados en las lagunas osteocíticas. Tomado de [14].

2.2.2.4 Células de borde

Al igual que los osteocitos, las células de borde provienen de osteoblastos que han terminado su actividad de secreción de osteoide. Sin embargo, no quedan enterrados dentro de la matriz, sino que se sitúan sobre la superficie de la misma cubriéndola casi por completo y cambiando su forma a otra más plana y alargada (ver Figura 2.7). Tienen un papel crucial en la homeostasis de calcio, transfiriéndolo de la matriz ósea a la médula cuando la concentración en sangre desciende. Protegen a la matriz ósea de diversos agentes químicos presentes en la sangre que pueden disolver el mineral. Se comunican con los osteocitos a través de las dendritas de estos últimos y poseen receptores de hormonas (como el estrógeno o la PTH), así como de otros mensajeros químicos que pueden iniciar la remodelación si es necesario. Cuando se inicia la remodelación ósea deben retirarse de la superficie para que los osteoclastos actúen disolviendo la matriz, para lo cual forman un conducto con los vasos cercanos.

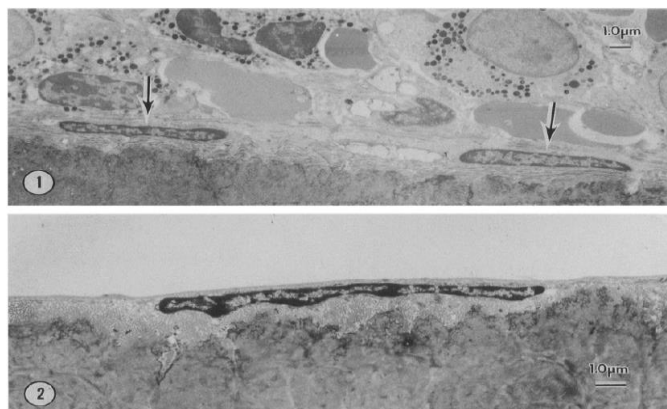


Figura 2.7. Células de borde.

2.3 Tipos de tejido óseo

El tejido óseo se puede clasificar atendiendo a diversas características, en nuestro caso lo diferenciaremos según su porosidad en tejido óseo cortical y tejido óseo trabecular.

2.3.1 Tejido óseo cortical

Este tipo de tejido también se conoce como tejido compacto, es denso y sus cavidades son sólo visibles al microscopio. Constituye la mayor parte del esqueleto humano y su porosidad está entre 0.05 y 0.15. Este tejido se encuentra en la diáfisis de los huesos largos y envolviendo el tejido trabecular a modo de corteza.

En la microestructura de este tejido encontramos:

- Canales de Havers. Son conductos que contienen los nervios y capilares que nutren al hueso. Están

orientados según la dirección longitudinal al eje del hueso. Los canales de Havers están rodeados de lamelas concéntricas que dan solidez al tejido cortical.

- Canales de Volkman. Son más cortos y se disponen transversalmente uniendo los canales de Havers entre sí y con la capa exterior del hueso, el periostio. Por ellos también circulan vasos sanguíneos.
- Cavidades de reabsorción. Son huecos temporales creados por los osteoclastos durante la fase de reabsorción.
- Osteonas. Es el conjunto formado por los canales de Havers y las lamelas que los rodean. La osteona es la unidad estructural del hueso compacto y se van originando como resultado de la remodelación ósea. Ver Figura 2.8.

2.3.2 Tejido óseo trabecular

También se conoce como tejido esponjoso. Está formado por una red tridimensional de espículas o trabéculas ramificadas que dan lugar a una serie de huecos en los que se encuentra la médula ósea. Las trabéculas se disponen según la dirección de la carga para hacer que el tejido sea lo más óptimo posible. La porosidad de este tejido está entre 0.65 y 0.85. En su microestructura no aparecen osteonas, solo las trabéculas, y los vasos sanguíneos no penetran en ellas.

El tejido trabecular está presente en huesos cortos, huesos planos y en la epífisis de los huesos largos. Es más activo que el hueso cortical, se renueva con mayor frecuencia por medio de la remodelación ósea. Por ello, es más sensible a cambios bioquímicos, hormonales y nutricionales. Debido a esto, la mayor parte de las fracturas originadas por la osteoporosis se producen en huesos con gran cantidad de tejido trabecular, como es el caso de las vértebras y la zona superior del fémur.

En la Figura 2.8 vemos la sección de un hueso en la que se aprecian todas las estructuras antes mencionadas: (1) hueso cortical, (2) hueso trabecular, (3) osteona, (5) canales de Havers, (6) canales del Volkman, (7) lamelas concéntricas, (8) periostio, y (9) vasos sanguíneos y nervios.

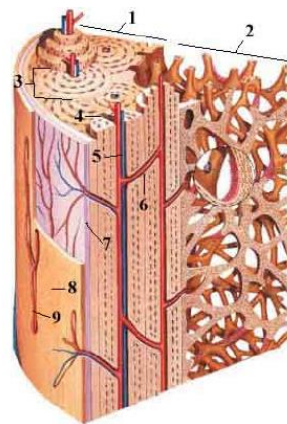


Figura 2.8. Sección de un hueso largo. Adaptado de [15].

2.4 Comportamiento mecánico del hueso

Las propiedades mecánicas del hueso dependen del tipo de tejido óseo del que se trate, es decir, de su microestructura, la cual será el resultado de las cargas a las que ese hueso esté normalmente sometido.

2.4.1 Hueso cortical

El hueso cortical, cuya estructura está formada por los canales de Havers, es mucho más rígido en dirección longitudinal que en dirección transversal, ya que las osteonas están orientadas longitudinalmente aportando resistencia en esta dirección. Al tratarse de un material simétrico, presenta la misma rigidez a tracción que a compresión. Sin embargo, aguanta más en compresión para cualquier dirección, recordar que la fase mineral del hueso, la hidroxiapatita, tiene una gran resistencia a compresión. Con lo cual este tipo de tejido óseo es

bueno para resistir tensiones preferentemente axiales, aquellas a las que están sometidos los huesos largos.

Las propiedades mecánicas del hueso cortical, como el módulo de Young y la tensión última a tracción, dependerán de la porosidad y del contenido de mineral que presente, o sea, de su densidad. La porosidad afecta de forma considerable a las propiedades mecánicas del hueso, pues cuanto mayor sea el volumen de poros, menor será la rigidez de la estructura ósea. Mientras que el contenido de mineral aumenta en gran medida la resistencia del hueso, al mismo tiempo que incrementa su fragilidad. Según Currey [16], cuando se da un aumento excesivo de la fracción de ceniza (cantidad de mineral respecto al total de masa seca en el hueso), el hueso se vuelve más frágil, sus propiedades a fatiga empeoran y es más débil a altas velocidades de deformación, lo cual aumenta el riesgo de rotura.

Además el hueso cortical presenta propiedades viscoelásticas, es decir, que cambian con la velocidad de carga, como es el caso de módulo de Young y la resistencia última a tensión. Esto ocurre en materiales que presentan agua entre sus componentes. Al aumentar seis órdenes de magnitud la velocidad de carga, el módulo de Young aumenta al cuadrado y la resistencia última aumenta al cubo. Sin embargo, el material se hace más frágil. La viscoelasticidad cobra importancia durante impactos y caídas donde se produce un importante aumento de la velocidad de carga, con un consiguiente aumento de la fragilidad.

La edad también influye en el comportamiento mecánico del hueso cortical. La resistencia disminuye un 2% por década, mientras que la deformación última en rotura disminuye drásticamente, un 10% por década. Con lo cual el hueso es cada vez menos rígido, menos resistente y más frágil, como consecuencia del aumento de la concentración de mineral.

2.4.2 Hueso trabecular

El comportamiento mecánico del hueso trabecular va a depender de su densidad. En este tejido se distingue entre densidad tisular y densidad aparente. La densidad tisular es la densidad de la matriz ósea, depende del contenido de mineral y suele ser relativamente constante: $\rho_{tis} = \frac{m}{V_b}$, donde V_b es el volumen de hueso sin

contar los poros, este parámetro no varía mucho a lo largo de la vida del individuo, por lo que no influye mucho en las propiedades del hueso. La densidad aparente (o porosidad) es la masa respecto al volumen total:

$\rho_{ap} = \frac{m}{V_t}$, varía mucho en el hueso trabecular y tiene una gran influencia en sus propiedades mecánicas.

El tejido trabecular es más frágil a tracción, y depende altamente del valor de ρ_{ap} , la cual varía mucho según el lugar anatómico en el que se encuentre. Beaupré et al. [17] obtuvieron experimentalmente una expresión para el módulo de Young y otra para el coeficiente de Poisson, válidas tanto para hueso cortical como para trabecular, haciendo distinción con una densidad aparente de $\rho_{ap} = 1.2 \text{ g / cm}^3$:

$$E = \begin{cases} 2014\rho_{ap}^{2.5} & \text{si } \rho_{ap} \leq 1.2 \text{ g / cm}^3 \\ 1763\rho_{ap}^{3.2} & \text{si } \rho_{ap} > 1.2 \text{ g / cm}^3 \end{cases} \quad (1.1)$$

$$\nu = \begin{cases} 0.2 & \text{si } \rho_{ap} \leq 1.2 \text{ g / cm}^3 \\ 0.32 & \text{si } \rho_{ap} > 1.2 \text{ g / cm}^3 \end{cases} \quad (1.2)$$

La influencia de la edad en el hueso trabecular es bastante considerable, la densidad aparente se va reduciendo debido a la disminución del tamaño de las trabéculas y del número de ellas.

Por último, destacar que el tejido trabecular es mucho más rígido en la dirección de orientación de las trabéculas, las cuales se van alineando según la aplicación de las cargas. Esto se consigue gracias a la remodelación ósea, que permite regenerar el hueso nuevo en la dirección más conveniente.

2.5 Remodelación ósea

Ahora que ya estamos familiarizados con la biología del hueso, podemos dar pie a la explicación del proceso de remodelación ósea.

El hueso es un tejido vivo capaz de repararse de manera continua adaptándose al estímulo mecánico al que se encuentra sometido. De forma que si nuestra actividad diaria es mayor, se formará más cantidad de hueso aumentando la densidad de éste, habrá formación neta de hueso. Mientras que si nuestra actividad física es escasa, el estímulo mecánico será bajo y habrá reabsorción neta de hueso, disminuyendo la densidad de éste. Como vemos, es un proceso en el que la densidad aparente del hueso y, por tanto, su rigidez, van variando. Este proceso es el conocido como Remodelación Ósea Interna (ROI).

Además de esto, el hueso puede repararse cuando se fractura, pero lo realiza mediante otro proceso diferente, la consolidación ósea, que no es objeto de este trabajo.

La remodelación ósea es un proceso lento, ordenado y no localizado, es decir, que se produce por todo el cuerpo indiferentemente. Existen dos tipos de remodelación ósea: la remodelación ósea interna (ROI) y la remodelación ósea externa (ROE). El interés de nuestro trabajo se centra en la ROI, sin embargo daremos algunas nociones sobre la ROE:

La remodelación ósea externa ocurre principalmente en la infancia, durante la creación de los huesos, éstos van aumentando su tamaño y tomando la forma que tendrán cuando el individuo sea adulto. Este tipo de remodelación ósea también ocurre cuando, tras algún trauma o fractura, el hueso necesita ser reabsorbido en algunas zonas y formarse en otras. A diferencia de la ROI, en la ROE la actividad de los osteoclastos y los osteoblastos es independiente. La velocidad de esta remodelación es cada vez menor conforme envejece el individuo, mientras que la ROI ocurre durante toda la vida y no produce cambios de forma o tamaño.

Procedemos a continuación a explicar con detalle la remodelación ósea interna:

La ROI es el resultado de una coordinada función de reabsorción y formación de hueso sobre amplias regiones y durante períodos prolongados de tiempo, que implica la actuación secuencial de osteoclastos y osteoblastos. La adaptación ósea se produce en focos bien localizados formados por paquetes de unidades celulares que Frost [18] llamó “unidades básicas multicelulares” (BMU).

2.5.1 Fisiología del proceso de ROI

El hueso es una estructura óptima, es decir, consigue la máxima rigidez con el mínimo peso. La función de la remodelación ósea interna es preservar esta forma de optimización y además reparar el daño presente en el hueso. Se cree que las BMU se activan por dos motivos: desuso y presencia de microdaño. Los osteocitos juegan un papel fundamental en la activación de las BMU participando como células mecanosensibles.

Según el concepto de auto-optimización de Carter, cuando hay desuso del hueso, es decir, un estímulo mecánico bajo, la BMU produce reabsorción neta de hueso, con lo cual disminuye la densidad de éste y su módulo de Young. Dado que $\sigma = E \cdot \varepsilon$, para mantener constantes las tensiones, si disminuye E debe aumentar ε y con ello aumentará el estímulo, cerrándose así el ciclo:

Desuso: $\downarrow \sigma \rightarrow \text{Formación} < \text{Re absorción} \rightarrow \downarrow \rho \rightarrow \downarrow E \Rightarrow \uparrow \varepsilon \rightarrow \uparrow \text{estímulo}$

Cuando hay sobrecarga, es decir, un estímulo mecánico alto, la BMU produce formación neta de hueso, aumentando así la densidad del tejido y con ello su módulo de Young y resistencia. Al igual que antes, para mantener constante la tensión, en este caso deben disminuir las deformaciones y con ello el estímulo:

Sobrecarga: $\uparrow \sigma \rightarrow \text{Formación} > \text{Re absorción} \rightarrow \uparrow \rho \rightarrow \uparrow E \Rightarrow \downarrow \varepsilon \rightarrow \downarrow \text{estímulo}$

Siempre se consigue que el nivel de deformación, o sea, el nivel de estímulo, sea aquel con el que el hueso se siente cómodo.

Todo esto ocurre gracias a los osteocitos, que actúan como células mecanosensibles. Estas células están en contacto constante con un flujo de fluido que circula a través del sistema lacuno-canalicular, compuesto por las lagunas de los osteocitos y una serie de canales (canalículos) que conectan a los osteocitos entre sí y con las células de borde. Según la teoría inhibitoria de Martin [19], las células de borde siempre están controladas por

una señal inhibitoria y solo cuando ésta deja de actuar provocan la activación de la remodelación. Cuando el hueso está bajo condiciones de carga normales, esta señal inhibitoria está activada y las células de borde no activan las BMUs. Sin embargo, cuando hay desuso, el flujo de fluido que circula por el sistema lacuno-canalicular disminuye, con lo que la señal inhibitoria se hace más débil. Esto provoca la activación de las células de borde que accionan el proceso de remodelación. En el caso de una sobrecarga, pueden aparecer daños microestructurales que interrumpen la conexión entre los osteocitos y las células de borde. Con lo que la señal inhibitoria desaparece por completo, provocando de nuevo la activación de las BMU. Como vemos, la remodelación ósea se incrementa cuando la carga mecánica es muy baja, es decir, en un estado de desuso, y cuando es excesivamente alta, provocando un daño sustancial por fatiga. Esto se corresponde con el comportamiento de las BMUs descrito antes para los casos de desuso y sobrecarga.

2.5.2 Etapas de la ROI

En el proceso de remodelación ósea se suceden una serie de fases que van llevando a cabo la reabsorción de hueso (por ser innecesario o por estar dañado) y su posterior formación, a esta secuencia de fases se le conoce como secuencia ARF (activación, reabsorción y formación) [20]. Sin embargo, durante la ROI ocurren otras etapas que también son importantes como son: activación, reabsorción, inversión, mineralización y fin de la adaptación (ver Figura 2.9).

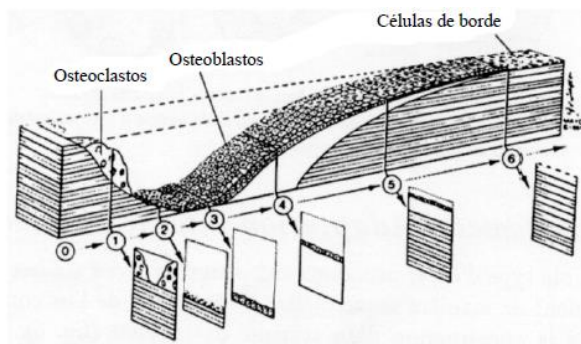


Figura 2.9. Fases de la actividad de una BMU de hueso trabecular: (0) Activación, (1) Reabsorción, (2) Inversión, (3) Comienzo de la formación, (4) Formación de osteoide, (5) Mineralización, (6) Fin de la adaptación. Adaptado de Fridez [21].

2.5.2.1 Activación

La activación es la fase más importante de la remodelación ósea. En ella juegan un papel fundamental los osteocitos, pues como ya hemos mencionado, las células de borde no activan las BMUs a no ser que se interrumpa la señal inhibitoria, de lo cual informarán los osteocitos. Al interrumpirse la señal inhibitoria, debido al desuso o a la acumulación de daño, las células de borde activarán la remodelación dando paso a la primera fase del proceso. Es entonces cuando los osteoclastos precursores pasan a diferenciarse y fusionarse dando lugar a grandes células multinucleadas que serán los osteoclastos maduros.

2.5.2.2 Reabsorción

En esta fase de la remodelación, los osteoclastos ya se encuentran en su etapa activa y las células de borde cambian su forma, contrayéndose para dejar libre la superficie del hueso que va a ser reabsorbido. Los osteoclastos comienzan la reabsorción del tejido disolviendo la matriz extracelular y formando un túnel hacia el interior, en el hueso cortical, o un hueco superficial, en el hueso trabecular. La reabsorción tiene lugar en dos fases, primero solubilizan el mineral y luego digieren la matriz orgánica. La solubilización del mineral se realiza mediante la acidificación del medio ambiente existente entre la matriz ósea y la membrana ocupada por los osteoclastos, esto se consigue bombeando iones H^+ . Una vez eliminado el mineral, colagenasas ácidas y otras enzimas de origen lisosómico digieren la matriz orgánica. Al completar el proceso de reabsorción los osteoclastos sufren apoptosis. El lapso de tiempo que tardan los osteoclastos en abrir la cavidad en la matriz ósea se denomina período de reabsorción.

2.5.2.3 Inversión

Es en esta fase cuando se produce la transición de actividad entre osteoclastos y osteoblastos. Sin embargo, la activación de los osteoblastos no es inmediata, en el ser humano tiene lugar aproximadamente 30 días después de la activación de la BMU. El período de inversión es un período de aparente inactividad.

2.5.2.4 Formación

Los osteoblastos se diferencian a partir de células madre mesenquimales y son atraídos a las paredes de la cavidad creada por los osteoclastos gracias a la acción de ciertos factores químicos. Allí maduran llegando a convertirse en osteoblastos activos que segregan osteoide rellenando la cavidad. La proliferación de osteoblastos precursores depende de la existencia de un cierto nivel de estímulo mecánico. Una vez que los osteoblastos han rellenado toda la cavidad con osteoide (matriz ósea nueva) se diferencian en osteocitos, células de borde o sufren apoptosis.

En el hueso cortical, durante la formación ósea se va cerrando el hueco cilíndrico que crearon los osteoclastos, haciendo que la superficie sobre la que se apoyan los osteoblastos sea cada vez menor. Esto no ocurre en el hueso trabecular, donde la deposición de osteoide ocurre sobre un hueco abierto a la superficie.

2.5.2.5 Mineralización

En la fase anterior, los osteoblastos segregaban osteoide, el cual está formado por fase orgánica y agua, nada de mineral. En un período de 10 a 20 días después de su deposición, el osteoide comienza a mineralizarse, aparecen los primeros cristales de hidroxiapatita ocupando el lugar donde antes había agua.

El proceso de mineralización consta de una fase primaria en la que se llega al 70% del contenido total de mineral, es una fase rápida y de corta duración, no más de unos días. En una fase secundaria, se llega a alcanzar el 95% de la mineralización total, esto puede tardar entre 6 meses y varios años. Durante esta fase la deposición de mineral decrece exponencialmente.

2.5.2.6 Fin de la adaptación

Por último, los osteoclastos sufrirán apoptosis y la BMU se detiene. Los osteoblastos seguirán actuando durante algún tiempo hasta rellenar las cavidades con osteoide para luego sufrir apoptosis, convertirse en osteocitos o en células de borde. Las células de borde se encargarán de iniciar futuras remodelaciones en esa zona si fuera necesario. Aunque la actividad de la BMU haya cesado, el tejido sigue mineralizándose poco a poco hasta alcanzar la mineralización total, ya que la vida media de una BMU es de tan solo unos 100 días.

En el proceso de remodelación intervienen, además de las células óseas que ya hemos mencionado, una serie de moléculas y factores bioquímicos que determinan cada una de las etapas del mismo. En el siguiente capítulo se explica con detalle la influencia de estas sustancias y su contribución a los modelos matemáticos de poblaciones celulares que se han desarrollado en los últimos años.

3 MODELOS MATEMÁTICOS DE REMODELACIÓN ÓSEA BASADOS EN POBLACIONES CELULARES

Para llevar a cabo el objetivo del presente trabajo ha sido fundamental el uso y desarrollo de un modelo matemático capaz de simular el comportamiento conjunto de las poblaciones celulares en el proceso de remodelación ósea. El modelo ha sido creado como recopilación y ampliación de otros modelos ya existentes, los cuales han servido de base para la elaboración del modelo final (ver Anexo A). En el presente apartado expondremos detalladamente y en orden cronológico los modelos que han sido tenidos en cuenta.

3.1 Modelo de Pivonka 2008

Este modelo fue presentado en la revista *Bone* a través del artículo “*Model structure and control of bone remodeling: A theoretical study*” [2], en el cual se desarrolla un modelo de poblaciones celulares óseas extendido basado en el trabajo realizado por Lemaire [4]. Las características adicionales que presenta este modelo son:

- Una ecuación temporal que describe los cambios en el volumen del hueso.
- Una ecuación temporal que describe la concentración de TGF- β como función del volumen de hueso reabsorbido.
- La expresión de RANKL y OPG por parte de los osteoblastos en diferentes etapas de su maduración.
- Nuevas funciones de activación y represión basadas en la cinética enzimática.

Este modelo de Pivonka et al. describe los cambios temporales en las poblaciones celulares óseas durante el proceso de remodelación, promediados para un volumen de hueso lo suficientemente grande como para que el promedio de lugar a resultados coherentes. Por tanto, el modelo no se refiere a una sola BMU, sino a todas las BMUs que estén contenidas en el volumen considerado, que serán muchas.

El modelo de poblaciones celulares parte de un estado de equilibrio para luego ser sometido a diferentes perturbaciones, la respuesta que presente a cada una de ellas será el objeto de estudio. El interés de este modelo es ver de qué manera afecta la estructura del modelo al balance/equilibrio del hueso, es decir, a la diferencia entre la cantidad de hueso reabsorbido y la cantidad de hueso formado. Gracias a los resultados del modelo es posible estimar la sensibilidad del proceso de remodelación (o de las BMUs) a cambios en el microambiente del hueso asociados a cambios en las características de las células.

Además de las interacciones entre células, también hay una serie de factores bioquímicos involucrados en el proceso de remodelación ósea, estos factores son incorporados en el modelo de Pivonka incluyendo una serie de interacciones ligando-receptor dentro del modelo de interacciones célula-célula.

3.1.1 Mecanismos bioquímicos

Los mecanismos bioquímicos consistentes en interacciones receptor-ligando que intervienen en el modelo dinámico de poblaciones celulares se muestran esquemáticamente en la Figura 3.1. En este modelo solo son considerados cuatro tipos de células del linaje de los osteoblastos (donde sólo dos son variables de estado) y tres tipos de células del linaje de los osteoclastos (donde sólo una es variable de estado), simplificando así el extenso número y variedad de células realmente implicadas en la remodelación.

El linaje de los osteoblastos deriva de una enorme piscina de células madre mesenquimales capaces de diferenciarse en varias células, como osteoblastos, condrocitos, adipocitos, etc. En este modelo, la piscina de

células mesenquimales se corresponde con los denominados osteoblastos no comprometidos (OB_u). Una vez que estas células se comprometen al linaje de los osteoblastos se denominan generalmente osteoblastos precursores (OB_p). Tanto los OB_u como los OB_p tienen una alta respuesta a la diferenciación ya sea directamente, a través de factores de crecimiento (como el TGF- β) o indirectamente, a través de otros factores de regulación (como la PTH). Después de la creación de una “piscina” de osteoblastos activos (OB_a), los cuales se originan gracias a la diferenciación de los osteoblastos precursores (OB_p), es cuando puede comenzar la formación de hueso en el ciclo de la remodelación. Se asume que la velocidad de formación de hueso es proporcional al número de osteoblastos activos (OB_a). Sabemos que cuando un osteoblasto llega al final de su ciclo celular puede sufrir apoptosis, diferenciarse en osteocitos o diferenciarse en células de borde. En este modelo solo se considera el caso de la apoptosis.

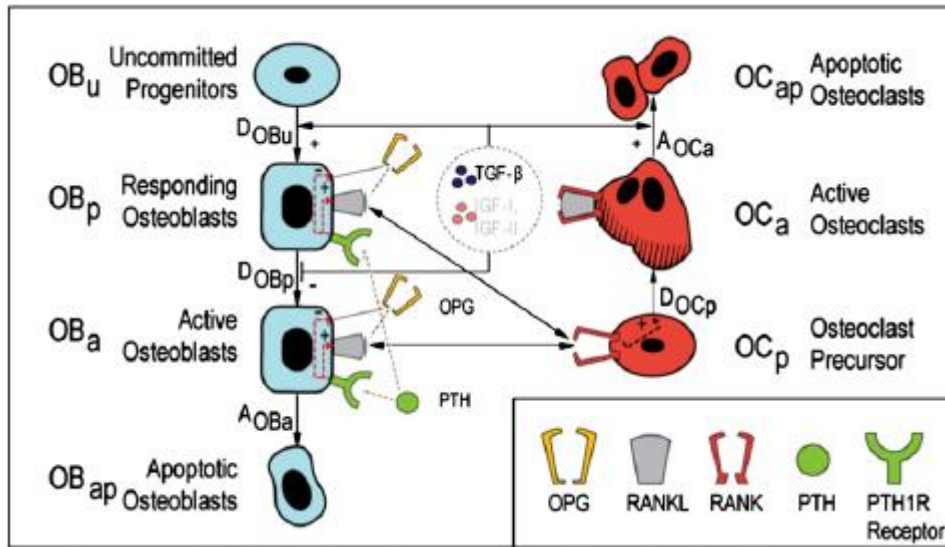


Figura 3.1. Ilustración esquemática del modelo de poblaciones celulares. Tomado de [2]

Por otro lado tenemos las células del linaje de los osteoclastos, el único tipo de célula capaz de reabsorber hueso. Los osteoclastos derivan de células madre hematopoyéticas, las cuales son denominadas osteoclastos no comprometidos (OC_u), que a su vez se diferenciarán en osteoclastos precursores (OC_p) una vez que decidan comprometerse al linaje de los osteoclastos. Se ha demostrado que el factor de estimulación de colonias de macrófagos (M-CSF, también llamado CSF-1) es esencial para que los OC_u se comprometan al linaje de los osteoclastos. Una vez que se han comprometido, tanto el M-CSF como el ligando del receptor activador del factor nuclear kappa beta (RANKL) son necesarios para promover la diferenciación de los OC_p en osteoclastos más maduros. La diferenciación final de los OC_p en osteoclastos activos (OC_a) es provocada fundamentalmente por el RANKL. El RANKL se une al receptor activador del factor nuclear kappa beta (NF- κ β), conocido como RANK, que se encuentra en los OC_p . En el modelo se asume que la reabsorción de hueso es proporcional al número de osteoclastos activos (OC_a). Tras finalizar el proceso de reabsorción, los osteoclastos activos sufren apoptosis.

3.1.1.1 Sistema de señalización RANK-RANKL-OPG

El RANKL es una proteína que se encuentra en la superficie de las células del linaje de los osteoblastos. Esta proteína interacciona con su receptor, RANK, que es expresado en la superficie de las células precursoras hematopoyéticas (OC_p), promoviendo de esta manera la formación de osteoclastos, manteniendo también su actividad. La interacción RANKL/RANK es regulada por otro ligando, la osteoprotegerina (OPG), también producida por células osteoblásticas. La OPG puede unirse al RANKL evitando así la unión entre RANKL y RANK. Este sistema de señalización es conocido como la ruta RANK-RANKL-OPG.

Muchos factores intervienen en la regulación de la reabsorción, tal es el caso de la hormona paratiroidea (PTH), las prostaglandinas, interleukinas, la vitamina D₃ o los corticosteroides, todos ellos envían señales a los osteoblastos, los cuales transforman dichas señales en diferentes niveles de producción de RANKL o de OPG, controlando de esta manera la formación de osteoclastos. El mecanismo de control de los niveles de RANKL/OPG es muy importante, ya que los efectos fisiológicos de muchas enfermedades de los huesos, como la osteoporosis, la enfermedad de Paget, la metástasis de tumores, la hipercalcemia humoral maligna y el

mieloma múltiple se pueden explicar mediante desequilibrios en el ratio RANKL/OPG.

Los dos sistemas hormonales principales que intervienen en la regulación de la osteoclastogénesis son la hormona paratiroidea (PTH) y la vitamina D₃ (1,25(OH)₂D₃). Los receptores de estas hormonas se expresan únicamente en los osteoblastos, es decir, que actúan indirectamente en la formación de osteoclastos a través de los osteoblastos, lo cual regula la homeostasis mineral. La tercera hormona involucrada en la regulación mineral es la calcitonina (CT), que actúa directamente sobre los osteoclastos de forma contraria a la acción de la PTH y la vitamina D₃, o sea, inhibiendo la reabsorción de hueso.

3.1.1.2 Función del TGF-β

La matriz ósea sirve de reservorio para el almacenamiento de factores de crecimiento como el TGF-β (factor de crecimiento transformante beta) y los IGFs (factores de crecimiento insulínicos). Durante la reabsorción de matriz ósea por parte de los osteoclastos activos estos factores son liberados al microambiente de las BMUs y actúan como agentes autoreguladores de las células óseas.

En este modelo de 2008 solo se considera la acción del TGF-β en las células óseas, es decir, mediante la unión del TGF-β a sus receptores en los osteoblastos y osteoclastos. Esto se tiene en cuenta a través de unas funciones de activación o represión que dependen de la acción del TGF-β.

La acción del TGF-β en los osteoblastos depende de su estado de maduración:

- Estimula la diferenciación de osteoblastos no comprometidos (OB_u). Lo cual se ve reflejado en el modelo mediante una **función de activación** que regula positivamente la diferenciación de la población de OB_u en la ecuación de balance de los OB_p.
- Inhibe la diferenciación de osteoblastos precursores (OB_p). Esto se representa en el modelo mediante una **función de represión** que actúa sobre la población de OB_p y que aparecerá restando en la ecuación de balance de OB_p y sumando en la ecuación de balance de la población de OB_a.

Con lo cual, la acción del TGF-β en las células del linaje de los osteoblastos lleva a un aumento de la población de OB_p, como podemos ver en la Figura 3.1. Si se elimina el TGF-β del organismo, o se hace inactivo, los OB_p podrían diferenciarse y convertirse en OB_a, favoreciendo la formación de hueso.

La función del TGF-β sobre los osteoclastos es la de promover su apoptosis, por ello aparece en el modelo una función de activación que actúa sobre la población de OC_a y que es favorecida por la presencia de TGF-β. Dicha función aparecerá restando en la ecuación de balance de los OC_a, formando parte del término de apoptosis celular.

3.1.2 Modelo dinámico de poblaciones celulares

Una vez explicados los mecanismos bioquímicos implicados en el presente modelo, llega el momento de describir las ecuaciones que van a formar parte del mismo. En primer lugar hay que destacar que este modelo considera solamente tres variables de estado: osteoblastos precursores (OB_p), osteoblastos activos (OB_a) y osteoclastos activos (OC_a). En modelos posteriores, Pivonka ampliará hasta cuatro variables de estado, incluyendo también la población de OC_p [5].

Las poblaciones de OC_p y OB_u se consideran lo suficientemente grandes en este modelo como para suponerlas constantes.

El modelo considera que el RANKL y la OPG pueden ser expresados indistintamente por los OB_a o por los OB_p, aunque en estudios posteriores [22] se acaba concluyendo que, al contrario de lo propuesto en el modelo de Lemaire [4], el RANKL es expresado por los OB_p y la OPG por los OB_a.

Teniendo en cuenta todo lo anterior y utilizando la Figura 3.1 como guía, los cambios en las poblaciones celulares a lo largo del tiempo se pueden expresar mediante las siguientes ecuaciones diferenciales:

$$\frac{dOB_p}{dt} = D_{OB_u} \cdot OB_u \cdot \Pi_{act,OB_u}^{TGF-\beta} - D_{OB_p} \cdot OB_p \cdot \Pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta} \quad (1.3)$$

$$\frac{dOB_a}{dt} = D_{OB_p} \cdot OB_p \cdot \Pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta} - A_{OB_a} \cdot OB_a \quad (1.4)$$

$$\frac{dOC_a}{dt} = D_{OC_p} \cdot OC_p \cdot \Pi_{act,OC_p}^{RANKL} - A_{OC_a} \cdot OC_a \cdot \Pi_{act,OC_a}^{TGF-\beta} \quad (1.5)$$

Donde OB_u es el número de osteoblastos no comprometidos por mm^3 , OB_p es el número de osteoblastos precursores por mm^3 , OB_a es el número de osteoblastos activos por mm^3 , OC_p es el número de osteoclastos precursores por mm^3 y OC_a es el número de osteoclastos activos por mm^3 .

D_{OB_u} , D_{OB_p} y D_{OC_p} son las velocidades de diferenciación de osteoblastos no comprometidos, osteoblastos precursores y osteoclastos precursores, respectivamente. A_{OB_a} y A_{OC_a} son las velocidades de apoptosis de los osteoblastos activos y los osteoclastos activos. Las velocidades de diferenciación y apoptosis se refieren al número absoluto de células que se diferencian o que mueren por unidad de tiempo.

Como podemos ver, la diferenciación y la apoptosis de las poblaciones celulares están reguladas por una serie de funciones de activación o de represión. Estas funciones se corresponden con las funciones de Hill, las cuales pueden ser expresadas de la siguiente forma:

$$\Pi_{rep}(x) = \frac{1}{1+x} \quad (1.6)$$

$$\Pi_{act}(x) = \frac{x}{1+x} \quad (1.7)$$

La ecuación (1.6) representa la función de represión de Hill, que es decreciente conforme aumenta el valor del parámetro x dando lugar a una curva con la siguiente forma:

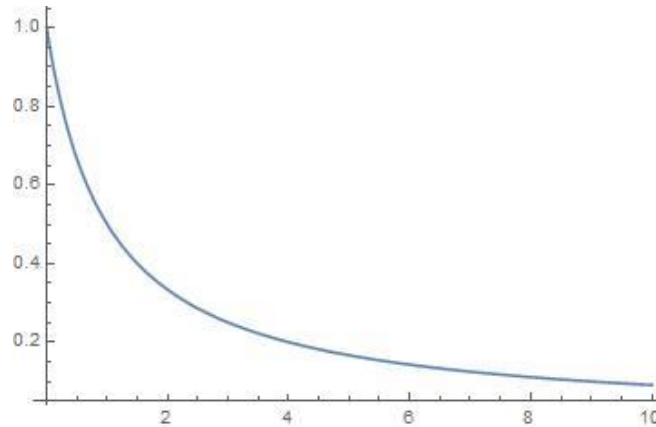


Figura 3.2. Función de represión de Hill

La ecuación (1.7) expresa la función de activación de Hill, la cual crece con el parámetro x alcanzando su máximo valor en la unidad y siguiendo una trayectoria como la de la siguiente curva:

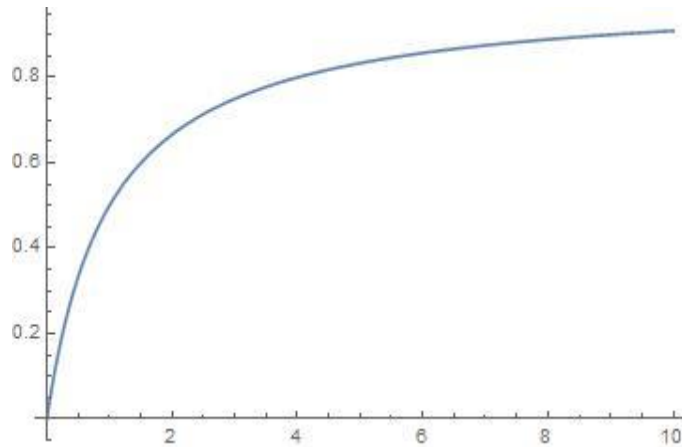


Figura 3.3. Función de activación de Hill

En el presente modelo, las curvas son algo más complejas, pues el parámetro x representa el cociente entre la concentración de la molécula (o ligando) involucrada en la respuesta en cuestión y un coeficiente de activación o represión según el caso. Por ejemplo, la función $\Pi_{act,OB_u}^{TGF-\beta}$ es la función de activación relacionada con la unión del TGF- β a su receptor situado en los OB_u , la cual se define mediante la siguiente ecuación:

$$\Pi_{act,OB_u}^{TGF-\beta} = \frac{\frac{TGF-\beta}{K_{D1,TGF-\beta}}}{1 + \frac{TGF-\beta}{K_{D1,TGF-\beta}}} = \frac{TGF-\beta}{K_{D1,TGF-\beta} + TGF-\beta} \quad (1.8)$$

Donde $K_{D1,TGF-\beta}$ es el coeficiente de activación relacionado con la acción del TGF- β al unirse con sus receptores en los OB_u , del cual hablamos anteriormente. Este coeficiente se considera constante.

De igual forma, las funciones de activación/represión relacionadas con la unión del TGF- β a sus receptores en los osteoblastos precursores y en los osteoclastos activos se definen como sigue a continuación:

$$\Pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta} = \frac{1}{1 + \frac{TGF-\beta}{K_{D2,TGF-\beta}}} \quad (1.9)$$

$$\Pi_{act,OC_a}^{TGF-\beta} = \frac{TGF-\beta}{K_{D3,TGF-\beta} + TGF-\beta} \quad (1.10)$$

Donde $K_{D2,TGF-\beta}$ y $K_{D3,TGF-\beta}$ son los coeficientes de represión/activación relacionados con la acción del TGF- β al unirse a sus receptores en los OB_p y en los OC_a respectivamente. Al igual que el coeficiente $K_{D1,TGF-\beta}$, estos dos coeficientes también se consideran constantes en el modelo.

Las ecuaciones (1.3)-(1.5) representan las ecuaciones de balance celulares, donde los cambios en cada población celular son causados por adición o eliminación de células de sus respectivos linajes. La adición de células ocurre de forma natural a causa de la proliferación y diferenciación de células precursoras (o por administración externa de células), mientras que la eliminación de células ocurre por apoptosis (o por extracción externa de células). Como ya hemos visto, la diferenciación y la apoptosis de células están reguladas por las funciones de activación y represión anteriormente mostradas.

Además de los distintos tipos de células y el número de ellas que están involucradas en la remodelación, hay otro parámetro esencial que caracteriza la remodelación ósea: la variación del volumen óseo a lo largo del tiempo. En este primer modelo, dado que la formación de hueso se considera proporcional al número de OB_a y la reabsorción de hueso se considera proporcional al número de OC_a , la variación del volumen de hueso total puede expresarse mediante la siguiente ecuación:

$$\frac{dBV}{dt} = k_{form} \cdot OB_a - k_{res} \cdot OC_a \quad (1.11)$$

Donde BV es el volumen de hueso normalizado en [%], que en modelos posteriores se relacionará con la fracción volumétrica de poros vasculares, es decir, el volumen de poros vasculares por volumen de tejido.

k_{form} y k_{res} son las velocidades relativas de formación y reabsorción de hueso normalizadas respecto a la reabsorción y formación normales en [%].

Como bien sabemos, el volumen de hueso varía con la edad del individuo, en animales jóvenes el balance óseo es positivo, dando lugar a un crecimiento del hueso, mientras que en animales mayores el balance óseo es negativo dando lugar a la pérdida de hueso y a la osteoporosis. Entre estos dos casos hay un punto que se considera como “normal” en el cual no hay pérdida ni ganancia de hueso. En este modelo, se considera dicho punto como el estado de equilibrio a partir del cual se inician las simulaciones.

Gracias a la ecuación (1.11) es posible relacionar el número de células (obtenido del modelo de poblaciones celulares en las ecuaciones (1.3)-(1.5)) con los cambios en el volumen del hueso.

3.1.3 Moléculas involucradas en el modelo de poblaciones celulares

Al inicio del presente modelo explicamos la acción de una serie de moléculas cuyas funciones afectan directa o indirectamente al proceso de remodelación ósea. Las moléculas en cuestión fueron el TGF- β y las moléculas involucradas en la ruta de señalización RANK-RANKL-OPG. A continuación detallamos cómo serán tenidas en cuenta dichas moléculas en el modelo, incluyendo además la acción catabólica de la hormona paratiroidea (PTH) en el sistema RANK-RANKL-OPG.

3.1.3.1 TGF- β

Los osteoblastos no comprometidos (OB_u) son capaces de expresar un receptor específico para el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β R), el cual, una vez activado, da lugar a la diferenciación de estos OB_u en OB_p . Diferentes tipos de factores de crecimiento como el TGF- β (IGF-I e IGF-II etc) son almacenados en la matriz ósea y se liberan cuando el hueso es reabsorbido por los OC_a . En este modelo se asume que la velocidad de liberación del TGF- β es proporcional a la velocidad de reabsorción de hueso, es decir, proporcional al número de osteoclastos activos. Esta relación se puede expresar de la siguiente forma:

$$\frac{dTGF-\beta}{dt} = \alpha \cdot k_{res} \cdot OC_a - D_{TGF-\beta} \cdot TGF-\beta + S_{TGF-\beta} \quad (1.12)$$

Donde α es una constante de proporcionalidad que expresa el porcentaje de TGF- β almacenado en la matriz ósea, $D_{TGF-\beta}$ es una constante que representa la velocidad de degradación de la molécula y $S_{TGF-\beta}$ es un término que hace referencia a la administración o eliminación externa de TGF- β . Todos estos parámetros se asumen constantes en el modelo.

La unión del TGF- β a sus receptores se produce mucho más rápido que los cambios en el número de OC_a , esto permite hacer una suposición de estado cuasi-estático en la ecuación (1.12) (derivadas temporales nulas) que nos lleva a expresar la concentración de TGF- β como sigue:

$$TGF-\beta = \frac{\alpha \cdot k_{res} \cdot OC_a + S_{TGF-\beta}}{D_{TGF-\beta}} \quad (1.13)$$

Con esta expresión de la concentración de TGF- β quedan totalmente definidas las funciones de activación/represión que expusimos en el apartado 3.1.2 referentes a la acción de esta molécula en el balance de las poblaciones celulares.

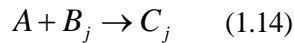
3.1.3.2 RANK-RANL-OPG y su relación con la PTH

Para terminar de definir el modelo de Pivonka solo resta determinar una ecuación que exprese la concentración de RANKL, ya que el único término que aún no se ha detallado de las ecuaciones de balance celulares es la función de activación relacionada con la unión del RANKL a su receptor RANK expresado en los osteoclastos precursores, Π_{act,OC_p}^{RANKL} . Sin embargo, determinar la concentración de RANKL no es inmediato, pues esta molécula está influenciada por la presencia de otras sustancias como veremos a continuación.

Como ya se ha dicho en secciones anteriores, existen varias hormonas como los glucocorticoides, los estrógenos, la PTH o la vitamina D₃ que tienen múltiples efectos en la velocidad de proliferación, diferenciación, activación y apoptosis de las células óseas. Entre esas hormonas, la PTH es considerada como el regulador más importante de la homeostasis de calcio [23].

Dada la importancia de la PTH, este modelo incluye la acción de dicha hormona en las células del hueso, al menos como primera aproximación.

Se considera que todas las reacciones de unión ligando-receptor pueden expresarse de la siguiente manera:



Donde A y B_j son dos reactivos arbitrarios y C_j se refiere al complejo obtenido como producto de la reacción. El subíndice j se ha incluido para los casos en que el reactivo A pueda unirse a varios reactivos B diferentes, tal es el caso del RANKL que puede unirse al RANK o a la OPG.

Usando el principio de la cinética de acción de masas, la ecuación de balance para la concentración de todas las moléculas puede describirse mediante un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias de la siguiente forma:

$$\frac{dA}{dt} = -\sum_{j=1}^N k_{j,f} A \cdot B_j + \sum_{j=1}^N k_{j,r} C_j + S_A \quad (1.15)$$

$$\frac{dB_j}{dt} = -k_{j,f} A \cdot B_j + k_{j,r} C_j + S_{B_j} \quad (1.16)$$

$$\frac{dC_j}{dt} = k_{j,f} A \cdot B_j - k_{j,r} C_j \quad (1.17)$$

Donde $k_{j,f}$ y $k_{j,r}$ son las constantes de la reacción directa e inversa. S_A y S_{B_j} son los términos de producción externa de reactivos (ya sea de adición o de eliminación neta), los cuales se pueden expresar como la suma de un término de producción (P_A , P_{B_j}) y un término de degradación (D_A , D_{B_j}):

$$S_A = P_A + D_A \quad (1.18)$$

$$S_{B_j} = P_{B_j} + D_{B_j} \quad (1.19)$$

Las reacciones receptor-ligando son mucho más rápidas que las respuestas celulares, con lo cual se asume que las reacciones están en equilibrio:

$$\frac{dA}{dt} = 0 \quad \frac{dB_j}{dt} = 0 \quad \frac{dC_j}{dt} = 0$$

Sustituyendo en las ecuaciones (1.15)-(1.17) resulta:

$$S_A = 0 \quad S_{B_j} = 0 \quad (1.20)$$

La velocidad de producción de A se puede descomponer en un término endógeno y otro término de aportación externa, mientras que la degradación de A se puede asumir proporcional a su concentración:

$$P_A = P_{A,e}(t) + P_{A,d}(t) \quad (1.21)$$

$$D_A = -\tilde{D}_A A \quad (1.22)$$

La producción endógena está regulada por un factor bioquímico que puede afectar positiva o negativamente y además no debe superar un nivel máximo de concentración (A_{\max}):

$$P_{A,e}(t) = \beta_A \cdot \Pi_{act,rep} \cdot \left(1 - \frac{A}{A_{\max}}\right) \quad (1.23)$$

Sustituyendo las ecuaciones (1.22) y (1.23) en la ecuación (1.20) obtenemos una expresión para la concentración de A:

$$A = \frac{\beta_A \cdot \Pi_{act,rep} + P_{A,d}(t)}{\frac{\beta_A \cdot \Pi_{act,rep}}{A_{\max}} + \tilde{D}_A} \quad (1.24)$$

Empleando las ecuaciones anteriores vamos a determinar las expresiones para las concentraciones de PTH, OPG y RANKL libre, así como las funciones de activación/represión asociadas a estas moléculas.

En este modelo se asume que la producción endógena de PTH es constante y no está regulada, es decir, $\beta_{PTH} = cte$, $\Pi_{act,rep} = 1$. Además se supone que la concentración de PTH está lejos de la saturación, $PTH_{\max} \gg PTH$, y que el PTH que se une a sus receptores situados en los OB_p es el mismo que en los OB_a . Usando estas suposiciones podemos expresar la concentración de PTH como sigue:

$$PTH = \frac{\beta_{PTH} + P_{PTH,d}}{\tilde{D}_{PTH}} \quad (1.25)$$

Dada la concentración de PTH podemos determinar las funciones de activación/represión empleadas para la regulación de la OPG y el RANKL en los osteoblastos precursores y los osteoblastos activos:

$$\Pi_{act,OB_p}^{PTH} = \Pi_{act,OB_a}^{PTH} = \frac{PTH}{K_{D4,PTH} + PTH} \quad (1.26)$$

$$\Pi_{rep,OB_p}^{PTH} = \Pi_{rep,OB_a}^{PTH} = \frac{1}{1 + \frac{PTH}{K_{D6,PTH}}} \quad (1.27)$$

La PTH regula positivamente la producción de RANKL, es decir, mediante funciones de activación de Hill, y negativamente la producción de OPG, mediante funciones de represión de Hill. Dado que hemos supuesto que solo los OB_a segregan OPG, podemos expresar la producción endógena de dicha proteína como sigue:

$$P_{OPG,e} = \beta_{2,OPG} \cdot OB_a \cdot \Pi_{rep,OB_a}^{PTH} \left(1 - \frac{OPG}{OPG_{\max}}\right) \quad (1.28)$$

Sustituyendo esta ecuación en la ecuación (1.24) obtenemos la expresión para la concentración de OPG:

$$OPG = \frac{\beta_{2,OPG} \cdot OB_a \cdot \Pi_{rep,OB_a}^{PTH} + P_{OPG,d}(t)}{\frac{\beta_{2,OPG} \cdot OB_a \cdot \Pi_{rep,OB_a}^{PTH}}{OPG_{\max}} + \tilde{D}_{OPG}} \quad (1.29)$$

El RANKL considerado en este modelo es el ligando unido a la superficie de los osteoblastos. La cantidad de RANKL ($RANKL_{tot}$) estará limitada por la capacidad portante efectiva, $RANKL_{eff}$, que representa la concentración máxima de RANKL. Esta está regulada positivamente por la PTH y como ya dijimos, el RANKL solo es segregado por los OB_p :

$$RANKL_{eff} = R_1^{RANKL} \cdot OB_p \cdot \Pi_{act,OB_p}^{PTH} \quad (1.30)$$

Donde R_1^{RANKL} es el número máximo de RANKL en los OB_p . La concentración total de RANKL en cualquier instante de tiempo será la suma del RANKL libre y los compuestos de RANKL, es decir, el RANKL unido al RANK y el RANKL unido a la OPG:

$$\begin{aligned} RANKL_{tot} &= RANKL + [RANKL - OPG] + [RANKL - RANK] \\ &= RANKL \cdot (1 + K_{A1,RANKL} \cdot OPG + K_{A2,RANKL} \cdot RANK) \end{aligned} \quad (1.31)$$

$K_{A1,RANKL}$ y $K_{A2,RANKL}$ son las constantes de asociación del RANKL con la OPG y con el RANK respectivamente. Siguiendo las definiciones que ya hicimos anteriormente, podemos definir la producción y la degradación de RANKL como sigue:

$$P_{RANKL} = P_{RANKL,e} + P_{RANKL,d} \quad (1.32)$$

$$P_{RANKL,e} = \beta_{RANKL} \left(1 - \frac{RANKL_{tot}}{RANKL_{eff}} \right) \quad (1.33)$$

$$D_{RANKL} = -\tilde{D}_{RANKL} \cdot RANKL_{tot} \quad (1.34)$$

Usando la condición de estado de equilibrio de la ecuación (1.20) podemos expresar la concentración de RANKL de la siguiente forma:

$$RANKL = \frac{RANKL_{eff}}{1 + K_{A1,RANKL} \cdot OPG + K_{A2,RANKL} \cdot RANK} \left(\frac{\beta_{RANKL} + P_{RANKL,d}}{\beta_{RANKL} + \tilde{D}_{RANKL} \cdot RANKL_{eff}} \right) \quad (1.35)$$

Con la definición de la concentración de RANKL libre ya es posible formular la última función de activación de Hill que regula la diferenciación de osteoclastos precusores:

$$\Pi_{act,OC_p}^{RANKL} = \frac{RANKL}{K_{D8,RANKL} + RANKL} \quad (1.36)$$

De esta forma quedan definidos todos los términos de las ecuaciones de balance celulares y con ello el modelo de poblaciones celulares de Pivonka de 2008.

3.2 Proliferación de OB: Modelo de Buenzli y Pivonka 2012

Este modelo no es si no una ampliación del modelo anterior, pues en aquel no se incluía el efecto anabólico de la proliferación de osteoblastos precusores (OB_p).

Según Buenzli et al. [6], el sistema de señalización Wnt es un regulador críticamente importante en la remodelación ósea. Las Wnt son una familia de más de 20 glucoproteínas que resultan ser cruciales para el desarrollo y la renovación homeostática de numerosos tejidos, entre los cuales se encuentra el tejido óseo. Estas proteínas favorecen la osteoblastogénesis, regulando positivamente la diferenciación y actuación de los osteoblastos. Es por ello que en este nuevo modelo se desarrolla el modelo de Pivonka et al. [2] introduciendo la proliferación de osteoblastos a través del sistema de señalización Wnt o mediante otros sistemas de

señalización.

Los osteoblastos son células mesenquimales derivadas del mesodermo. La expresión de ciertas moléculas (como el RUNX2 y el OSX), dirigidas por sistemas de señales de transducción, facilita la diferenciación de la célula progenitora en un pre-osteoblasto (OB_p) con capacidad de proliferar, luego en un osteoblasto capaz de producir matriz ósea (OB_a), y finalmente en un osteocito mecanosensible o en una célula de borde (ver Figura 3.4).

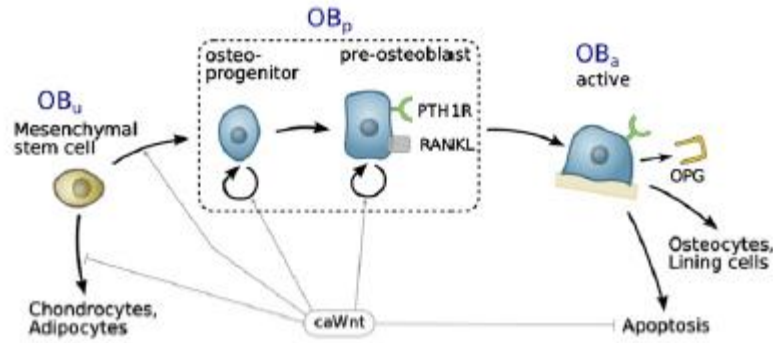


Figura 3.4. Desarrollo de los osteoblastos y sistema de señalización Wnt. Tomado de [6].

Conforme las células del linaje de los osteoblastos se diferencian, van produciendo moléculas esenciales para regular la operación de las BMUs, las cuales favorecen la osteoclastogénesis y la angiogénesis (formación de vasos sanguíneos nuevos a partir de los vasos preexistentes) en una BMU. Los OB_a segregan osteoide que después mineraliza para convertirse en hueso, mientras que los osteocitos producen moléculas que regulan las funciones de la BMU. El sistema de señalización Wnt ejerce tres funciones principales sobre las células del linaje de los osteoblastos:

- i) Determina que los osteoblastos se especifiquen a partir de los osteo-/condroprogenitores.
- ii) Estimula la proliferación de osteoblastos.
- iii) Aumenta la supervivencia de osteoblastos y osteocitos.

Buenzli et al. [6] decidieron incluir un estado transitorio de amplificación (es decir, de proliferación) en el linaje de los osteoblastos por dos razones:

En primer lugar, se sabe que la densidad de células madre mesenquimales (MSCs) en la médula ósea es muy baja y, sin embargo, las MSCs son reclutadas en las BMUs por parte del $TGF-\beta$. El rápido aumento en la población de osteoblastos requeridos en un evento de remodelación de una BMU debe implicar la existencia de células proliferativas (sometidas a una división celular simétrica), estas células serían los osteoblastos precursores proliferativos.

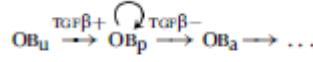
En segundo lugar, ciertas hormonas y citoquinas regulan los estados del desarrollo de los osteoblastos de formas diferentes. El estado transitorio de amplificación de los osteoblastos depende enormemente de varias hormonas, factores de crecimiento y otras moléculas, como las Wnt, el factor de crecimiento de la insulina (IGF), la prostaglandina E2 (PGE2) y el estrógeno. Además, en algunas enfermedades óseas el sistema de señalización de estas hormonas y factores de crecimiento se ve interrumpido, dando lugar a una población anormal de osteoblastos y con ello a un desequilibrio en el hueso durante la remodelación. Por estas razones, es esencial tener en cuenta de forma más precisa el estado transitorio de amplificación de los osteoblastos para hacer un modelo más realista de estas enfermedades.

Sin embargo, la inclusión de la proliferación de OB_p debe realizarse con cuidado, pues puede desembocar en un sistema dinámico inestable u originar comportamientos no fisiológicos del sistema. A continuación explicamos detalladamente cómo Buenzli [6] introduce la proliferación de OB_p en el anterior modelo de Pivonka [2].

3.2.1 Nuevos parámetros

Como bien sabemos, los OB_u representan una piscina de MSCs, las cuales se comprometen al linaje de los osteoblastos convirtiéndose en OB_p gracias a la activación de la señal del $TGF-\beta$. En el modelo, los OB_p

representan progenitores transitorios y amplificadores de osteoblastos, es decir, que tienen la capacidad de proliferar. La diferenciación de los OB_p en OB_a está regulada negativamente por el TGF- β . Los OB_a forman matriz ósea a una velocidad k_{form} que se asume constante. Finalmente los OB_a pueden quedar enterrados en el osteoide y convertirse en osteocitos, o pueden diferenciarse a células de borde, o pueden sufrir apoptosis. En este modelo, la eliminación de OB_a provoca una disminución de la piscina de células sintetizadoras de matriz y, por tanto considera las tres posibilidades anteriores. El desarrollo de los osteoblastos puede resumirse esquemáticamente de la siguiente forma:



Donde vemos que la población de OB_p se retroalimenta.

Las ecuaciones de balance celulares para este nuevo modelo son muy similares a las del modelo anterior, salvo porque en la ecuación (1.3) se incluye un nuevo término de proliferación quedando la ecuación final de la siguiente forma:

$$\frac{dOB_p}{dt} = D_{OB_u} \cdot OB_u \cdot \Pi_{act,OB_u}^{TGF-\beta} - D_{OB_p} \cdot OB_p \cdot \Pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta} + P_{OB_p} \cdot OB_p \quad (1.37)$$

El término de proliferación incluye un nuevo parámetro, la velocidad de proliferación, P_{OB_p} , la cual está relacionada con el período promedio del ciclo celular de los osteoblastos precursores, $\tau_{OB_p}^{mitosis}$, de la siguiente forma: $P_{OB_p}(t) = \ln(2) / \tau_{OB_p}^{mitosis}(t)$. La velocidad de proliferación está controlada por un mecanismo de realimentación y, por tanto, depende del tiempo. Este mecanismo de realimentación es necesario para limitar la generación de OB_a , pues si no fuera así la población de OB_a crecería descontroladamente desequilibrando la actividad de la BMU. Esto es modelado limitando la velocidad de proliferación de OB_p con la densidad de OB_p de la siguiente forma:

$$P_{OB_p}(t) = \begin{cases} P_{OB_p}(t) \left(1 - \frac{OB_p(t)}{OB_p^{sat}}\right) & \text{si } OB_p(t) < OB_p^{sat} \\ 0 & \text{si } OB_p(t) \geq OB_p^{sat} \end{cases} \quad (1.38)$$

El parámetro OB_p^{sat} hace referencia a la densidad crítica de OB_p a partir de la cual la proliferación se elimina por completo. El factor $P_{OB_p}(t)$ se refiere a regulaciones adicionales negativas y/o positivas de la proliferación de OB_p como son las debidas al sistema de señalización Wnt, a la administración de PTH y a otras hormonas y factores de crecimiento que juegan un papel en los procesos mecanosensibles o en el desarrollo de la osteoporosis:

$$P_{OB_p}(t) \equiv P_{OB_p}(Wnt(t), PTH(t), \text{estrógeno}(t), IGF(t), TGF-\beta(t), \dots) \quad (1.39)$$

Para que la solución del sistema de ecuaciones diferenciales sea estable y pueda llegarse a un estado de equilibrio es necesario que se cumpla la siguiente condición:

$$P_{OB_p} < D_{OB_p} \cdot \Pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta} \quad (1.40)$$

En caso de no cumplirse la condición anterior, la población de OB_p crecería indefinidamente.

Considerando constantes los nuevos parámetros introducidos en el modelo es posible resolver las ecuaciones, haciendo uso, por supuesto, de las ecuaciones que ya se expusieron en el apartado 3.1.

3.3 Modelo de Pivonka 2013

En este modelo de Pivonka [5] se amplían los modelos antes desarrollados incluyendo ahora, no solo las interacciones bioquímicas entre células, sino también las interacciones biomecánicas y geométricas.

La existencia de regulaciones bioquímicas y biomecánicas en las células óseas está comúnmente aceptada, pues ha sido ampliamente estudiada. Sin embargo, la idea de que la morfología de la microestructura ósea puede provocar regulaciones puramente geométricas en las células óseas no ha sido tan estudiada, ya que es difícil de comprobar experimentalmente.

Como bien sabemos, el tejido óseo es diverso y presenta una amplia variedad de microestructuras. Los modelos matemáticos para la estimación de las propiedades mecánicas de este tejido han demostrado que la rigidez del hueso depende principalmente de la porosidad del mismo, f_{vas} (consideraremos la porosidad del hueso como la porosidad vascular, sin tener en cuenta la porosidad del sistema lacuno-canalicular, ya que en estas superficies no ocurre remodelación), de la interacción entre las diferentes fases de material y de la forma de los poros.

En los procesos bioquímicos, la morfología de los poros juega un papel muy importante. La forma de los poros determina la llamada superficie específica, S_v (cantidad de superficie ósea disponible en un elemento de volumen representativo), la cual es un factor geométrico esencial para las células óseas. Las células óseas requieren de una superficie en el hueso donde desempeñar sus funciones, ya sea para iniciar el proceso de remodelación o para realizar la reabsorción y la formación. Los osteoclastos necesitan acoplarse a un área particular de la superficie ósea antes de iniciar la reabsorción. Los osteoblastos sólo secretan osteoide sobre superficies óseas ya existentes. Además, las señales mecánicas sentidas por los osteocitos embebidos en la matriz pasan a las células óseas a través de la superficie ósea. Con lo cual vemos que la S_v tiene un papel fundamental durante todo el proceso de remodelación.

3.3.1 Descripción del modelo

A diferencia de los modelos anteriores, en este se incluye una nueva variable de estado, la población de OC_p , que deja de ser una constante, para pasar a ser una variable más en las ecuaciones de balance celulares. Así mismo se introduce la población de OC_u , como una etapa más en el proceso de maduración de los osteoclastos, este parámetro se considerará constante.

Con lo cual, se siguen considerando tres etapas en la evolución de los osteoblastos: OB_u , OB_p y OB_a , y se amplía a tres etapas en el desarrollo de los osteoclastos: OC_u , OC_p , OC_a . En la figura 3.5 se representan esquemáticamente estos tipos de células óseas junto con sus reguladores bioquímicos, biomecánicos y geométricos.

Los reguladores bioquímicos de las células óseas ya fueron descritos en los modelos anteriores, sin embargo, no se hizo lo mismo con los biomecánicos ni los geométricos y por ello lo haremos a continuación.

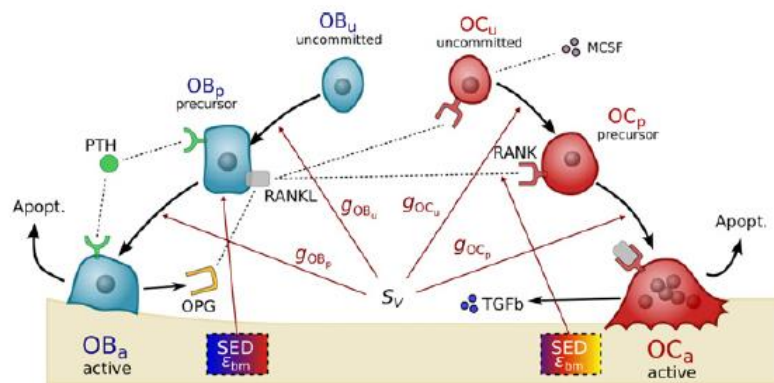


Figura 3.5. Tipos de células óseas y sus reguladores bioquímicos, biomecánicos y geométricos. Tomado de [5].

3.3.1.1 Reguladores biomecánicos

Los mecanismos de regulación biomecánica considerados en este modelo se describen con detalle en la Referencia [24]. El desuso mecánico aumenta la reabsorción de hueso mediante el aumento del ratio RANKL/OPG, el cual aumenta la diferenciación de OC_p en OC_a . En el modelo, esto se implementa usando un

término de producción de RANKL controlada mecánicamente (ver ecuación (1.52)).

La sobrecarga mecánica aumenta la formación de hueso mediante la estimulación del sistema Wnt sobre los OB_p , lo cual aumenta su proliferación y finalmente da lugar a un aumento en la población de OB_a . En el modelo, esto se implementa usando un término de proliferación de OB_p controlada mecánicamente (ver ecuación (1.51)).

3.3.1.2 Reguladores geométricos

Para representar la microestructura del hueso a nivel de tejido, los parámetros geométricos y morfológicos más importantes son la porosidad vascular (f_{vas}) y la superficie específica (S_v). En el hueso cortical, la porosidad vascular se corresponde con el llamado sistema de “canales Haversianos”. En el hueso trabecular, la porosidad vascular se corresponde con el espacio medular que rodea las estructuras trabeculares. La porosidad vascular se define como la fracción volumétrica de poros vasculares, es decir, el volumen de poros vasculares (V_{vas}) por volumen de tejido (V_T):

$$f_{vas} = \frac{V_{vas}}{V_T} \quad (1.41)$$

La fracción volumétrica de matriz ósea se define de la misma manera como el volumen de matriz ósea (V_{bm}) por volumen de tejido:

$$f_{bm} = \frac{V_{bm}}{V_T} \quad (1.42)$$

Como ya dijimos antes, la porosidad del sistema lacuno-canalicular no está incluida en la porosidad vascular, pues no está implicada en el proceso de remodelación. De las ecuaciones (1.41) y (1.42) se deduce que:

$$f_{vas} + f_{bm} = 1 \quad (1.43)$$

La superficie específica de un material poroso se define como el área de superficie intersticial de los poros (S_p) por volumen de tejido:

$$S_v = \frac{S_p}{V_T} \quad (1.44)$$

Sus dimensiones son [mm^2/mm^3].

La microestructura de un material determina tanto su porosidad como su superficie específica. Según la microestructura, diferentes materiales presentan valores distintos de estos parámetros. Basándose en una gran cantidad de datos experimentales, Martin[25] determinó una relación fenomenológica entre la superficie específica y la porosidad vascular:

$$S_v(f_{vas}) = a \cdot f_{vas} + b \cdot f_{vas}^2 + c \cdot f_{vas}^3 + d \cdot f_{vas}^4 + e \cdot f_{vas}^5 \quad (1.45)$$

Donde los coeficientes del polinomio son estimados como $a = 32.3$, $b = -93.9$, $c = 134$, $d = -101$ y $e = 28.8$ (en [mm^{-1}]), esta ecuación será empleada tal cual, con los mismo valores de los coeficientes, en el modelo final objeto de este Trabajo Fin de Grado. En la figura 3.6 se representa gráficamente la relación de la ecuación (1.45), junto con los datos experimentales obtenidos de varios tipos de huesos humanos (femur, cresta ilíaca, vértebra, costilla) ambos para individuos sanos y enfermos.

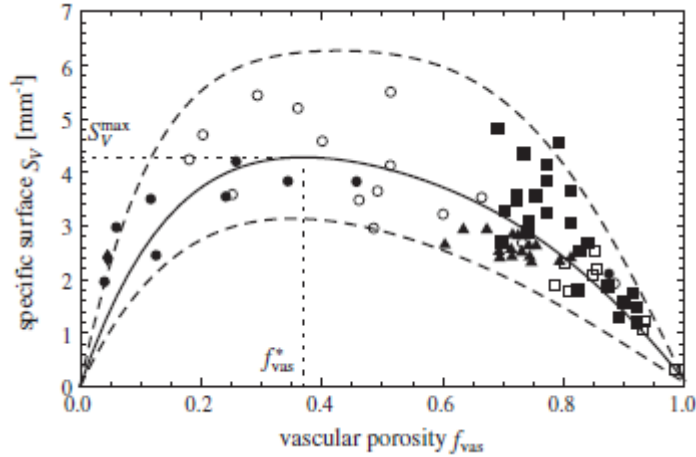


Figura 3.6. Relación entre la superficie específica y la porosidad vascular. Símbolos opacos: hueso sano; símbolos abiertos: hueso enfermo; círculos: femur; cuadrados: cresta ilíaca; rombos: costilla; triángulos: vértebra. El máximo de la curva $S_v(f_{vas})$ (línea continua, ecuación (1.43)) en $f_{vas}=f_{vas}^* \approx 0.37$ está indicado en línea de puntos. Las líneas discontinuas se han obtenido variando los coeficientes de la ecuación (1.43). Tomado de [5].

Los datos y la curva $S_v(f_{vas})$ muestran dos características importantes: 1. Todos los especímenes siguen aproximadamente la misma curva $S_v(f_{vas})$ independientemente del tipo de hueso y sin diferencias significativas entre huesos enfermos y sanos. Esta remarcable universalidad establece la curva $S_v(f_{vas})$ como una propiedad intrínseca del hueso. De ahí que se haya tomado tal cual para el modelo final que nos ocupa. 2. La superficie específica presenta un máximo para una porosidad de 0.37, un valor intermedio entre la porosidad del hueso cortical (0.05-0.15) y la del trabecular (0.65-0.85).

3.3.2 Desarrollo del modelo

Al igual que en modelos anteriores, las poblaciones de osteoblastos no comprometidos, OB_u , y de osteoclastos no comprometidos, OC_u , se asumen constantes y no son variables de estado. La posibilidad de una regulación geométrica es incluida en este modelo en cada una de las etapas del desarrollo de los osteoblastos y los osteoclastos mediante unas funciones que dependen de la superficie específica, las cuales son denominadas $g_{OB_u}(S_v)$, $g_{OB_p}(S_v)$, $g_{OC_u}(S_v)$ y $g_{OC_p}(S_v)$ (ver Figura 3.5). Basándonos en las descripciones anteriores de los mecanismos de regulación bioquímicos, biomecánicos y geométricos, las ecuaciones de balance celulares que gobiernan este modelo se expresan de la siguiente forma:

$$\frac{dOB_p}{dt} = g_{OB_u}(S_v) \cdot D_{OB_u} \cdot OB_u \cdot \Pi_{act,OB_u}^{TGF-\beta} - g_{OB_p}(S_v) \cdot D_{OB_p} \cdot OB_p \cdot \Pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta} + P_{OB_p} \cdot \Pi_{act,OB_p}^{N_{bm}} \cdot OB_p \quad (1.46)$$

$$\frac{dOB_a}{dt} = g_{OB_p}(S_v) \cdot D_{OB_p} \cdot OB_p \cdot \Pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta} - A_{OB_a} \cdot OB_a \quad (1.47)$$

$$\frac{dOC_p}{dt} = g_{OC_u}(S_v) \cdot D_{OC_u} \cdot OC_u \cdot \Pi_{act,OC_u}^{RANKL} \cdot \Pi_{act,OC_u}^{MCSF} - g_{OC_p}(S_v) \cdot D_{OC_p} \cdot OC_p \cdot \Pi_{act,OC_p}^{RANKL} \quad (1.48)$$

$$\frac{dOC_a}{dt} = g_{OC_p}(S_v) \cdot D_{OC_p} \cdot OC_p \cdot \Pi_{act,OC_p}^{RANKL} - A_{OC_a} \cdot OC_a \cdot \Pi_{act,OC_a}^{TGF-\beta} \quad (1.49)$$

Podemos apreciar ciertas diferencias respecto a los modelos anteriores. Además de las funciones geométricas, en este modelo se han incluido algunas funciones de activación/represión que no aparecían anteriormente, y una nueva ecuación de balance donde se considera la población de OC_p como una variable de estado más del sistema de ecuaciones.

Cabe destacar la nueva función de activación que regula la diferenciación de OC_u en OC_p según la concentración del factor de estimulación de colonias de macrófagos (MCSF), Π_{act,OC_u}^{MCSF} . Ya habíamos visto que la diferenciación de OC_u dependía tanto del RANKL libre como del MCSF, sin embargo, en los modelos

anteriores sólo se había tenido en cuenta la influencia de la concentración de RANKL y ahora se incluye por primera vez la influencia del MCSF. Aún así, en este modelo, la concentración de MCSF, y por tanto el valor de Π_{act,OC_u}^{MCSF} , se asume constante.

A continuación vamos a explicar los nuevos parámetros que aparecen en el modelo relacionado con los mecanismos de regulación biomecánicos y geométricos.

3.3.2.1 Regulación biomecánica

El primer parámetro nuevo aparece en el último término de la ecuación de balance de OB_p . Es una función de activación que modula la proliferación de OB_p en función del estímulo mecánico al que esté sometida la matriz ósea, Ψ_{bm} , lo cual se conoce en la literatura como densidad de esfuerzo energético (SED). Según Scheiner et al.[24], la SED es estimada a la microescala donde los osteocitos sienten las señales mecánicas y las traducen en una respuesta bioquímica. Es posible demostrar que la densidad microscópica de esfuerzo energético de la matriz ósea, Ψ_{bm} , depende intrínsecamente del tensor de tensiones macroscópico, Σ , del tensor de rigidez de la matriz ósea, c_{bm} , y de la porosidad vascular, f_{vas} :

$$\Psi_{bm} = \Psi_{bm}(\Sigma, c_{bm}, f_{vas}) \quad (1.50)$$

Pivonka [5] supone que la proliferación de OB_p está regulada positivamente por la Ψ_{bm} , de forma que a mayor estímulo, mayor formación de hueso, es decir, mayor proliferación de OB_p con el consecuente aumento en la población de OB_a sintetizadores de matriz. La proliferación de OB_p se modulada por la influencia del estímulo mecánico mediante una función de activación que se define de la siguiente forma:

$$\Pi_{act,OB_p}^{\Psi_{bm}} = \begin{cases} \frac{1}{2} & \Psi_{bm} \leq \Psi_{bm}(t_0) \\ \frac{1}{2} + \frac{\lambda}{2} \left(\frac{\Psi_{bm}}{\Psi_{bm}(t_0)} - 1 \right), & \Psi_{bm}(t_0) < \Psi_{bm} < \Psi_{bm}^* \\ 1 & \Psi_{bm}^* \leq \Psi_{bm} \end{cases} \quad (1.51)$$

Donde λ es un parámetro constante que cuantifica la influencia de la transducción biomecánica en el caso de sobrecarga, es decir, en caso de que el estímulo sea alto. $\Psi_{bm}(t_0)$ es el valor del estímulo mecánico en el estado de equilibrio y $\Psi_{bm}^* = (1 + \lambda^{-1})\Psi_{bm}(t_0)$ es el valor mínimo del estímulo mecánico para el cual $\Pi_{act,OB_p}^{\Psi_{bm}} = 1$.

La siguiente modificación que aparece en este modelo también está relacionada con el estímulo mecánico, aunque en este caso se trata de una regulación por bajo estímulo mecánico (desuso). La regulación biomecánica de la reabsorción de hueso se tiene en cuenta en el modelo mediante la regulación del sistema de señalización RANK-RANKL-OPG por medio del estímulo mecánico. De forma que cuanto menor sea el estímulo, mayor será la reabsorción, con lo cual aumentará la producción de RANKL libre para que éste pueda unirse al RANK y promover la osteoclastogénesis. La velocidad de producción de RANKL en los OB_p aumenta con el desuso mecánico y puede expresarse de la siguiente forma:

$$P_{RANKL}^{\Psi_{bm}} = \begin{cases} \kappa \left(1 - \frac{\Psi_{bm}}{\Psi_{bm}(t_0)} \right), & \Psi_{bm} < \Psi_{bm}(t_0) \\ 0, & \Psi_{bm} \geq \Psi_{bm}(t_0) \end{cases} \quad (1.52)$$

Donde κ es un parámetro constante que cuantifica la influencia de la transducción biomecánica en el caso de desuso mecánico.

Este nuevo parámetro de velocidad de producción de RANKL aparecerá en el modelo dentro de la expresión de la concentración de RANKL sustituyendo al término que se refiere a la aportación externa de dicha molécula en la ecuación (1.35), la cual queda ahora de la siguiente forma:

$$RANKL = \frac{RANKL_{eff}}{1 + K_{A1,RANKL} \cdot OPG + K_{A2,RANKL} \cdot RANK} \left(\frac{\beta_{RANKL} + P_{RANKL}^{\psi_{bm}}}{\beta_{RANKL} + \tilde{D}_{RANKL} \cdot RANKL_{eff}} \right) \quad (1.53)$$

Llegados a este punto convendría explicar cómo se calcula el estímulo mecánico al que hemos ido haciendo referencia en este subapartado, pues será necesario saberlo para emplearlo en nuestro modelo final objeto de este trabajo.

Según el modelo isótropo de Stanford, desarrollado a finales de los 80 y principios de los 90 bajo la dirección del Dr. Dennis Carter, existe una condición de remodelación homeostática a nivel local. Esto quiere decir que el tejido óseo dispone de una serie de mecanismos para autorregularse y mantener dentro de un cierto rango de valores una determinada magnitud fisiológica, la que conocemos como estímulo mecánico. Estos mecanismos son los que ya conocemos, implicados en el proceso de remodelación ósea interna, los cuales modifican la densidad ósea y, por tanto las propiedades mecánicas, con el objetivo global de homogeneizar el estímulo local y mantenerlo dentro del rango antes comentado.

El estímulo mecánico local, ψ_t , también denominado estímulo tensional tisular diario, o sea, a nivel del tejido, es una magnitud relacionada con la carga a la que se encuentra sometido el tejido y que tiene en cuenta los distintos casos de cargas que conforman la actividad física diaria habitual, podemos expresarlo de la siguiente forma:

$$\psi_t = \left(\sum_{i=1}^N n_i \bar{\sigma}_i^m \right)^{1/m} \quad (1.54)$$

Donde N es el número de casos de carga diferentes, n_i es el número promedio de ciclos diarios del caso de carga i , $\bar{\sigma}_i$ es la tensión efectiva local para el caso de carga i , parámetro escalar que representa la intensidad del estado tensional local en el tejido mineralizado, y m es un exponente experimental que Whalen y Carter [26] estimaron entre 3 y 8 optando por un valor final igual a 4, que será el que usemos en nuestro modelo.

Jacobs [27] propuso simplificar la historia de carga teniendo en cuenta que la escala de tiempos en la que ocurre la variación de cargas es muy diferente a la escala de tiempo en la que tiene lugar la respuesta del hueso. Pues mientras las tensiones pueden variar en tiempos del orden de segundos, la respuesta de remodelación tiene tiempos característicos del orden de semanas o meses. Por ello, es conveniente sustituir las tensiones o deformaciones instantáneas por variables cuasiestáticas que contienen información sobre todas las actividades que se producen durante la historia reciente de carga. En concreto, la información que interesa de cada actividad es la tensión máxima promedio que origina y el número de ciclos que se produce dicha actividad en el período de control en el que se toma dicho promedio. La duración de este período no afecta de manera relevante a la respuesta de la remodelación, siempre que no sea excesivamente grande ni pequeño. Con esta simplificación podemos reescribir la ecuación (1.54) de la siguiente forma:

$$\psi_t = n_c^{1/m} \bar{\sigma}_t \quad (1.55)$$

Donde n_c es el número de ciclos que se realiza la actividad que se esté considerando en ese momento.

El modelo isótropo de Stanford incluye además la hipótesis de que la matriz ósea está completamente mineralizada, con una densidad local igual en todos los puntos, $\hat{\rho}$. De esta forma, la densidad aparente del tejido óseo, ρ , que ya definimos en el segundo capítulo de este documento como la masa de la matriz ósea contenida en la unidad de volumen de tejido, depende tan sólo de la porosidad local, p , y no del grado de mineralización de la matriz ósea, que se supone que no varía en este modelo. La relación entre la porosidad y la densidad aparente se puede expresar de la siguiente forma:

$$p = 1 - \frac{V_b}{V_T} = 1 - \frac{\rho}{\hat{\rho}} \quad (1.56)$$

Para poder tratar al hueso como un medio continuo, es necesario pasar de la escala microscópica del nivel de tejido, en la que el material es heterogéneo, al nivel continuo. Esto se hace de forma indirecta, relacionando la resistencia última del hueso trabecular a nivel continuo, $\bar{\sigma}_{ult}$, con la resistencia última del tejido óseo trabecular, $\bar{\sigma}_{ult_t}$, que se supone constante. Gibson [28] estableció que ambas magnitudes están relacionadas a través de la densidad aparente por medio de alguna función $R(\rho)$.

$$\bar{\sigma}_{ult}(\rho) = R(\rho)\bar{\sigma}_{ult_t} \quad (1.57)$$

La evidencia experimental [29] muestra que esta función debe ser proporcional al cuadrado de la densidad aparente. Ya que la resistencia última a nivel continuo y a nivel tisular deben coincidir en el caso de porosidad nula, donde la función debe ser tal que $R(\hat{\rho}) = 1$. De esta forma la ecuación (1.57) se puede reescribir de la siguiente manera [19]:

$$\bar{\sigma}_{ult}(\rho) = \left(\frac{\rho}{\hat{\rho}}\right)^2 \bar{\sigma}_{ult_t} \quad (1.58)$$

Esta relación se debe cumplir no solo para la resistencia última, sino para cualquier valor de tensión, y en particular para la tensión efectiva. Sustituyendo en la ecuación (1.54) la tensión efectiva a nivel tisular o local por la tensión efectiva a nivel continuo y operando, se puede obtener el estímulo tensional diario continuo:

$$\Psi = \left(\sum_{i=1}^N n_i \bar{\sigma}_i^m\right)^{1/m} \quad (1.59)$$

Que se relaciona con el estímulo tensional diario tisular de la misma forma que las tensiones:

$$\Psi_t = \left(\frac{\hat{\rho}}{\rho}\right)^2 \Psi \quad (1.60)$$

Y que es posible simplificar de la misma forma que se hizo en la ecuación (1.55):

$$\Psi = n_c^{1/m} \bar{\sigma} \quad (1.61)$$

Sustituyendo las ecuaciones (1.56) y (1.61) en la ecuación (1.60) llegamos a la siguiente expresión:

$$\Psi_t = \left(\frac{\hat{\rho}}{\rho}\right)^2 \Psi = \frac{\Psi}{(1-p)^2} = \frac{\bar{\sigma} \cdot n_c^{1/m}}{(1-p)^2} \quad (1.62)$$

Esta ecuación será la que emplearemos en nuestro modelo para calcular el estímulo en caso de tensión constante. Para el caso de deformación constante, la expresión del estímulo será la siguiente:

$$\Psi_t = \varepsilon \cdot n_c^{1/m} \quad (1.63)$$

Donde ε será el valor de la deformación aplicada en cada caso.

3.3.2.2 Regulación geométrica

Las cuatro funciones de regulación, $g_{OB_u}(S_v)$, $g_{OB_p}(S_v)$, $g_{OC_u}(S_v)$ y $g_{OC_p}(S_v)$, que aparecen en las ecuaciones (1.46)-(1.49) incluyen una realimentación geométrica en las distintas etapas del desarrollo de osteoblastos y osteoclastos. Esto nos permite distinguir dos tipos de acción geométrica: la regulación del inicio de nuevos eventos de remodelación (cración de BMUs), y la regulación de la reabsorción y la formación dentro de las BMUs ya existentes.

El inicio de un nuevo evento de remodelación comienza con el reclutamiento de OC_p y OB_p en la superficie

ósea. Este reclutamiento está controlado por los osteocitos, que sienten el estado mecánico de la matriz ósea y lo comunican a las células progenitoras de la médula a través de la superficie del hueso. La compleja dependencia de la disponibilidad de superficie ósea en el reclutamiento de OC_p y OB_p se modela mediante la regulación geométrica de la diferenciación celular a través de las funciones $g_{OB_u}(S_v)$ y $g_{OC_u}(S_v)$. Por lo tanto, estas funciones modelan la influencia de la disponibilidad de superficie ósea en la iniciación de nuevos eventos de remodelación, es decir, en el número de nuevas BMUs, lo cual determina la velocidad de la remodelación ósea.

Por otro lado, la maduración de OB_p y OC_p en células activas depende de la superficie ósea disponible, ya que los OC_a solo pueden reabsorber hueso de la superficie ósea y los OB_a solo depositan hueso nuevo en la superficie ósea. Esta dependencia se modela mediante las funciones $g_{OB_p}(S_v)$ y $g_{OC_p}(S_v)$. Estas funciones determinan cuántos OC_a y cuántos OB_a pueden formarse en una BMU que ya esté remodelando hueso, o sea, que ya contenga OB_p y OC_p . Con lo cual establecerán la cantidad de hueso que es reabsorbido y formado en una BMU ya existente.

Debido a las diferentes formas en las que actúa la superficie ósea en la diferenciación de las células, las funciones geométricas deberían tener expresiones distintas y podrían ser funciones complejas de la superficie específica, S_v . Como regla general se puede esperar que las g_i son funciones que aumentan con S_v , pero esta dependencia puede ser no lineal debido a la complejidad de los mecanismos microscópicos mediante los cuales la superficie ósea puede afectar a la diferenciación celular. Para tener en cuenta estos efectos en una sola expresión, Pivonka et al. [5] utilizan una aproximación fenomenológica y asumen que cada una de estas funciones puede representarse como sigue:

$$g_i(S_v) = \left(\frac{S_v}{S_v(t_0)} \right)^{k_i}, \text{ con } k_i \geq 0, i = OB_u, OB_p, OC_u, OC_p \quad (1.64)$$

Donde $S_v(t_0)$ se refiere a la superficie específica en el estado de equilibrio de la remodelación ósea, en el cual no hay pérdida ni ganancia de hueso. Al normalizar S_v con su valor en el estado de equilibrio, nos aseguramos que en el estado de equilibrio $g_i=1$. Los valores de k_i nos permiten controlar la influencia de la superficie específica en las diferentes etapas del desarrollo celular de OB y OC. Gracias a estos exponentes, k_i , podemos controlar la realimentación geométrica en cada una de las poblaciones celulares, ya que haciendo $k_i=0$ esta relación desaparece.

3.3.2.3 Ecuación para la porosidad

El último cambio que introduce este modelo viene a modificar la ecuación (1.11) del modelo de Pivonka de 2008.

La actividad de osteoblastos y osteoclastos da lugar a la eliminación y deposición de hueso nuevo. Esta actividad modifica la fracción volumétrica de matriz ósea en el tejido, es decir, la porosidad del mismo. Los osteoblastos depositan osteoide, que se mineraliza relativamente rápido: en pocos días se alcanza el 70% de la densidad de mineral máxima [20]. Dado que un proceso de remodelación implica mucho más tiempo, es justo modelar que la matriz ósea segregada por los osteoblastos se mineraliza por completo instantáneamente. Con lo cual es plausible expresar la ecuación (1.11) como la variación de la porosidad vascular a lo largo del tiempo:

$$\frac{d}{dt} f_{vas} = -\frac{d}{dt} f_{bm} = -k_{form} OB_a + k_{res} OC_a \quad (1.65)$$

Con esta ecuación queda definido por completo el modelo de Pivonka de 2013.

3.4 Daño y mineralización

3.4.1 Producción de RANKL debida al daño

En el presente trabajo se añade un detalle más al modelo de Pivonka et al. [5] siguiendo lo propuesto por Martínez-Reina et al. [1], se trata de incluir el efecto del daño en la producción de RANKL teniendo en cuenta que no sólo el desuso provoca la producción de RANKL, sino que también el daño causa ese mismo efecto.

Cuando el tejido está dañado, es decir, presenta un gran número de microgrietas, los osteocitos embebidos en la matriz ósea sufren el mismo efecto que en el caso del desuso. Las conexiones del sistema lacuno-canalicular se interrumpen debido a las microgrietas, impidiendo así el paso del fluido que transporta las moléculas de señalización que son intercambiadas entre los osteocitos y las demás células óseas. En el caso del desuso el efecto era similar, pero estaba causado por una falta de movimiento de este fluido, provocada por un estímulo mecánico insuficiente. Al no haber flujo del fluido que transporta la información biomecánica, los OB_p interpretan que el hueso no se está utilizando y por tanto debe ser eliminado al no ser útil para el organismo. Eso se traduce en un aumento en la segregación de RANKL por parte de los OB_p , que provocará un aumento en la diferenciación de OC_p a OC_a (al unirse el RANKL con su receptor RANK situado en los OC_p) y por consiguiente se verá incrementada la reabsorción ósea.

La nueva ecuación que se incluye en el modelo está relacionada con el daño y afectará a la expresión de la concentración de RANKL (ver ecuación (1.53)), pues se incluirá como un término más dentro del término de producción externa de RANKL, en el cual ya se incluía la producción de RANKL por desuso:

$$P_{RANKL,d} = P_{RANKL}^{W_{bm}} + P_{RANKL}^{dam} \quad (1.66)$$

$$P_{RANKL}^{dam} = \kappa_2 \cdot d \quad (1.67)$$

El factor κ_2 indica la influencia del daño en la emisión de RANKL y d se refiere al valor del daño, el cual dependerá de las propiedades de fatiga del hueso y del contenido de mineral, entre otros parámetros.

Para poder comprender cómo se calcula el valor del daño en nuestro modelo, es necesario dar unas nociones básicas sobre la composición del hueso. Como ya hemos descrito en capítulos anteriores, el hueso es un tejido compuesto por matriz y poros, relleno de médula ósea, capilares sanguíneos y nervios. Un volumen de hueso de referencia, V_t , se puede dividir en volumen de matriz ósea, V_b , y volumen de poros, V_v . La matriz ósea está compuesta por una fase inorgánica (mineral), V_m , una fase orgánica (principalmente colágeno), V_o , y agua, V_w :

$$V_t = V_b + V_v = V_m + V_o + V_w + V_v \quad (1.68)$$

A raíz de estos volúmenes se pueden definir una serie de parámetros que serán de utilidad para nuestro modelo. El primero de ellos es la fracción volumétrica de hueso, v_b , que se puede expresar de la siguiente forma:

$$v_b = \frac{V_b}{V_t} \quad (1.69)$$

Gracias a este parámetro podemos definir la porosidad, p , que ya habíamos descrito en el apartado 3.3.2.1 y que será una de las variables independientes de nuestro modelo:

$$p = \frac{V_v}{V_t} = 1 - v_b \quad (1.70)$$

Otro parámetro que también será independiente en nuestro modelo y que no hemos definido hasta ahora es la fracción de ceniza, que caracteriza el grado de mineralización. Se define como el cociente entre la masa de mineral m_m (también conocida como masa de ceniza) y la masa seca (suma de la masa mineral y la masa orgánica):

$$\alpha = \frac{m_m}{m_m + m_o} = \frac{\rho_m V_m}{\rho_m V_m + \rho_o V_o} \quad (1.71)$$

La fracción de ceniza es fundamental para el cálculo del daño, ya que determinará la cantidad de mineral en el hueso, lo cual afecta a las propiedades mecánicas del tejido, como su rigidez o resistencia última a tracción.

El daño se considera como una variable independiente cuyo rango de valores está restringido al intervalo [0,1], de forma que $d=0$ sería un estado de tejido no dañado y $d=1$ se corresponde con el caso de rotura local. Según la teoría isotrópica de la mecánica de daño continuo, el daño se relaciona con la degradación mecánica o pérdida de rigidez de la siguiente forma:

$$d = 1 - \frac{E}{E_0} \quad (1.72)$$

Donde E es el módulo de Young real del hueso dañado y E_0 es el módulo de Young del mismo hueso en una situación ideal de daño nulo.

Los ensayos de fatiga nos muestran la evolución de d según el nivel de deformación o de tensión y el número de ciclos, así como la vida a fatiga, que viene dada por una expresión de la forma:

$$N_f = \frac{K_i}{\bar{\epsilon}^{\delta_i}} \quad (1.73)$$

El subíndice i puede ser c para el caso de compresión o t para tracción, en nuestro modelo sólo tendremos en cuenta el daño provocado por esfuerzos de tracción. Los valores de K_i y δ_i fueron obtenidos experimentalmente por Pattin et al. [30] para hueso cortical sometido a ensayos de fatiga uniaxial, siendo para nosotros de interés solamente el valor de $\delta_i = 14.1$, pues la K_i se calculará de otra forma.

De igual forma, Pattin et al. [30] obtuvieron una relación entre la pérdida de rigidez, es decir, el daño, y la deformación constante aplicada y el número de ciclos. Estas curvas fueron ajustadas por García-Aznar et al. [31] dando lugar a la siguiente expresión:

$$d_t = 1 - \sqrt[\gamma_t]{\frac{1}{C_{t2}} \ln \left(e^{C_{t2}} - C_{t1} \bar{\epsilon}^{\delta_t} N \right)} \quad (1.74)$$

Donde N es el número de ciclos y el resto de parámetros se indican a continuación.

$$\gamma_t = -0.018(\bar{\epsilon} - 4100) + 12 \quad (1.75)$$

$$C_{t1} = \frac{e^{C_{t2}} - 1}{K_t}, \quad C_{t2} = -20 \quad (1.76)$$

Como bien dijimos anteriormente, estas ecuaciones se aplican al caso de una carga de tracción. Más adelante determinaremos la expresión empleada para el cálculo de K_t .

El daño aumenta debido a la fatiga que sufre el tejido óseo, pero disminuye gracias a la remodelación en la que el tejido dañado es reabsorbido y sustituido por osteoide, inicialmente intacto. En nuestro modelo asumimos que el daño está uniformemente distribuido a lo largo del volumen de hueso, V_b , dentro de cada volumen macroscópico representativo donde las propiedades macroscópicas están promediadas según teorías de continuidad. Por tanto, el daño reparado por unidad de tiempo es proporcional al volumen de tejido que está siendo reabsorbido (realmente se trata de la fracción del volumen total) y el daño presente en ese volumen:

$$\dot{d} = -d \frac{\dot{V}_r}{V_b} \quad (1.77)$$

Además de lo anterior, a la hora de calcular el daño también debemos tener en cuenta que las propiedades de fatiga del tejido óseo se van degradando a medida que aumenta el contenido de mineral. El contenido de mineral no sólo aporta rigidez al hueso, sino que también lo hace más frágil.

Tradicionalmente, el límite de fatiga ha sido relacionado con la resistencia última a tracción en distintos tipos de materiales [32]. Considerando que la matriz ósea no sufre deformaciones plásticas (lo cual se confirma con el hecho de que el daño se acumula por la aparición de microgrietas), la tensión última a tracción, σ_u , es proporcional a la deformación última a tracción, ε_u , localmente, y se ha demostrado experimentalmente que ε_u disminuye con el contenido de mineral [33] (ver Figura 3.7). Teniendo en cuenta esta idea se pueden hacer las siguientes suposiciones:

1. La forma de la curva $d - N$, expresada por la ecuación (1.74) se mantiene a pesar de los cambios en el contenido de mineral.
2. Solamente la vida a fatiga se ve afectada por el contenido de mineral, cambiando la constante K_t de la ecuación (1.73) y manteniendo constante el exponente δ_t . Esto modifica la curva $d - N$, ya que C_{t1} depende de K_t . De forma que, aumentando K_t obtenemos una vida a fatiga mayor y, obviamente, una velocidad de acumulación de daño menor.
3. El límite de fatiga se considera para una vida a fatiga de 10^7 ciclos. Normalmente dicho límite de fatiga se alcanza para una fracción de la deformación última a tracción, ε_u / β , donde β depende del tipo de material, que para nuestro caso toma un valor igual a 2. Como muestra la Figura 3.7, ε_u depende de la concentración de calcio, [Ca], con lo cual, K_t se puede obtener a partir de la ecuación (1.73) como sigue:

$$K_t([Ca]) = 10^7 \left(\frac{\varepsilon_u([Ca])}{\beta} \right)^{\delta_t} \quad (1.78)$$

4. Finalmente, la función $\varepsilon_u = \varepsilon_u([Ca])$ se ha determinado relacionando los resultados de la Figura 3.7 con una regresión lineal apropiada que podemos ver en la figura en forma de línea gruesa.

$$\log \varepsilon_u = 25.452 - 11.341 \log[Ca] \quad (1.79)$$

Todas estas expresiones han sido empleadas para calcular el daño que sufre el tejido óseo en nuestro modelo, en el Anexo B podemos ver la función *dano2.m* creada en MATLAB, la cual nos permite realizar dichos cálculos.

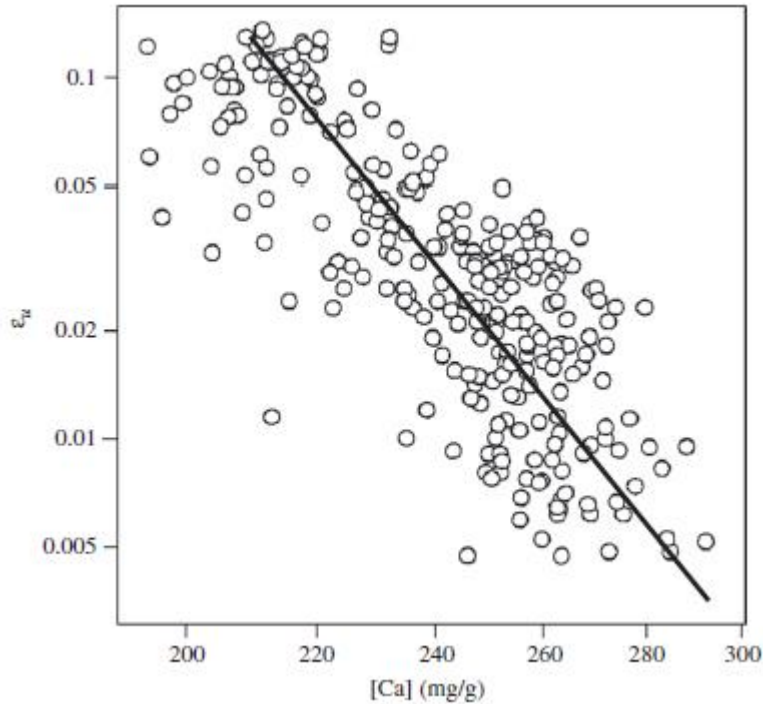


Figura 3.7. Relación entre la deformación última a tracción y la concentración de calcio (masa de calcio por masa seca). Adaptado de[33].

3.4.2 Proceso de mineralización

En el Capítulo 2 del presente documento se dieron algunas nociones sobre el proceso de mineralización, una de las últimas etapas del complejo proceso de remodelación ósea. Sin embargo, en este apartado trataremos de explicar con más detalle en qué consiste la mineralización y qué ecuaciones hemos empleado en nuestro modelo para simular tal proceso, ayudándonos para ello de lo propuesto por Martínez-Reina et al. [1].

El osteoide nuevo depositado por los osteoblastos está compuesto de colágeno y agua. Parte de esta agua será posteriormente reemplazada por cristales de hidroxapatita durante el proceso de mineralización. Dicho proceso consta de tres fases: una fase inicial, llamada tiempo de retraso de la mineralización, que tarda entre 6 y 22 días en la que no ocurre deposición de mineral; una fase primaria, muy rápida (tarda pocos días en alcanzar el 70% del contenido máximo de mineral [34]); y una fase secundaria, en la que el mineral se va añadiendo a una velocidad exponencial decreciente, conforme el tejido se va saturando de mineral [20]. Existe un límite en el contenido de mineral que vendrá determinado por el volumen de agua presente en el osteoide inicialmente. La fase secundaria se define como el período entre el final de la fase primaria y el instante en el que se alcanza el 95% del contenido teóricamente máximo de mineral [34]. Desde este punto de vista, en un determinado volumen de hueso V_b , el volumen ocupado por la fase orgánica, V_o , permanece constante después de su formación, mientras que el volumen de agua, V_w , se convierte en volumen de mineral, V_m , durante la mineralización ($\Delta V_m = -\Delta V_w$).

Si definimos los volúmenes específicos $v_o = V_o / V_b$, $v_m = V_m / V_b$ y $v_w = V_w / V_b$, entonces se cumple que $v_o + v_w + v_m = 1$, siendo v_o un valor constante, en torno a 3/7 [25]. De esta forma, la ecuación (1.71) puede expresarse en función de los volúmenes específicos, simplemente dividiendo por V_b :

$$\alpha = \frac{\rho_m v_m}{\rho_m v_m + \rho_o v_o} \quad (1.80)$$

Dado que el agua es reemplazada por mineral durante el proceso de mineralización, v_m aumenta a corde con la siguiente ley propuesta por Martínez-Reina et al. [1], en la cual se distinguen el tiempo de retraso de la

mineralización; la fase primaria, con un aumento linear y la fase secundaria, que sigue un comportamiento exponencial decreciente:

$$v_m(t) = \begin{cases} 0 & \text{si } t \leq t_{mlt} \\ v_{prim} \frac{t - t_{mlt}}{t_{prim}} & \text{si } t_{mlt} < t \leq t_{prim} + t_{mlt} \\ v_{max} - (v_{max} - v_{prim}) e^{-\kappa(t - t_{prim} - t_{mlt})} & \text{si } t_{prim} + t_{mlt} < t \end{cases} \quad (1.81)$$

Donde κ es un parámetro que mide la velocidad de deposición del mineral en la fase secundaria; t_{mlt} y t_{prim} representan la duración del tiempo de retraso de la mineralización y de la fase primaria respectivamente; $v_{prim} = 0.121$ es el volumen específico de mineral al final de la fase primaria, correspondiente a $\alpha = 0.45$ [34]; $v_{max} = 0.442$ es el volumen específico de mineral correspondiente al contenido máximo de calcio, 300 mg/g [33].

El mineral es eliminado del hueso mediante reabsorción, proceso mediante el cual el calcio es liberado de nuevo al flujo sanguíneo y enviado a cualquier parte del cuerpo donde sea necesario. La cantidad de mineral recuperado depende de la fracción de ceniza del tejido que está siendo reabsorbido, o lo que es lo mismo, de su volumen específico de mineral, del cual es proporcional la fracción de ceniza. El volumen específico de mineral en el instante de tiempo $t + \Delta t$ viene dado por la siguiente expresión:

$$v_m(t + \Delta t) = \frac{v_m(t)V_b(t) - v_m(t)\Delta V_r(t) + \Delta V_{min}(t + \Delta t)}{V_b(t + \Delta t)} \quad (1.82)$$

El primer término es el volumen de mineral presente en el instante de tiempo t . El segundo término nos da el volumen de mineral eliminado de la matriz ósea por reabsorción, siendo $\Delta V_r(t)$ el volumen de tejido eliminado entre t y $t + \Delta t$. El tercer término representa el incremento del volumen de mineral debido a la mineralización, expresado según:

$$\Delta V_{min}(t + \Delta t) = \int_0^\infty \bar{V}_f(t, \tau) \frac{dv_m(\tau)}{d\tau} d\tau = \int_0^{t_R} \bar{V}_f(t, \tau) \frac{dv_m(\tau)}{d\tau} d\tau \quad (1.83)$$

Donde $\bar{V}_f(t, \tau)$ es el volumen de tejido formado hace τ días y que todavía está presente en el instante de tiempo t . El tejido se mineraliza a una velocidad variable que puede evaluarse según la ecuación (1.81). La integral debe incluir la mineralización de todo el tejido previamente formado. Sin embargo, como el hueso sufre remodelación continuamente, el tejido formado hace tiempo puede haber sido ya reabsorbido ($\bar{V}_f(t, \tau) \rightarrow 0$ conforme $\tau \rightarrow \infty$), ese tejido ya no será mineralizado y no permanecerá en el integrando. Por lo tanto, los límites de integración pueden reducirse a los últimos t_R días, tiempo de residencia del tejido en la matriz ósea.

Analizando la ecuación (1.82) podemos comprobar un hecho evidente: cuanto mayor sea la cantidad de tejido reabsorbido diariamente, menor será la fracción de ceniza. Es decir, un hueso con una intensa actividad de remodelación tiene menor contenido de mineral que un hueso más *estático*, pues el tejido no tendrá tiempo de mineralizarse antes de ser reabsorbido.

Para simular el cambio diario de cada variable del modelo se aplica el algoritmo de remodelación, aproximando la integral por una suma con un incremento diario.

$$\Delta V_{min}(t + \Delta t) \approx \sum_{i=0}^{t_R} \bar{V}_f(t, i) [v_m(i) - v_m(i-1)] \quad (1.84)$$

Con el objetivo de estimar el valor de $\bar{V}_f(t, i)$ se asume que el volumen de tejido formado en los días previos se ha distribuido uniformemente en el volumen de hueso. De esta forma, el volumen reabsorbido de un

determinado $\bar{V}_f(t, i)$ es proporcional a $\bar{V}_f(t, i) / V_b(t)$, y, por supuesto, al volumen reabsorbido, $\Delta V_r(t)$. Por lo tanto:

$$\bar{V}_f(t+1, i+1) = \bar{V}_f(t, i) - \Delta V_r(t) \frac{\bar{V}_f(t, i)}{V_b(t)} \quad (1.85)$$

El algoritmo empleado para calcular $\bar{V}_f(t+1, i+1)$ se muestra de forma esquematizada en la Figura 3.8.

El tiempo de residencia, t_R , es variable y depende, en este modelo propuesto por Martínez-Reina et al. [1], tanto de ΔV_r como de ΔV_f , que deben ser iguales en el estado de equilibrio de la remodelación. Para reducir el coste computacional, la cola de la Figura 3.8 se trunca en el día $i = t_c$ ($t_c < t_R$). Se asume que el volumen de tejido formado al cabo de t_c días mineraliza instantáneamente llegando al contenido de mineral máximo. Esto es una aproximación, pero si t_c es lo suficientemente grande, la cantidad de tejido implicada es tan pequeña que el efecto de esta aproximación es despreciable.

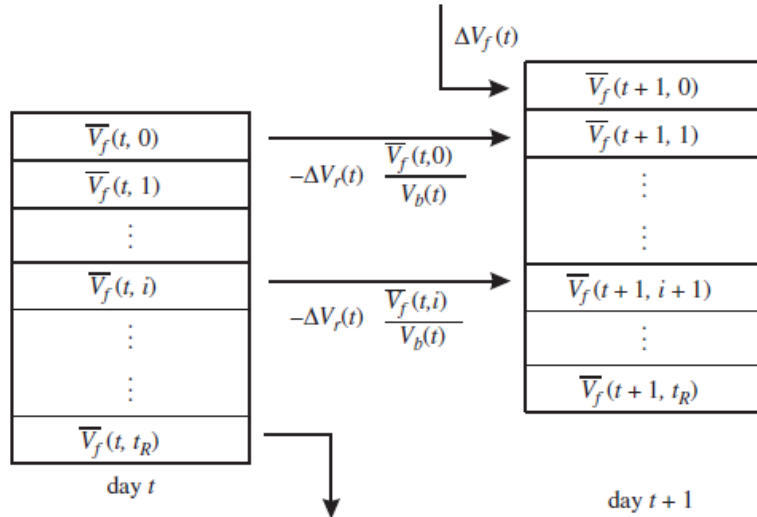


Figura 3.8. Algoritmo empleado para calcular $\bar{V}_f(t+1, i+1)$. Se usa una cola (FIFO) con la ley de recurrencia expresada en la ecuación (1.85). Tomado de [1].

El proceso de mineralización descrito en este apartado se ha implementado en el modelo con la ayuda de las funciones *mineral.m* y *calmineral.m* desarrolladas en MATLAB, las cuales se encuentran en el Anexo C.

3.5 Papel de los osteocitos en la remodelación ósea

Los osteocitos, como bien describimos en el Capítulo 2 de este documento, son células terminales diferenciadas de los osteoblastos. Conforme los osteoblastos maduran, alrededor del 20% quedan rodeados por la matriz extracelular que ellos mismos han secretado. Dicha matriz se denomina osteoide y está compuesta principalmente por colágeno tipo I junto con menores cantidades de otras proteínas. Las células que residen en el osteoide se denominan osteocitos-osteoides o pre-osteocitos. Conforme siguen madurando las células, los osteocitos se mineralizan mediante un proceso estrechamente controlado, quedando completamente embebidos dentro de la matriz ósea mineralizada [35]. El proceso de embebido da lugar a un sinticio de osteocitos, altamente interconectados con sus vecinos dentro de la matriz ósea y a la película superior de osteoblastos (ya diferenciados en células de borde), a través de dendritas que se desarrollan en las células durante la transición de osteoblasto a osteocito [7]. Todo esto ocurre a lo largo de unos canales denominados canalículos dentro de la matriz ósea que permiten el paso de nutrientes y oxígeno desde los vasos sanguíneos

hasta los osteocitos, así como de moléculas de señalización desde una célula a otra. Gracias a ello, las células enterradas profundamente en la matriz ósea pueden comunicarse con las células de la superficie sin estar en contacto físico.

La localización de los osteocitos dentro de la matriz les da la habilidad de sentir esfuerzos localizados en el hueso y responder en consecuencia. Los osteocitos participan regulando la formación de hueso, en particular a través de la secreción de esclerostina (SOST), un inhibidor de la ruta de señalización Wnt, compuesta por proteínas implicadas en el crecimiento, diferenciación y apoptosis celular que ayudan a la formación de hueso. Asimismo, los osteocitos ayudan a mineralizar la matriz blanda sintetizada por los osteoblastos, regulando así el grado de mineralización del hueso[7].

La idea de que los osteocitos pueden influenciar en la remodelación ósea ha sido conocida durante muchos años, sin embargo, este concepto se ha demostrado claramente en pruebas recientes [36], las cuales muestran que los osteocitos pueden controlar directamente la diferenciación y la actividad tanto de los osteoclastos como de los osteoblastos.

En los siguientes subapartados se desarrolla con más detalle el papel que juegan los osteocitos sobre cada una de las células efectoras (osteoclastos y osteoblastos), así como las nuevas ecuaciones incluidas en el modelo para tener en cuenta dicha influencia.

3.5.1 Influencia de los osteocitos en la formación ósea

Existen pruebas evidentes que indican que los osteocitos regulan negativamente la diferenciación de osteoblastos y, por tanto, la formación de hueso, y que la densidad de osteocitos está relacionada negativamente con la formación de hueso[7], [37], [35], [38]. Además, hay estudios que demuestran que la apoptosis de osteocitos o la interrupción de la red de osteocitos también disminuye la formación de hueso [36].

Tras el análisis de todos los estudios anteriores queda claro que la ruta de señalización que regula la diferenciación y función de los osteoblastos está dominada por la SOST, la cual es activada mediante la carga mecánica. La SOST es una glucoproteína, secretada específicamente por los osteocitos, que inhibe la diferenciación y función de los osteoblastos mediante la anulación de la ruta de señalización Wnt. Con lo cual, la formación de hueso es mayor en individuos con una cantidad menor de SOST.

La producción de SOST por parte de los osteocitos está regulada tanto por fuerzas mecánicas como por la PTH (hormona paratiroidea). De hecho, la eliminación específica del receptor de PTH por parte de los osteocitos aumenta la producción de SOST y perjudica la diferenciación de osteoblastos, mientras que la producción específica de un receptor activador de PTH en los osteocitos regula negativamente la producción de SOST. Con lo cual, la SOST es el principal regulador negativo de la diferenciación de osteoblastos producido por los osteocitos.

Como bien exponen Prideaux et al.[35], una de las rutas de señalización más importantes en la formación ósea es la ruta de señalización Wnt/ β -catenina. Esta ruta regula la diferenciación de los osteoblastos a partir de sus precursores. Los osteoblastos y los osteocitos producen inhibidores de la ruta Wnt, entre los que se encuentra la SOST, como ya dijimos anteriormente. Aunque probablemente se trate de un proceso más complejo, la inhibición de la señal Wnt por parte de la SOST impide la diferenciación de osteoblastos así como la mineralización de los osteocitos.

Prideaux et al. [35] sostienen que el incremento en la masa ósea debido a cargas mecánicas depende también de la ruta de señalización Wnt/ β -catenina. La liberación de prostaglandinas por parte del hueso cargado mecánicamente provoca la activación de la señal β -catenina durante una hora y rápidamente disminuye los inhibidores de Wnt.

Por otra parte, la presencia de PTH aumenta tanto la formación de hueso como la reabsorción, pues según el modo y la longitud del tratamiento que se aplique puede dar lugar a una ganancia o a una pérdida neta de hueso.

3.5.2 Influencia de los osteocitos en la reabsorción ósea

Según la teoría concluida por Capulli et al.[36], la formación y actuación de los osteoclastos es un evento muy delicado en la homeostasis del hueso, por lo que debe estar estrictamente regulado para evitar la erosión

excesiva del mismo. Se ha demostrado que la apoptosis de osteocitos regula la formación de osteoclastos. Esto ocurre bajo condiciones específicas, principalmente tras la menopausia o bajo condiciones patológicas como microfracturas, estando cuidadosamente relacionado con el incremento de la reabsorción ósea.

Tatsumi et al. [39] demostraron que la apoptosis de osteocitos es paralela al incremento de la producción de RANKL en el hueso, mejorando así la formación y actuación de los osteoclastos. Como bien sabemos, la unión del RANKL a su receptor RANK localizado en la superficie de los osteoclastos precursores da lugar a la diferenciación de éstos en osteoclastos activos capaces de reabsorber hueso. Aunque el RANKL es producido por muchos tipos de células diferentes y durante todas las etapas de la diferenciación de los osteoblastos, estudios recientes han demostrado que es el RANKL procedente de los osteocitos el que tiene un papel esencial en la remodelación ósea. De igual forma se ha demostrado que los osteocitos son los mediadores principales de la reabsorción ósea inducida por la PTH.

El RANKL se puede encontrar en forma libre o bien ligado a una membrana celular, siendo el RANKL unido a la membrana de los osteocitos el principal responsable de la diferenciación y función de los osteoclastos. Esto sugiere que son los osteocitos cercanos a la superficie ósea, y por tanto a los osteoclastos, los que regulan la reabsorción del hueso durante la remodelación.

Además de RANKL, los osteocitos también producen osteoprotegerina (OPG), la cual actúa como receptor atrayendo RANKL. Por tanto, la proporción de producción de RANKL-OPG es un índice clave en la reabsorción ósea. La OPG también controla la localización subcelular de RANKL dentro del osteocito. Es interesante comentar que un tratamiento con esclerostina aumenta el ratio RANKL-OPG provocando una mejora en la reabsorción ósea. El desuso mecánico de los huesos provoca un aumento de la esclerostina, que conlleva un aumento del índice RANKL-OPG. Esto sugiere que la esclerostina tiene la capacidad de regular la masa del hueso, no sólo inhibiendo su formación, sino también aumentando la reabsorción.

Teniendo en cuenta todo lo anterior, queda en evidencia que la concentración de RANKL en el hueso vendrá dada, entre otros factores, por la población de osteocitos. Con el objeto de incluir este detalle en nuestro modelo, consideramos que la producción externa de RANKL es aquella que proviene de los osteocitos y que estará influenciada por el daño y por el desuso. Como acabamos de ver, el daño y el desuso provocan la muerte celular de los osteocitos, debido a la interrupción o a la falta de movilidad del flujo de nutrientes que circulan por el sistema lacuno-canalicular. Al producirse la apoptosis de osteocitos, estos segregan RANKL con el fin de favorecer la osteoclastogénesis. Además, los osteocitos también segregan RANKL incluso sin sufrir apoptosis, simplemente por estar sometidos a situaciones de desuso o a un daño elevado. De esta forma, la concentración de RANKL dependerá ahora de la población de osteocitos presente en el modelo y la ecuación (1.53) se reescribe de la siguiente forma:

$$RANKL = \frac{RANKL_{eff}}{1 + K_{A1,RANKL} \cdot OPG + K_{A2,RANKL} \cdot RANK} \left(\frac{\beta_{RANKL} + (P_{RANKL}^{W_{bm}} + P_{RANKL}^{dam}) N_{OCy}^{RANKL} \cdot OCy}{\beta_{RANKL} + \tilde{D}_{RANKL} \cdot RANKL_{eff}} \right) \quad (1.86)$$

Donde OCy es la concentración de osteocitos medida en número de células por mm^3 y N_{OCy}^{RANKL} es un factor que determina el número máximo de OCy que segregan RANKL debido al daño y/o al desuso.

Dado que la concentración de RANKL influye en la diferenciación de osteoclastos no comprometidos en osteoclastos precursores y de osteoclastos precursores en osteoclastos activos, con esta modificación que incluye el efecto de los osteocitos en el RANKL se verán cambios en las poblaciones de OC_p y OC_a dando lugar a la modificación de todas las poblaciones celulares implicadas en el modelo que se relacionan a través de las ecuaciones (1.46)-(1.49) y (1.65).

3.5.3 Formación y apoptosis de osteocitos

Los osteocitos se forman cuando un osteoblasto maduro queda enterrado dentro de la matriz ósea, sin embargo, hasta ahora no hemos determinado qué cantidad de osteoblastos quedarán atrapados, ni de qué depende que esto suceda. En este subapartado trataremos de aclarar este asunto sirviéndonos de la teoría expuesta por Buenzli [7].

En el hueso cortical, la renovación de la matriz ósea es llevada a cabo por grupos de células reabsorbedoras y

formadoras de hueso, dichos grupos de células se denominan BMUs (basic multicellular units). Este proceso de renovación genera unos elementos estructurales cilíndricos de tejido óseo llamados osteonas. La distribución de los osteocitos dentro de la osteona nos muestra cómo de organizado y óptimo es el proceso de formación del hueso. Estudios realizados por Hannah et al. [40] han determinado que la densidad de los osteocitos dentro de la osteona depende del radio de la misma, $OCy_{\infty}(R)$ (véase la Figura 3.9).

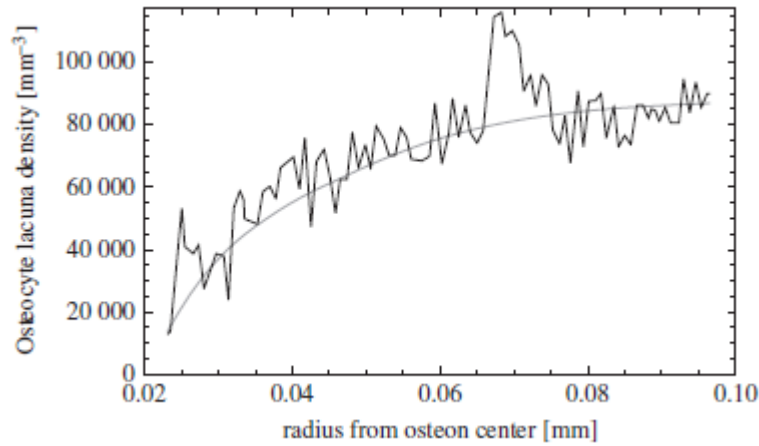


Figura 3.9. Dependencia radial de la densidad de osteocitos $OCy_{\infty}(R)$ en una osteona. En negro: datos tomados de [40]. En gris: curva de interpolación. Tomado de [7].

Según Buenzli [7], la velocidad de enterramiento de osteoblastos, D_{burial} , es función del radio de la cavidad que se va cerrando por acción de la BMU y puede estimarse como una combinación de la densidad de osteocitos, $OCy_{\infty}(R)$, y de la velocidad de sintetización de matriz por parte de los osteoblastos, k_{form} , de la siguiente forma:

$$D_{burial}(R) = OCy_{\infty}(R)k_{form}(R) \quad (1.87)$$

La velocidad de enterramiento de osteoblastos promedio decrece conforme el radio de la cavidad disminuye, es decir, cuando más rellena está la cavidad, menos osteocitos se forman, debido a que k_{form} va disminuyendo conforme se rellena la cavidad. Esta observación no explica explícitamente qué proceso biológico dirige esta disminución progresiva de la velocidad de enterramiento, pero muestra que las diferencias en D_{burial} pueden ser muy amplias y pueden provocar diferencias en la velocidad de secreción de matriz determinando la densidad de osteocitos.

Buenzli [7] considera la velocidad de enterramiento, D_{burial} , como una medida general de la probabilidad por unidad de tiempo de que un osteoblasto cualquiera sea enterrado por la matriz ósea. Pazzaglia et al. [41] estimaron que aproximadamente uno de 67 osteoblastos sufre una transición osteoblasto-a-osteocito durante el curso de la deposición de una capa de matriz con el espesor de una laguna osteocítica. Esta fracción de osteoblastos que se quedan enterrados está incluida implícitamente en la definición de D_{burial} .

Sea w_{OCy} el espesor de una laguna osteocítica en la dirección de propagación de la superficie ósea, y $v_{OBa}^{OCy} = \rho_{OCy} / \rho_{OBa} \approx 1/67$, donde ρ_{OCy} es la densidad superficial de lagunas osteocíticas abiertas que se pueden ver en la superficie ósea. Teniendo que $OCy_{\infty} = \rho_{OCy} / w_{OCy} = v_{OBa}^{OCy} \rho_{OBa} / w_{OCy}$ y sabiendo que la velocidad de crecimiento de la superficie ósea es directamente proporcional al producto de k_{form} y ρ_{OBa} llegamos a que $k_{form} \approx w_{OCy} / (\rho_{OBa} T_{OCy})$, donde T_{OCy} es el tiempo requerido para depositar una capa de espesor w_{OCy} . Sustituyendo esto en la ecuación (1.87) llegamos a:

$$D_{burial} = OCy_{\infty} k_{form} = v_{OBa}^{OCy} \frac{1}{T_{OCy}} \quad (1.88)$$

El factor $1/T_{OCy}$ corresponde a la probabilidad de enterramiento por unidad de tiempo de un osteoblasto destinado a ser enterrado. Por definición, la población de estos osteoblastos tiene probabilidad uno de ser enterrada dentro de la capa de espesor w_{OCy} depositada durante T_{OCy} .

Teniendo en cuenta todo lo anterior, para realizar el modelo objeto de este trabajo se ha tenido en cuenta un valor de T_{OCy} igual a 1, considerando que se trata de un valor razonable según las definiciones anteriores. De esta forma, la velocidad de enterramiento de osteoblastos se considera constante, $D_{burial} = 1/67$.

En el modelo anterior al aquí propuesto (Pivonka 2013), solo se tenía en cuenta la muerte de osteoblastos, pero no su diferenciación en osteocitos. Por ello, en este nuevo modelo debemos repartir el antiguo término de apoptosis de osteoblastos, A_{OBa} , entre apoptosis de OB_a y diferenciación en osteocitos, es decir, que el nuevo valor de A_{OBa} será ahora:

$$A_{OBa}^{nuevo} = A_{OBa} - D_{burial} \quad (1.89)$$

Esto da lugar a un cambio en la ecuación (1.47) que ahora quedará de la siguiente forma:

$$\frac{dOB_a}{dt} = g_{OB_p}(S_v) \cdot D_{OB_p} \cdot OB_p \cdot \Pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta} - A_{OBa}^{nuevo} \cdot OB_a - D_{burial} \cdot OB_a \quad (1.90)$$

Como podemos observar, en esta nueva ecuación se ha incluido un término que provoca una disminución de la población de OB_a , es el término de enterramiento de osteoblastos, o lo que es lo mismo, de diferenciación de OB_a en osteocitos.

El objetivo principal de este trabajo es incluir la población de osteocitos como otra variable de estado más dentro del modelo propuesto por Pivonka et al. [5]. Ya sabemos que dicha población estará dominada positivamente por el enterramiento de osteoblastos, pero nos falta analizar la apoptosis de osteocitos. A lo largo de este documento hemos descrito en varias ocasiones cómo el daño y la falta de estímulo mecánico (desuso) provocan la muerte celular de osteocitos. Por ello, se propone crear un término de apoptosis de osteocitos que sea proporcional al daño y al desuso que sufre el tejido óseo. Con todo, la ecuación diferencial final que expresa la evolución de la población de osteocitos a lo largo del tiempo dentro de nuestro modelo de remodelación ósea queda de la siguiente forma:

$$\frac{dOCy}{dt} = D_{burial} \cdot OB_a - A_{OCy} \cdot (P_{RANKL}^{vbm} + P_{RANKL}^{dam}) \cdot OCy \quad (1.91)$$

Todos los parámetros que aparecen en la nueva ecuación son conocidos, pues se han descrito a lo largo de este documento, excepto A_{OCy} , que hace referencia a la velocidad de apoptosis de osteocitos. Podemos apreciar como el daño, P_{RANKL}^{dam} , y el desuso, P_{RANKL}^{vbm} , aparecen en forma de sumandos dentro del término de muerte celular de osteocitos, ya que si el daño fuera nulo, el desuso seguiría afectando a la apoptosis osteocítica y viceversa.

Queda así definido el nuevo modelo de poblaciones celulares con la inclusión del efecto de los osteocitos, el cual puede resumirse a las ecuaciones diferenciales (1.46),(1.90),(1.48),(1.49),(1.91) y (1.65) que vemos a continuación, teniendo en cuenta también todas las ecuaciones que expresan concentraciones de moléculas implicadas en el proceso así como las ecuaciones necesarias para hallar los parámetros empleados en el modelo. A continuación exponemos de manera conjunta las seis ecuaciones que componen el sistema de ecuaciones diferenciales:

$$\frac{dOB_p}{dt} = g_{OB_u}(S_v) \cdot D_{OB_u} \cdot OB_u \cdot \Pi_{act,OB_u}^{TGF-\beta} - g_{OB_p}(S_v) \cdot D_{OB_p} \cdot OB_p \cdot \Pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta} + P_{OB_p} \cdot \Pi_{act,OB_p}^{vbm} \cdot OB_p$$

$$\frac{dOB_a}{dt} = g_{OB_p}(S_v) \cdot D_{OB_p} \cdot OB_p \cdot \Pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta} - A_{OB_a}^{nuevo} \cdot OB_a - D_{burial} \cdot OB_a$$

$$\frac{dOC_p}{dt} = g_{OC_u}(S_v) \cdot D_{OC_u} \cdot OC_u \cdot \Pi_{act,OC_u}^{RANKL} \cdot \Pi_{act,OC_u}^{MCSF} - g_{OC_p}(S_v) \cdot D_{OC_p} \cdot OC_p \cdot \Pi_{act,OC_p}^{RANKL}$$

$$\frac{dOC_a}{dt} = g_{OC_p}(S_v) \cdot D_{OC_p} \cdot OC_p \cdot \Pi_{act,OC_p}^{RANKL} - A_{OC_a} \cdot OC_a \cdot \Pi_{act,OC_a}^{TGF-\beta}$$

$$\frac{dOCy}{dt} = D_{burial} \cdot OB_a - A_{OCy} \cdot (P_{RANKL}^{W_{bm}} + P_{RANKL}^{dam}) \cdot OCy$$

$$\frac{d}{dt} f_{vas} = -\frac{d}{dt} f_{bm} = -k_{form} OB_a + k_{res} OC_a$$

4 RESULTADOS

En este capítulo vamos a analizar la efectividad del nuevo modelo creado a partir del modelo de Pivonka de 2013, con la inclusión de una nueva variable que representa la población celular de osteocitos en el modelo de remodelación ósea. Así mismo, compararemos los resultados obtenidos en el nuevo modelo con los que se obtenían en el modelo anterior, sin el efecto de los osteocitos, a estos resultados los llamaremos caso nominal.

Los valores de los parámetros empleados en el modelo se indican en la siguiente tabla:

Símbolo	Valor	Descripción
D_{OBu}	0.7/día	Velocidad de diferenciación de OBU en OBp
D_{OBp}	0.166/día	Velocidad de diferenciación de OBp en OBA
A_{OBA}	$(0.111-(1/67))/\text{día}$	Velocidad apoptosis OBA
P_{OBp}	0.021/día	Velocidad de proliferación de OBp
D_{OCu}	4.2/día	Velocidad de diferenciación de OCu en OCp
D_{OCp}	2.1/día	Velocidad de diferenciación de OCp en OCa
A_{OCA}	5.65/día	Velocidad apoptosis OCa
D_{burial}	$(1/67)/\text{día}$	Velocidad enterramiento OBA
A_{OCy}	0.001/día	Velocidad apoptosis OCy
$K_{D1,TGF-\beta}$	$5.63e-4*0.01 \text{ pM}$	Constante de disociación de la unión TGF- β y OBU.
$K_{D2,TGF-\beta}$	$1.75e-4*0.01 \text{ pM}$	Constante de disociación de la unión TGF- β y OBp.
$K_{D3,TGF-\beta}$	$5.63e-4*0.01 \text{ pM}$	Constante de disociación de la unión TGF- β y OCa.
$K_{D4,PTH}$	150 pM	Constante de activación de la unión PTH y OB.
$K_{D6,PTH}$	0.222 pM	Constante de represión de la unión PTH y OB.
$K_{D8,RANKL}$	5.68 pM	Constante de disociación de la unión de RANKL con OCu y OCp.
$K_{A1,RANKL}$	0.001/pM	Constante de asociación entre RANKL y OPG.

$K_{A2,RANKL}$	0.034/pM	Constante de asociación entre RANKL y RANK.
$\Pi_{act,OCu}^{mcsf}$	0.5	Función de activación de MCSF para la diferenciación de OCu a OCp.
N_{OCy}^{RANKL}	1000	Número máximo de OCy que segregan RANKL debido al daño y/o desuso.
N_{OCp}^{RANK}	1e4	Número de receptores de RANK por OCp.
β_{RANKL}	1.68e2 pM/día	Velocidad de producción de RANKL.
R_1^{RANKL}	2.7e6	Máximo número de RANKL por OBp.
\tilde{D}_{RANKL}	10/día	Velocidad de degradación del RANKL
\tilde{D}_{OPG}	0.35/día	Velocidad de degradación del OPG.
$\beta_{2,OPG}$	1.62e8/día	Velocidad de producción de OPG por OBa.
OPG_{max}	2e8 pM	Densidad de OPG a la que se detiene la producción endógena.
$P_{OPG,d}$	0	OPG administrado externamente.
\tilde{D}_{PTH}	86/día	Velocidad de degradación del PTH.
β_{PTH}	250250 pM/día	Velocidad de producción de PTH sistémico.
$P_{PTH,d}$	0	PTH administrado externamente.
α	0.01 pM	Concentración de TGF- β en la matriz ósea.
$P_{TGF-\beta,d}$	0	TGF- β administrado externamente.
$\tilde{D}_{TGF-\beta}$	2/día	Velocidad de degradación del TGF- β .
k_{res}	5.6366 /pM	Velocidad de reabsorción de matriz ósea.
k_{form}	0.1325/pM	Velocidad de formación de matriz ósea.
$\Psi_{bm}(t_0)$	50 MPa/día	Estímulo en el estado de equilibrio.
m	4	Exponente del número de ciclos.
σ	30 MPa	Carga aplicada

n_c	1000	Número de ciclos diarios.
κ	1e5	Influencia del estímulo mecánico en la emisión de RANKL.
λ	0.1	Influencia del estímulo en la proliferación de OBp.
κ_2	5e4	Influencia del daño en la emisión de RANKL.
t_R	1000 días	Tiempo de residencia del tejido.
XMINMAX	0.72	Fracción de ceniza máxima
DT	22	Tiempo de retraso de la mineralización.
X_κ	0.007	Parámetro que mide la velocidad de mineralización.
OB_u	0.001 pM	Densidad de OBU.
OC_u	0.001 pM	Densidad de OCu.
DeltaT	1/4 días	Tiempo de integración.
OBa_0	0.0083 pM	Valor inicial de la población de OBA.
OBp_0	0.0230 pM	Valor inicial de la población de OBp.
OCa_0	1.9496e-4 pM	Valor inicial de la población de OCa.
OCp_0	0.0089 pM	Valor inicial de la población de OCp.
OCy_0	0.1* OBa_0 pM	Valor inicial de la población de OCy.
d_0	0.0031	Valor inicial del daño.
p_0	0.1244	Valor inicial de la porosidad.
α_0	0.6920	Valor inicial de la fracción de ceniza.

A la hora de ejecutar el programa, hemos partido de unas condiciones iniciales arbitrarias que determinan los valores iniciales de las poblaciones celulares consideradas, así como del daño, la porosidad y la fracción de ceniza. Estos valores vienen indicados en la tabla anterior. Las poblaciones celulares (OBA, OBp, OCa, OCp, OCy), tanto en el caso nominal como en el nuevo modelo, han sido normalizadas respecto a dichos valores iniciales para poder observar su evolución a lo largo de 4 años según su valor de partida.

Como ya vimos en el capítulo anterior, tres parámetros nuevos han sido incluidos para poder modelar el efecto de la población de osteocitos, estos son: la velocidad de enterramiento de osteoblastos, D_{burial} , la velocidad de

apoptosis de osteocitos, A_{OCy} , y N_{OCy}^{RANKL} , que determina el número máximo de osteocitos que segregan RANKL debido al daño y/o al desuso. Considerando un valor constante de $D_{burial} = 1/67$, tal y como se detalló en el subapartado 3.5.4, sólo nos quedaría determinar los valores óptimos de A_{OCy} y N_{OCy}^{RANKL} de forma que las poblaciones celulares resultantes se establezcan dentro del tiempo de simulación.

Para ello, hemos empleado el archivo de MATLAB *osteocitos1.m* (Anexo A) en el cual se incluyen todas las ecuaciones expuestas a lo largo de este documento, necesarias para resolver el sistema de ecuaciones diferenciales compuesto por (1.46),(1.90),(1.48),(1.49),(1.91) y (1.65) el cual podemos ver de forma conjunta al final del capítulo 3.

En nuestro modelo hemos considerado que el hueso objeto de estudio está sometido a una carga uniaxial de tracción constante e igual a 30 MPa y hemos analizado cómo evolucionan las poblaciones de OB_a , OB_p , OC_a , OC_p y OCy (osteocitos), así como el daño, la porosidad y la fracción de ceniza de nuestro sujeto al cabo de cuatro años. Con lo cual, hemos analizado dichas poblaciones para un tiempo de simulación de 1460 días, empleando un intervalo de tiempo entre cada instante de simulación de 1/4 de día.

A continuación detallaremos los resultados obtenidos tras realizar el análisis de sensibilidad de nuestro nuevo modelo frente a variaciones en A_{OCy} y en N_{OCy}^{RANKL} .

4.1 Influencia de A_{OCy}

Para poder determinar los valores óptimos de A_{OCy} en los que el modelo presenta soluciones estables, fue necesario realizar un análisis dimensional de todos los parámetros implicados en el mismo, para así poder determinar qué valores de nuestros nuevos parámetros aportarían algún cambio significativo a las variables del modelo.

Gracias a este análisis se concluyó que los valores óptimos de A_{OCy} estarían dentro del orden de 10^{-3} y los valores óptimos de N_{OCy}^{RANKL} en el orden de 10^4 . Teniendo esto en cuenta, a la hora de analizar la sensibilidad del modelo ante el parámetro A_{OCy} se decidió dejar un valor constante de $N_{OCy}^{RANKL} = 10^4$. Sin embargo, tras realizar multitud de simulaciones, todas ellas daban resultados claramente inestables, por ello se ha terminado empleando un valor de $N_{OCy}^{RANKL} = 10^3$ para poder analizar la influencia de A_{OCy} y obtener soluciones estables.

De esta forma, para un valor constante de $N_{OCy}^{RANKL} = 10^3$, las poblaciones celulares evolucionan de manera estable dentro de un rango de valores de A_{OCy} comprendido dentro de $[5 \cdot 10^{-4}; 2 \cdot 10^{-2}]$. Para valores superiores a este rango, las soluciones son extremadamente inestables y para valores por debajo de este rango el daño alcanza la unidad, es decir, se llega a una situación de rotura local. Esto se debe a que la apoptosis de osteocitos sería tan baja que a penas habría muerte celular de osteocitos, haciendo que dicha población crezca descontroladamente, aumentando así la concentración de RANKL (véase ecuación (1.86)) y favoreciendo la osteoclastogénesis, lo cual puede degenerar en un aumento de la porosidad con el consiguiente aumento de la fragilidad del tejido óseo.

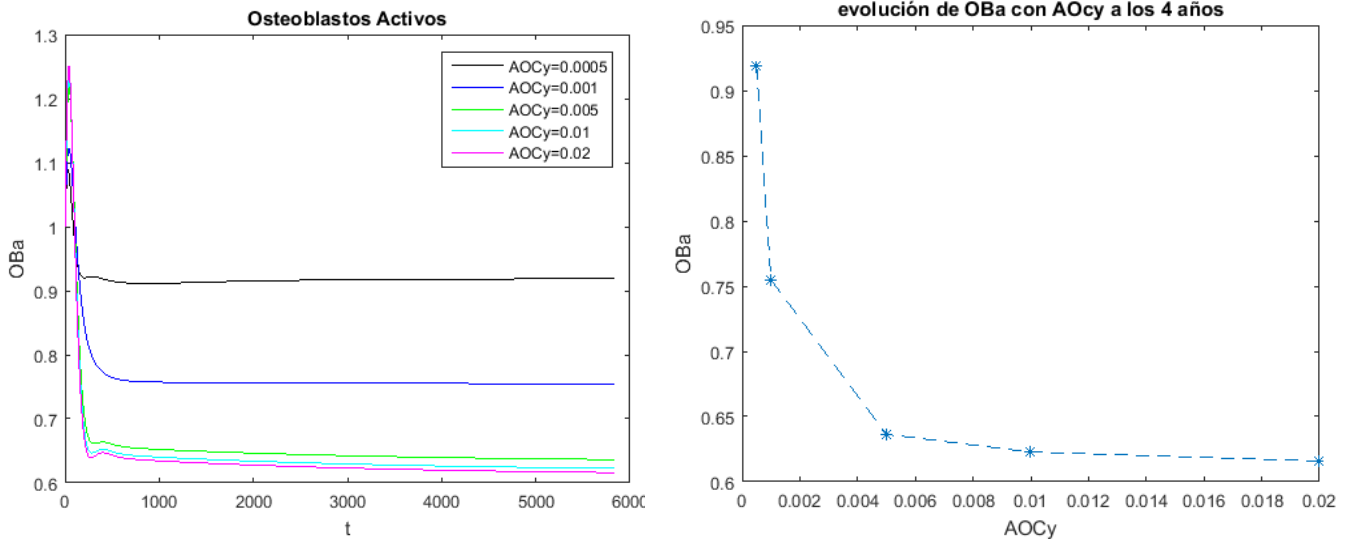
A continuación detallamos la evolución de los ocho parámetros antes mencionados (OB_a , OB_p , OC_a , OC_p , OCy , daño, porosidad y fracción de ceniza) a lo largo de un tiempo de simulación de 4 años para los distintos valores de A_{OCy} empleados dentro del rango de estabilidad del modelo.

4.1.1 OB_a

La población de osteoblastos activos se ve influenciada por las variaciones en A_{OCy} en la medida en que A_{OCy} afecta a la población de OCy , la cual influye en el valor de la concentración de RANKL (como vimos en el subapartado 3.5.3), que a su vez afecta a la población de OCa a través de la función de activación de la

diferenciación de OCp en OCa. Por último, la población de OCa se relaciona con los OBa a través de la función de represión del TGF- β y así se cierra el ciclo de influencia entre el valor de A_{OCy} y la población de OBa.

Veamos a continuación cómo es la evolución de dicha población para distintos valores de A_{OCy} empleados en el modelo a través del programa MATLAB:



Podemos observar claramente que cuanto mayor es el valor de A_{OCy} , menor es la población de OBa, presentando unos resultados más estables para valores de $A_{OCy} = 0.001$ ó $A_{OCy} = 0.005$, en los cuales la derivada de la población de OBa es del orden de -10^{-7} . Es decir, que a pesar de que dicha población tiende a seguir disminuyendo, lo hace tan lentamente que podemos considerarlo despreciable dado que el orden de magnitud de OBa están en torno a 10^{-1} .

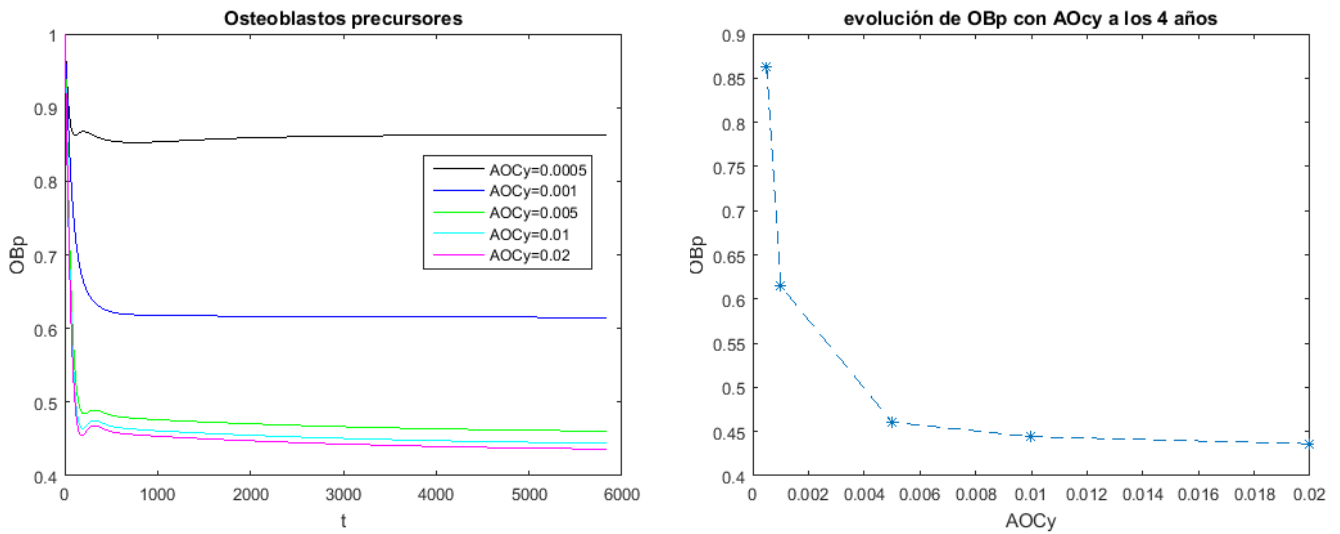
El hecho de que OBa disminuya conforme aumenta A_{OCy} tiene una explicación, pues un mayor valor en la velocidad de apoptosis de osteocitos implica una disminución en la población de osteocitos. Esto conlleva una disminución de la concentración de RANKL (ver ec.(1.86)), que a su vez disminuye la población de OCa, la cual está relacionada como ya hemos visto con OBa a través del TGF- β .

Observando las gráficas, vemos que al movernos en el rango entre $A_{OCy} = 0.005$ y $A_{OCy} = 0.0005$ la sensibilidad del modelo es mucho mayor, pues al pasar de $A_{OCy} = 0.001$ a $A_{OCy} = 0.0005$ la población de OBa aumenta cerca de un 20%, mientras que al variar de $A_{OCy} = 0.01$ a $A_{OCy} = 0.005$ los cambios en OBa son del orden del 1%.

4.1.2 OBp

Los osteoblastos precursores dependen de A_{OCy} , al igual que los OBa, en la medida en que A_{OCy} influencia al TGF- β siguiendo el orden de relaciones que expusimos en el apartado anterior. Sin embargo, el TGF- β aparece en dos términos de la ecuación diferencial de los OBp (véase ecuación (1.46)), por lo que los resultados serán bastante diferentes a los obtenidos en la población de OBa.

A continuación presentamos la evolución de la población de OBp para los diferentes valores de A_{Ocy} :



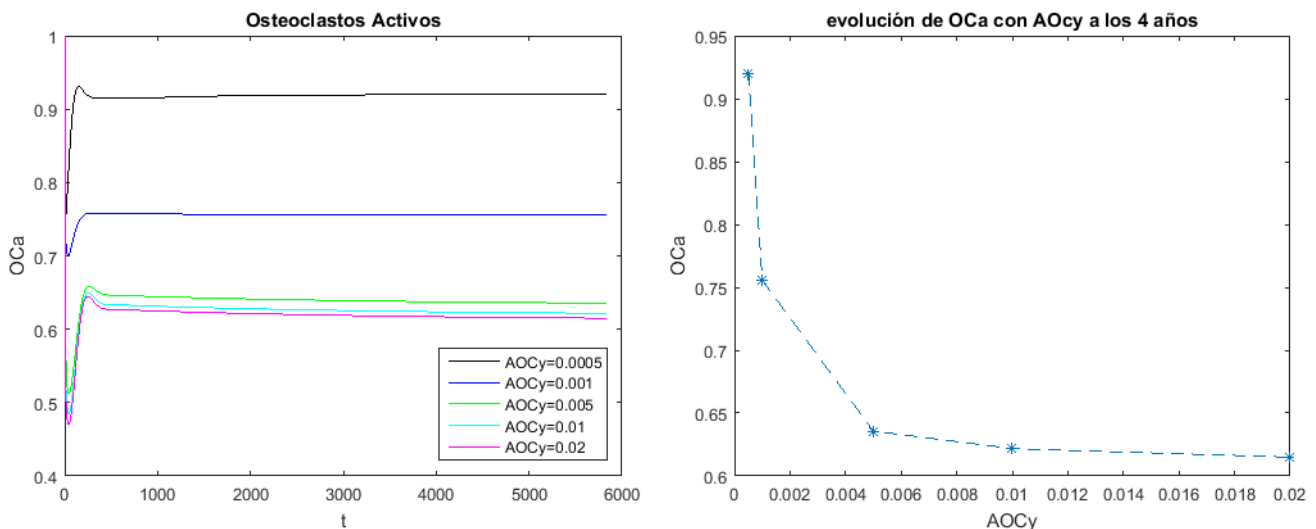
Conforme aumenta la velocidad de apoptosis de osteocitos, disminuye la población de OBp.

Al igual que en el apartado anterior, la sensibilidad del modelo es mucho mayor dentro del rango de valores de $A_{Ocy} \in (0.0005; 0.005)$, pero en este caso, al disminuir A_{Ocy} desde 0.001 hasta 0.0005, la población de OBp se ve incrementada en un 40%, el doble de lo que se incrementaba en la población de OCa. Fuera de este rango, la sensibilidad del modelo provoca cambios de tan solo el 2% en la población de OBp.

4.1.3 OCa

La influencia de los OCy en los OCa puede resultar de más fácil comprensión, ya que están relacionados directamente a través de la ecuación de la concentración de RANKL que aparece en la ecuación diferencial de los OCa en forma de función de activación de Hill.

En las siguientes gráficas vemos cómo es la evolución de la población de OCa para los distintos valores de



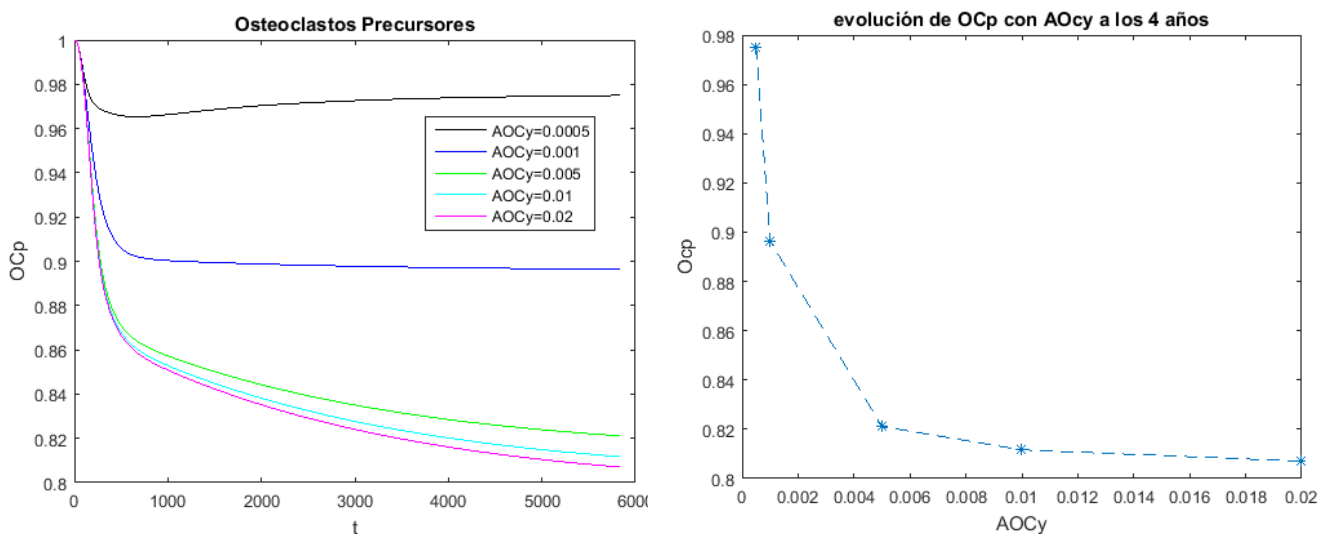
A_{Ocy} empleados:

Al ir aumentando el valor de A_{Ocy} , disminuye la población de OCa, esto es debido a que un aumento en la velocidad de apoptosis osteocítica conlleva una disminución en la población de osteocitos, provocando una disminución en la concentración de RANKL que afectará negativamente a la población de OCa

De nuevo podemos apreciar que la sensibilidad del modelo es mucho mayor para valores de $A_{OCy} \in (0.0005; 0.005)$, pues al pasar de $A_{OCy} = 0.001$ a $A_{OCy} = 0.0005$ la población de OCa se ve incrementada en algo más del 20%. Lo cual no ocurre para valores fuera de este rango de A_{OCy} .

4.1.4 OCp

La relación entre la A_{OCy} y la población de OCp es algo más compleja, ya que la función de activación del RANKL aparece en la ecuación diferencial de OCp tanto sumando como restando (ver ecuación (1.48)), pues forma parte tanto de la diferenciación de OCu en OCp (término que va sumando) como de la diferenciación de OCp en OCa (término que resta). Es por ello que la estabilidad de la población de OCp es más difícil de conseguir y así puede observarse en las siguientes gráficas:

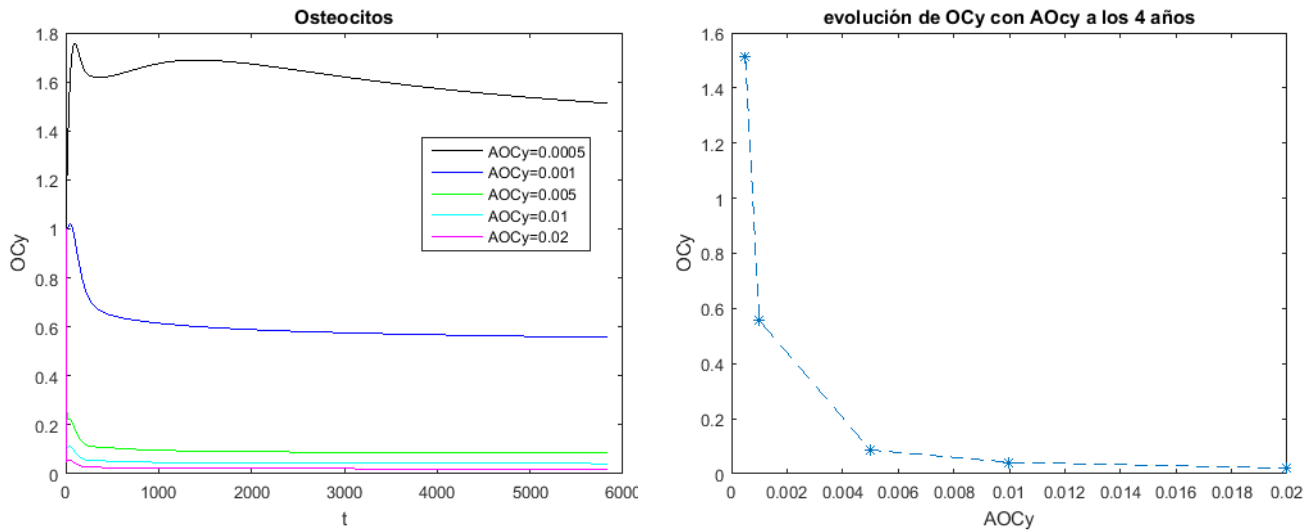


La población de OCp alcanza su máxima estabilidad para $A_{OCy} = 0.001$, en la que presenta una derivada del orden de -10^{-6} , la cual puede considerarse prácticamente nula dado el orden de magnitud en que se mueve OCp. Sin embargo para valores de A_{OCy} mayores, las curvas son cada vez más inestables con derivadas del orden de -10^{-5} que ya no pueden considerarse igual de despreciables que las anteriores. En el caso de A_{OCy} menores de 0.001, la curva de OCp sigue siendo estable, pero por debajo de 0.0005 se obtiene un daño de valor unidad, lo que implica la rotura local del tejido y nos lleva por tanto a desechar estos valores.

De nuevo la sensibilidad del modelo es mayor para $A_{OCy} \in (0.0005; 0.005)$, dentro de este rango, disminuir A_{OCy} a la mitad, implica un aumento de OCp del 10%, mientras que por encima de dicho rango una disminución de A_{OCy} al 50% tan solo provoca un aumento del 1% en OCp.

4.1.5 OCy

La población de OCy se relaciona de forma directa con A_{OCy} , pues, lógicamente, cuanto mayor sea la velocidad de apoptosis de osteocitos, menor será el valor de dicha población. Veamos a continuación cómo es la evolución de OCy con A_{OCy} en las siguientes gráficas:



La máxima estabilidad en la población de osteocitos se alcanza para $A_{OCy} = 0.0005$, pues su derivada es del orden de -10^{-7} , es decir, lo suficientemente pequeña como para considerarse nula. Esta estabilidad se mantiene conforme aumentamos el valor de A_{OCy} , sin embargo, no podemos aumentarlo en exceso porque se llegaría a una población de osteocitos demasiado pequeña, llegando a ser prácticamente cero (ver gráfica de la derecha).

Para valores de A_{OCy} inferiores a 0.005 la estabilidad de la población de osteocitos disminuye, pues las derivadas empiezan a ser del orden de -10^{-5} .

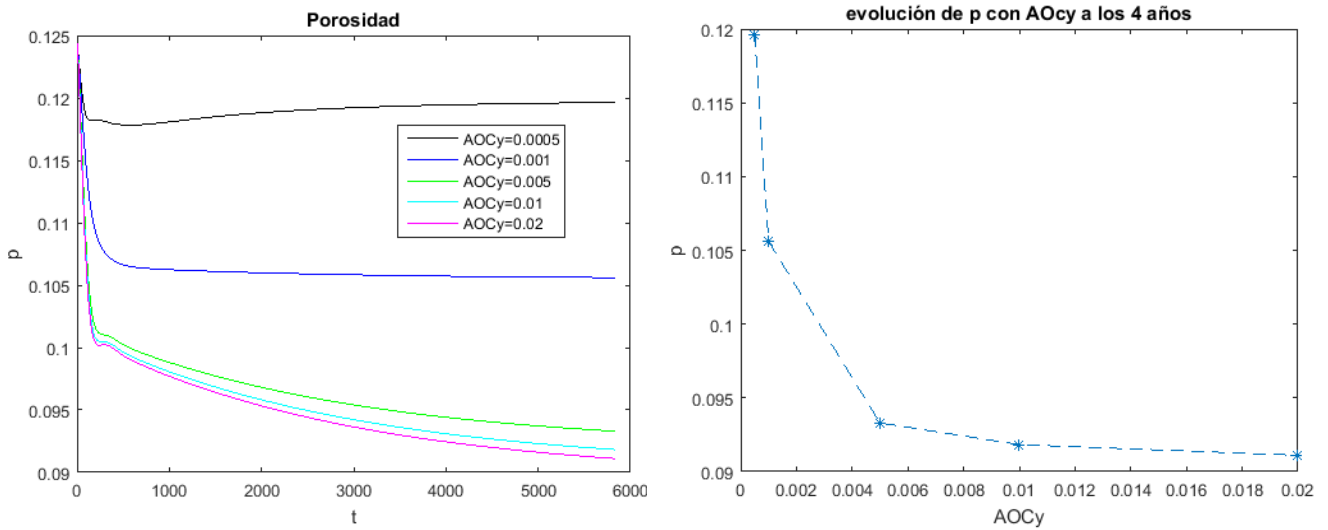
El efecto de A_{OCy} en la población de osteocitos es más significativo para valores de $A_{OCy} \in (0.0005; 0.005)$, dentro de este rango una disminución de A_{OCy} del 50% provoca un aumento de OCy desde 0.1 (valor medido normalizando la población de osteocitos respecto al estado de equilibrio anterior) hasta 0.55. Mientras que esta misma variación de A_{OCy} por encima del rango antes descrito tan solo provoca un aumento de OCy desde 0.05 hasta 0.1. De ahí que los valores de A_{OCy} deban mantenerse dentro de este rango para poder apreciar cambios significativos en las variables del modelo.

4.1.6 Porosidad

La porosidad nos indica qué cantidad de un volumen de hueso determinado está compuesta por poros. De forma que para un valor de porosidad igual a 0, todo el volumen de hueso sería matriz ósea, mientras que para $p = 1$ tendríamos un volumen de hueso hueco. El valor de la porosidad depende de la cantidad de matriz ósea formada por los osteoblastos activos y de la cantidad de matriz ósea reabsorbida por los osteoclastos activos, tal y como se describió en la ecuación (1.65).

La A_{OCy} está relacionada con la porosidad en la medida en que A_{OCy} influye en la población de osteocitos, la población de osteocitos influye en la concentración de RANKL y ésta última influye en las poblaciones de OBA y OCa, que están directamente relacionadas con la porosidad.

En las siguientes gráficas vemos qué valores toma la porosidad para los distintos A_{OCy} considerados:



Como podemos ver, el valor de la porosidad se estabiliza para valores de A_{OCy} en torno a 0.001.

Cuanto menor es el valor de A_{OCy} , mayor es la porosidad. Esto se explica teniendo en cuenta que al disminuir A_{OCy} aumenta la población de OCy, provocando un aumento de la concentración de RANKL, favoreciendo así la osteoclastogénesis y el consiguiente aumento en la reabsorción ósea. Cuanto más hueso sea reabsorbido, menos cantidad de matriz ósea quedará en el mismo y, por tanto, mayor será la porosidad de este. Con lo cual es de esperar que al probar valores de A_{OCy} cada vez menores, la porosidad sea cada vez mayor llegando a un valor de $p = 0.5$ para el caso de $A_{OCy} = 0.0001$.

Igual que ocurría en los apartados anteriores, la sensibilidad del modelo ante cambios en A_{OCy} afecta más notablemente a la porosidad para valores de $A_{OCy} \in (0.0005; 0.005)$, dentro de este rango, una reducción de A_{OCy} del 50% provoca un aumento del 15% en la porosidad. Sin embargo, fuera del rango mencionado el aumento es solo del 4%.

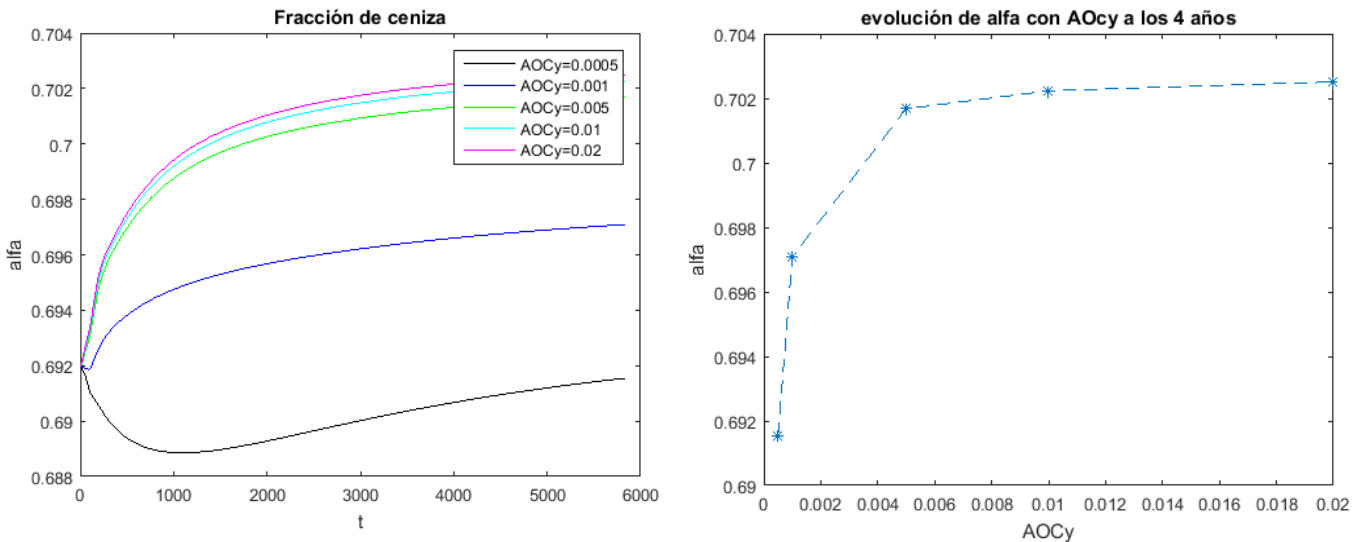
En comparación con las variaciones producidas en las poblaciones celulares descritas en los apartados anteriores, las variaciones en la porosidad provocadas por cambios en A_{OCy} son menores que en dichos casos.

4.1.7 Fracción de ceniza

La fracción de ceniza representa el cociente entre la masa de mineral presente en el tejido óseo y la masa seca (suma de la masa de mineral y la masa orgánica). Conforme se produce la etapa de reabsorción ósea, la fracción de ceniza va disminuyendo, ya que las BMUs actuarán sobre el tejido óseo más antiguo y, por tanto más mineralizado, reabsorbiendo el mineral presente en el mismo.

La fracción de ceniza se relaciona con la A_{OCy} en la medida en que A_{OCy} afecta a la población de OCy, la población de OCy influye en la concentración de RANKL (ver ecuación (1.86)), la cual determina la osteoclastogénesis y según el número de OCa presentes en la BMU la cantidad de mineral reabsorbido de la matriz ósea será mayor o menor.

A continuación observamos la evolución de la fracción de ceniza para distintos valores de A_{OCy} :



Por primera vez vemos que una de las variables del modelo aumenta conforme aumenta la A_{Ocy} . Siguiendo la relación descrita anteriormente, un aumento en A_{Ocy} implica una disminución en la población de OCy, lo cual lleva a una disminución en la concentración de RANKL que por tanto hará que la diferenciación de OCp en OCa sea menor. Al haber un menor número de OCa, la cantidad de mineral reabsorbido será menor, y por tanto, quedará más cantidad de mineral en el hueso haciendo que la fracción de ceniza sea mayor.

No ha sido posible obtener valores estables de la fracción de ceniza, pues se ha tratado de encontrar los valores de A_{Ocy} que daban estabilidad a la mayoría de las poblaciones y para conseguir que ocurriera esto con la fracción de ceniza se perjudicaba la estabilidad de las demás poblaciones. Sin embargo, la tendencia de la fracción de ceniza para los valores más altos de A_{Ocy} está en torno a 0.702, no llegando a superar nunca este valor por muy elevado que fuera A_{Ocy} . Lo que nos lleva a concluir que la fracción de ceniza presenta un máximo en 0.702.

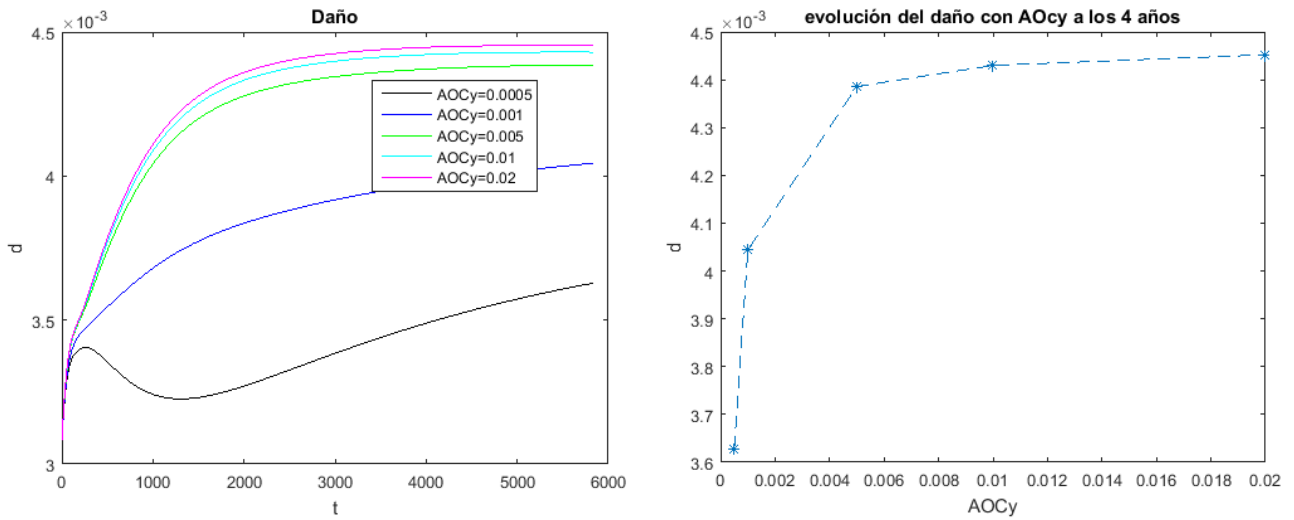
La sensibilidad del modelo es mayor para valores de $A_{Ocy} \in (0.0005; 0.005)$, al aumentar el valor de A_{Ocy} desde 0.0005 hasta 0.001, la fracción de ceniza se incrementa en un 0.8%, mientras que al aumentarlo por encima de este rango, desde 0.005 hasta 0.01 la fracción de ceniza se incrementa en tan solo un 0.05%. En comparación con las variaciones obtenidas en las poblaciones anteriores, estas variaciones son mucho menores, esto se debe a que la fracción de ceniza no sufre cambios tan significativos como los del resto de poblaciones, pues su valor suele estar normalmente alrededor de 0.7.

4.1.8 Daño

El daño es una medida de la cantidad de microgrietas que presenta un volumen de tejido óseo. Si $d = 0$ indica que el tejido está intacto, y si $d = 1$ quiere decir que el tejido ha sufrido una rotura local debido a la gran densidad de microgrietas acumuladas. El daño está íntimamente relacionado con el grado de mineralización del hueso, cuanto mayor sea el grado de mineralización, más frágil es el tejido y más propabilidad habrá de que aparezcan microgrietas.

La relación entre el daño y la A_{Ocy} viene de la influencia de A_{Ocy} en la población de OCy. La población de OCy es uno de los factores que determina la cantidad de RANKL presente en el tejido óseo, el cual determinará a su vez la cantidad de OCp que se diferencian en OCa. Cuanto mayor sea el número de OCa, más cantidad de tejido óseo mineralizado será reabsorbido y menor será la probabilidad de que aparezcan microgrietas en el hueso.

En las siguientes gráficas podemos ver cómo evoluciona el daño para los distintos valores de A_{Ocy} considerados:



Conforme aumenta el valor de A_{OCy} aumenta el daño. Esto se debe a que al aumentar A_{OCy} disminuye la población de OCy, con la consiguiente disminución de la concentración de RANKL. Esto provoca una menor diferenciación de OCp en OCa haciendo que la cantidad de mineral reabsorbido disminuya. Es decir, al aumentar A_{OCy} hay menos reabsorción de mineral, aumenta el grado de mineralización del hueso y aumenta el daño debido al repentino aumento de la fragilidad del tejido óseo con el grado de mineralización.

Podemos comprobar que el daño se mantiene en valores del orden de 10^{-3} , alcanzando un máximo de $4.5 \cdot 10^{-3}$ para el valor de A_{OCy} más alto considerado dentro del rango de estabilidad. Analizando más detalladamente el valor del daño, podemos ver que para $A_{OCy} = 0.0001$ el daño llega a ser 1. Esto puede parecer contradictorio con lo explicado anteriormente. Sin embargo, se puede explicar si tenemos en cuenta que para un valor tan pequeño de A_{OCy} la cantidad de RANKL aumenta notablemente y con ella la diferenciación de OCa que pasarán a reabsorber matriz ósea. De esta forma la porosidad del tejido será cada vez mayor comprometiendo su rigidez y haciendo más propensa la aparición de microgrietas. Es por eso que el daño alcanza el valor 1 para valores de A_{OCy} muy pequeños.

4.2 Influencia de N_{OCy}^{RANKL}

Con el fin de ver la influencia de N_{OCy}^{RANKL} en nuestro nuevo modelo y habiendo realizado el análisis dimensional que ya explicamos en el apartado 4.1, se decide establecer un valor de $A_{OCy} = 0.001$ que se mantendrá constante mientras analizamos la sensibilidad del modelo ante cambios en N_{OCy}^{RANKL} . Como vemos, este valor de A_{OCy} elegido está dentro del rango de estabilidad presentado en el apartado anterior y además se trata de uno de los valores que aporta mayor estabilidad al modelo, de ahí su elección.

El análisis de sensibilidad del modelo ante N_{OCy}^{RANKL} nos lleva a que el rango de valores de N_{OCy}^{RANKL} dentro del cual las variables del modelo evolucionan establemente está restringido al intervalo $[10; 5000]$, intervalo que engloba valores próximos al orden de magnitud que habíamos determinado en el análisis dimensional (10^3).

Para valores inferiores a $N_{OCy}^{RANKL} = 10$ la influencia de este parámetro se hace despreciable, de forma que deja de provocar cambios significativos en el modelo. Por encima de $N_{OCy}^{RANKL} = 5000$ las poblaciones sufren un comportamiento altamente inestable que no podemos considerar válido. Además, al llegar a valores de N_{OCy}^{RANKL} tan elevados, la concentración de RANKL aumenta excesivamente provocando que la población de OCa crezca descontroladamente debido a su diferenciación a partir de los OCp. Esta enorme cantidad de OCa llevará a cabo una reabsorción ósea superior a la esperada, con la consiguiente disminución del volumen de matriz ósea, lo que se traduce en un aumento de la porosidad. Al aumentar la porosidad el hueso pierde rigidez

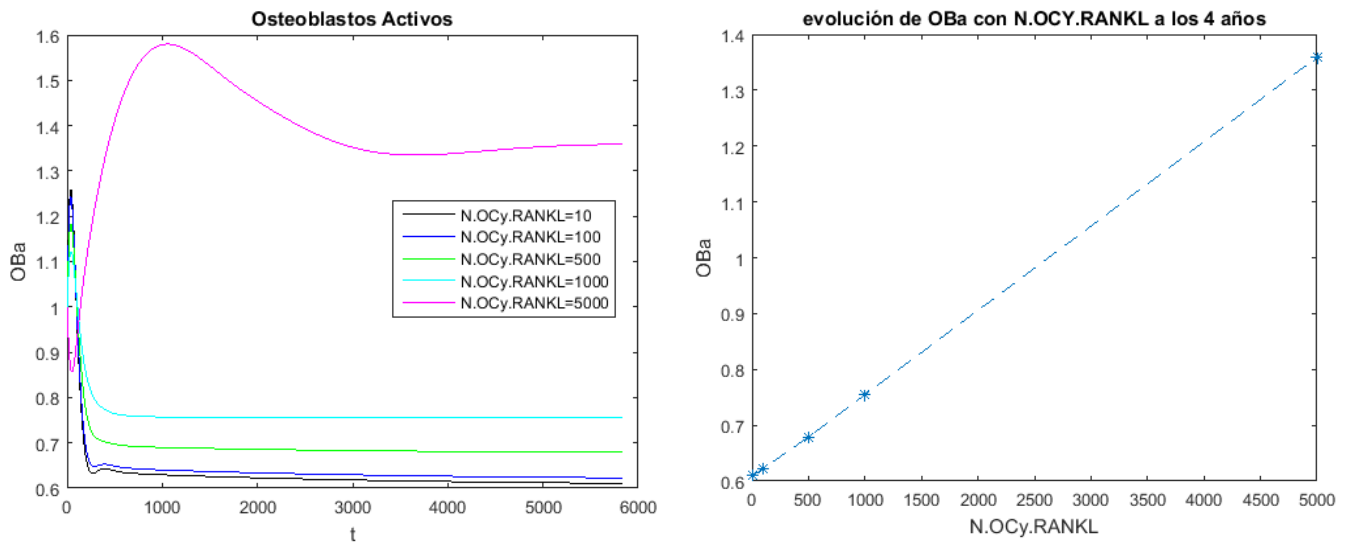
y aparecen microgrietas más fácilmente aumentando el valor del daño que, para valores de N_{OCy}^{RANKL} lo suficientemente altos puede llegar a provocar un $d = 1$ (rotura local).

A continuación vamos a exponer la evolución de los ocho parámetros considerados de importancia en el modelo conforme se varía el valor de N_{OCy}^{RANKL} .

4.2.1 OBa

La población de osteoblastos activos se relaciona con N_{OCy}^{RANKL} a través de la ecuación de concentración de RANKL (ec. (1.86)), pues la concentración de RANKL influye en la población de OCa, ya que esta molécula está implicada en la diferenciación de OCp en OCa, la población de OCa influye en la concentración de TGF- β y éste a su vez afecta a la población de OBa controlando negativamente la diferenciación de OBp en OBa (ver ec. (1.90)).

En las siguientes gráficas vemos la evolución de la población de osteoblastos activos para los distintos valores de N_{OCy}^{RANKL} :



Podemos apreciar cómo la población de osteoblastos aumenta a medida que aumenta N_{OCy}^{RANKL} . Esto se debe a que un aumento en N_{OCy}^{RANKL} implica un aumento en la concentración de RANKL, la cual implica un aumento en la población de OCa y con ello un aumento en la concentración de TGF- β . De esta forma la población de OBa se ve favorecida con el aumento de N_{OCy}^{RANKL} .

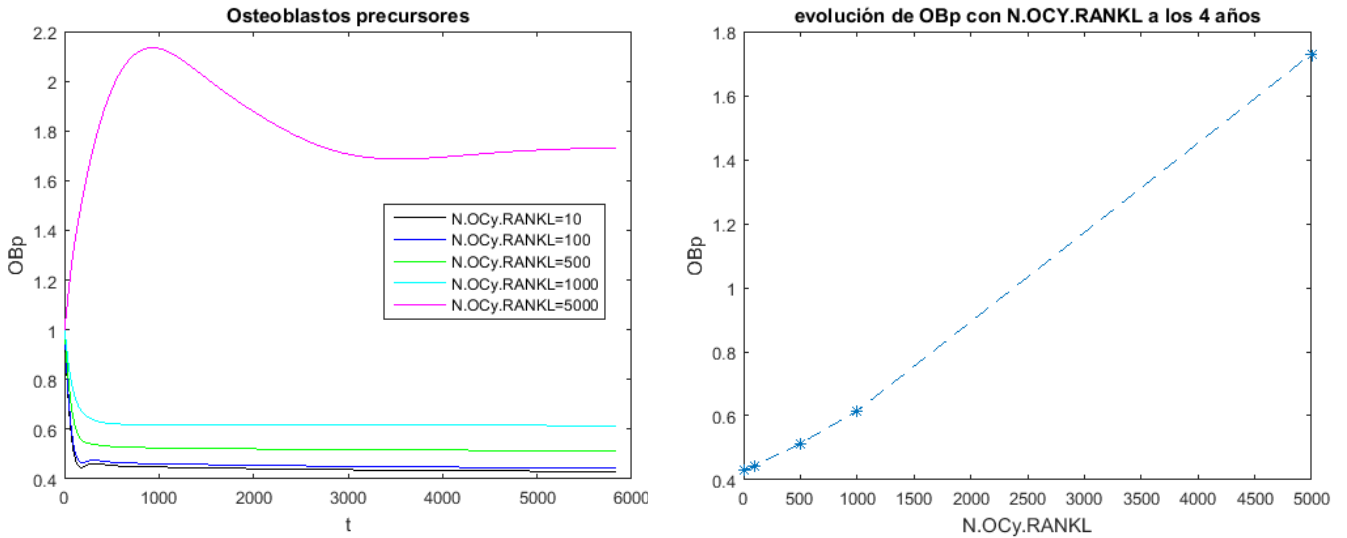
Observando las gráficas podemos comprobar que la sensibilidad del modelo es mayor para valores de N_{OCy}^{RANKL} del orden de 10^3 , como ya habíamos anticipado mediante el análisis dimensional realizado previamente al análisis de sensibilidad. La estabilidad de la población de osteoblastos activos es máxima para $N_{OCy}^{RANKL} = 1000$, valor para el cual la derivada de dicha población alcanza valores del orden de -10^{-7} , es decir, que puede considerarse nula respecto a los valores que toma la población de OBa, que están dentro del orden de magnitud de la unidad.

Conforme disminuye el valor de N_{OCy}^{RANKL} cada vez es menor el efecto de este parámetro en la población de osteoblastos activos, llegando a producirse variaciones casi inapreciables para valores por debajo de $N_{OCy}^{RANKL} = 100$.

4.2.2 OBp

La relación entre la población de osteoblastos precursores y N_{OCy}^{RANKL} es similar a la descrita en el apartado 4.1.2, entre OBp y A_{OCy} . El valor de N_{OCy}^{RANKL} influye en la concentración de RANKL, esta molécula determina la cantidad de OCp que se diferencian en OCa, o sea, determina el número de OCa presentes en la BMU. Dicho número afecta a la concentración de TGF- β , que resulta clave en la diferenciación de OBU a OBp.

Veamos cómo influye el valor de N_{OCy}^{RANKL} en la población de osteoblastos precursores en las siguientes gráficas:



Al aumentar N_{OCy}^{RANKL} aumenta la población de OBp. Siguiendo lo descrito anteriormente, un valor mayor de N_{OCy}^{RANKL} implicaría una mayor concentración de RANKL, ésta implicaría a su vez una mayor cantidad de OCa, la cual daría lugar a un aumento en la concentración de TGF- β que favorece la diferenciación de OBU en OBp y aumenta por tanto la población de OBp.

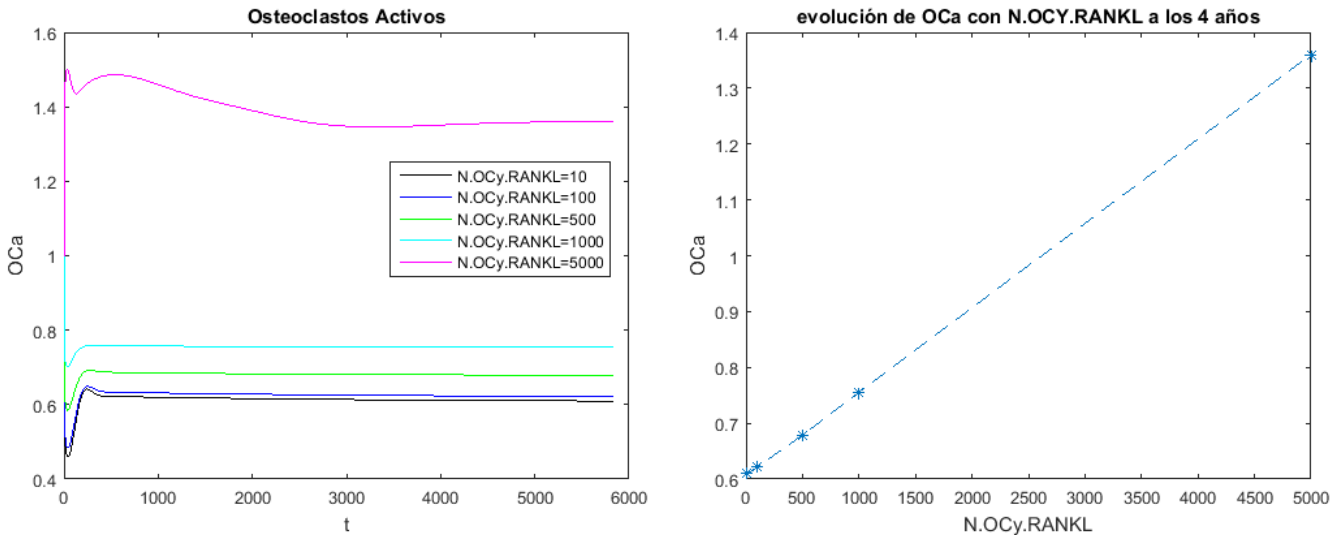
En esta población celular resulta aún más evidente la poca influencia que tienen valores de N_{OCy}^{RANKL} por debajo de 100, así como la enorme sensibilidad del modelo ante valores de N_{OCy}^{RANKL} entre 1000 y 5000.

Al igual que en la población de OBA, el valor óptimo de OBp se alcanza en $N_{OCy}^{RANKL} = 1000$, sin embargo en este caso la estabilidad no es tan alta como la de aquel, pues la derivada de OBp toma valores del orden de -10^{-6} . De todas formas, dado el orden de magnitud de la población de OBA, podemos considerar esta derivada como nula y asegurar por tanto que el modelo es estable.

4.2.3 OCa

La relación entre N_{OCy}^{RANKL} y la población de osteoclastos activos es mucho más sencilla que las anteriores, ya que el valor de N_{OCy}^{RANKL} influye en la concentración de RANKL y ésta afecta directamente a la población de OCa, pues como bien sabemos, el RANKL determina la diferenciación de OCp en OCa.

Veamos ahora qué resultados se han obtenido en la población de osteoclastos activos variando N_{OCy}^{RANKL} en nuestro modelo:



Como era de esperar, conforme aumenta el valor de N_{OCy}^{RANKL} aumenta la población de osteoclastos activos. Si bien, al aumentar N_{OCy}^{RANKL} se produce un aumento en la concentración de RANKL, este aumento provoca un aumento en la diferenciación de OCp en OCa y de ahí que esta última población se vea incetivada por valores mayores de N_{OCy}^{RANKL} .

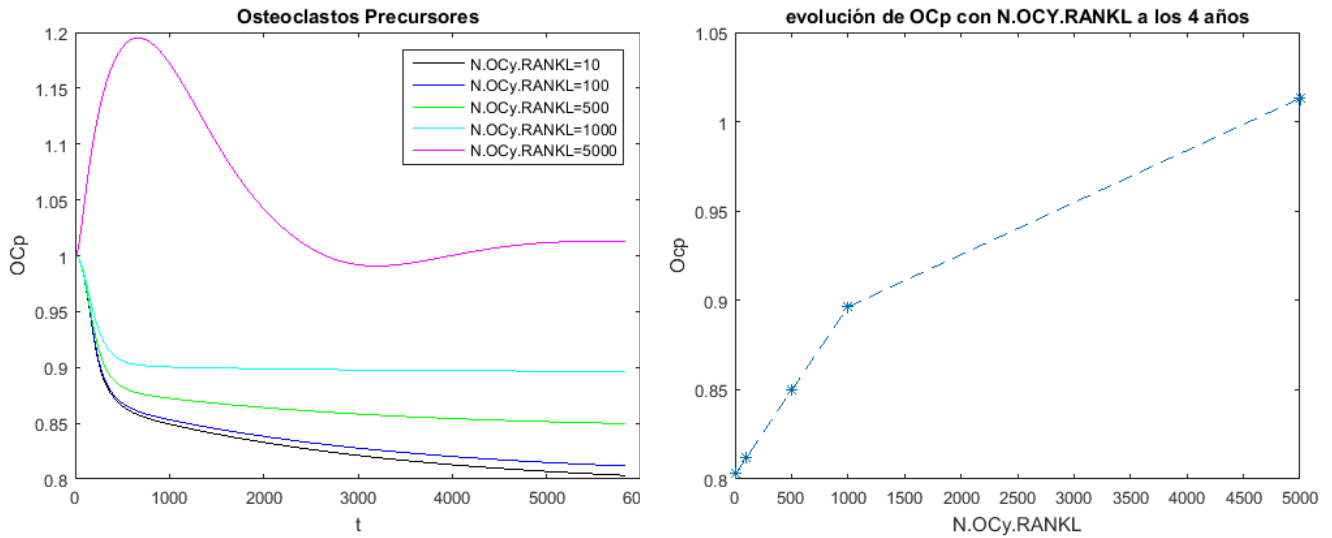
En las gráficas podemos apreciar cómo la población de OCa es más sensible ante cambios en N_{OCy}^{RANKL} con valores del orden de 10^3 , siendo menos sensible ante variaciones en N_{OCy}^{RANKL} de órdenes de magnitud inferiores a 10^2 .

El valor de N_{OCy}^{RANKL} que da lugar a la población de OCa más estable es $N_{OCy}^{RANKL} = 1000$, para el cual las variaciones en OCa son del orden de -10^{-7} , es decir, que son prácticamente nulas en comparación con el orden de magnitud que presenta la población de OCa. Valores de N_{OCy}^{RANKL} por encima de 5000 dan lugar a un comportamiento inestable de la población de OCa y valores inferiores a 100 no provocan cambios significativos en la misma.

4.2.4 OCp

La relación entre la población de OCp y el parámetro N_{OCy}^{RANKL} no resulta tan inmediata, pues aunque están relacionados a través de la concentración de RANKL, la población de OCp se ve perjudicada tanto positiva como negativamente por la concentración de esta molécula. Esto se debe a que la diferenciación de OCu en OCp está controlada por el RANKL y afecta positivamente a la población de OCp, pero la diferenciación de OCp en OCa también depende del RANKL y en este caso perjudica negativamente a la población de OCp. Por ello, la estabilidad de la población de OCp es más difícil de conseguir y pocos valores de N_{OCy}^{RANKL} son capaces de conseguirla.

En las siguientes gráficas vemos la evolución de OCp para distintos valores de N_{OCy}^{RANKL} :



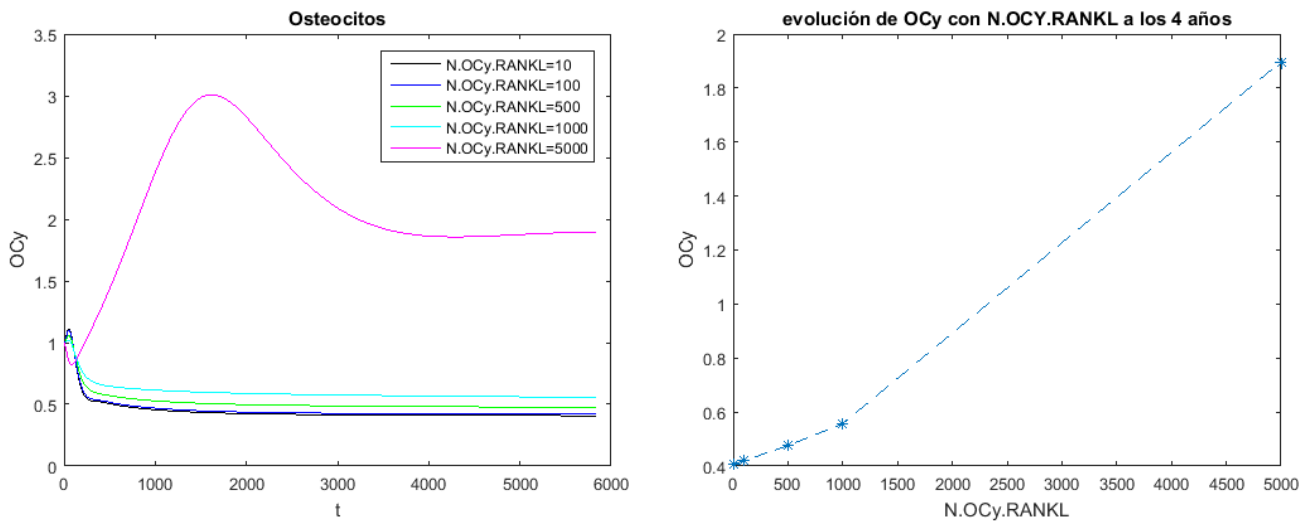
Podemos comprobar que conforme aumenta el valor de N_{OCy}^{RANKL} aumenta la población de OCp, aunque como bien hemos explicado antes resulta complicado razonar porqué unos valores elevados de N_{OCy}^{RANKL} provocan este efecto.

A simple vista podemos comprobar que la solución más estable para la población de OCp es la de $N_{OCy}^{RANKL} = 1000$, para la cual las variaciones en dicha población son del orden de -10^{-6} , valor que puede considerarse nulo teniendo en cuenta el orden de magnitud en el que se mueve OCp (alrededor de la unidad). Para valores de N_{OCy}^{RANKL} por encima de 5000 la población de OCp se hace inestable y comienza a oscilar, mientras que para valores inferiores a 100 la población decrece tendiendo a cero.

4.2.5 OCy

La población de OCy no está directamente relacionada con N_{OCy}^{RANKL} , ya que este parámetro expresa la cantidad máxima de osteocitos que segregan RANKL por causa del daño o del desuso, es decir, que actuará sobre la población de osteocitos ya existente. Sin embargo, podemos relacionar las variaciones en N_{OCy}^{RANKL} con la población de osteocitos en la medida en que N_{OCy}^{RANKL} afecta a la concentración de RANKL, la concentración de RANKL afecta a la población de OCa, la cual influye en la concentración de TGF- β , que modifica el valor de la población de OBa y, por último, la población de OBa afecta directamente y de forma positiva a la población de osteocitos formando parte del primer término de su ecuación diferencial (véase ecuación (1.91)).

En las siguientes gráficas veremos la evolución de la población de osteocitos para distintos valores del parámetro N_{OCy}^{RANKL} :



Tal y como se aprecia en las figuras anteriores, un aumento del parámetro N_{OCy}^{RANKL} provoca un aumento en la población de osteocitos, esto era de esperar siguiendo el razonamiento arriba expuesto.

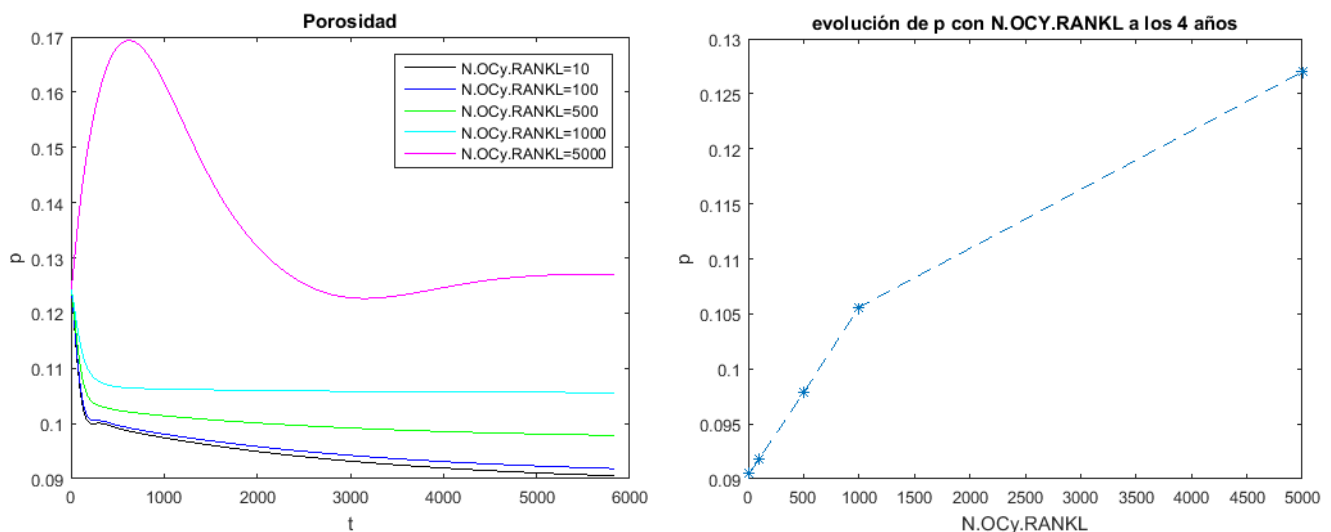
En este caso, el valor óptimo de N_{OCy}^{RANKL} que nos proporciona la evolución de OCy más estable es $N_{OCy}^{RANKL} = 500$, a diferencia de las demás poblaciones que presentaban su valor óptimo en $N_{OCy}^{RANKL} = 1000$. Las variaciones en la población de OCy para $N_{OCy}^{RANKL} = 500$ son del orden de -10^{-6} , mientras que para $N_{OCy}^{RANKL} = 1000$ son del orden de -10^{-5} .

La sensibilidad de la población de OCy ante cambios en N_{OCy}^{RANKL} es mucho mayor para valores de este parámetro del orden de 10^3 , pues al pasar de un valor de $N_{OCy}^{RANKL} = 1000$ a un valor de $N_{OCy}^{RANKL} = 5000$, la población de osteocitos aumenta más del doble. Sin embargo una variación desde $N_{OCy}^{RANKL} = 100$ hasta $N_{OCy}^{RANKL} = 500$ produce a penas un aumento del 10% en OCy.

4.2.6 Porosidad

La porosidad se relaciona con N_{OCy}^{RANKL} a través de la expresión de la concentración de RANKL, pues dicha concentración determina la cantidad de OCa, la cual afecta positivamente al valor de la porosidad (véase ecuación (1.65)).

En las gráficas que siguen a continuación podemos ver la evolución de la porosidad para distintos valores de N_{OCy}^{RANKL} :



Un aumento en el parámetro N_{OCy}^{RANKL} implica un aumento en la concentración de RANKL. Al aumentar el RANKL aumenta el número de OCp que se diferencian en OCa, con lo cual aumenta la reabsorción ósea con la consecuente disminución de la cantidad de matriz ósea, es decir, un aumento de la porosidad en el tejido óseo.

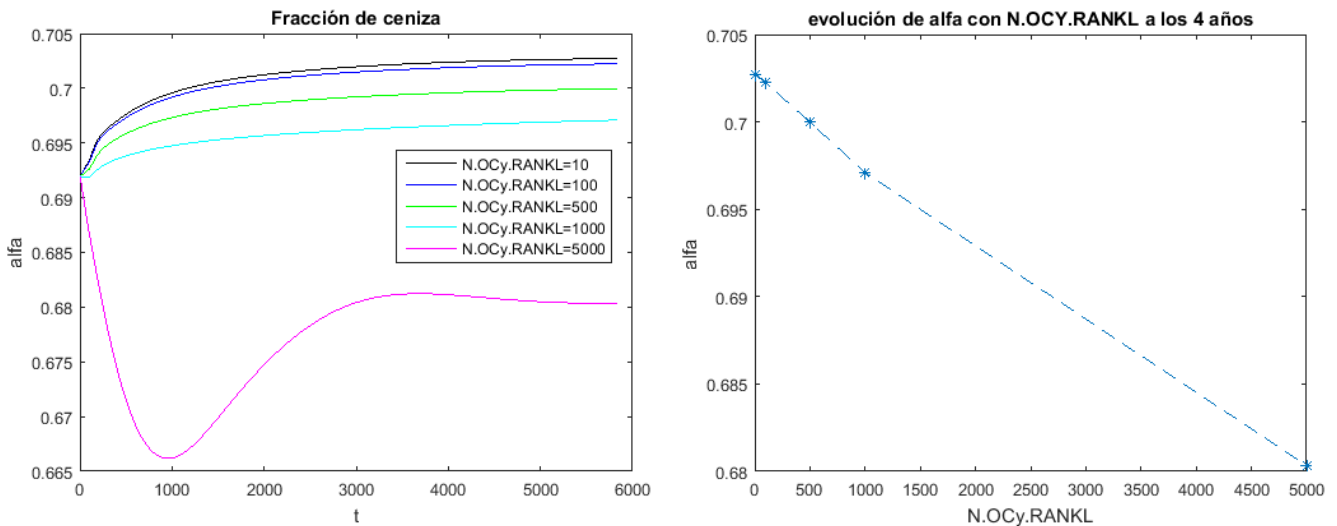
En el rango de N_{OCy}^{RANKL} aplicado, la porosidad se mantiene entre 0.09 y 0.17, valores bastante razonables teniendo en cuenta que el hueso cortical tiene unos valores típicos de porosidad entre 0.05 y 0.15.

Cabe destacar que para valores de N_{OCy}^{RANKL} por encima de 5000 la porosidad se hace inestable y por debajo de $N_{OCy}^{RANKL} = 10$ resulta complicado apreciar diferencias en los valores de la porosidad.

4.2.7 Fracción de ceniza

La relación entre la fracción de ceniza y el parámetro N_{OCy}^{RANKL} se puede entender teniendo en cuenta que N_{OCy}^{RANKL} está relacionado con la concentración de RANKL, y ésta determina la cantidad de OCp que se diferencian en OCa. El número de OCa será clave en la reabsorción ósea, pues determinará la cantidad de mineral reabsorbido y por tanto el valor de la fracción de ceniza.

En las siguientes gráficas vemos la evolución de la fracción de ceniza para distintos valores de N_{OCy}^{RANKL} :



Se observa como un aumento en el parámetro N_{OCy}^{RANKL} provoca una disminución de la fracción de ceniza. Al aumentar N_{OCy}^{RANKL} , la concentración de RANKL se ve incrementada, con lo cual la cantidad de OCp que se diferencian en OCa es mayor. De esta forma la cantidad de tejido óseo mineralizado que se reabsorbe aumenta, y con ello disminuye el contenido de mineral en el hueso, disminuyendo por tanto la fracción de ceniza.

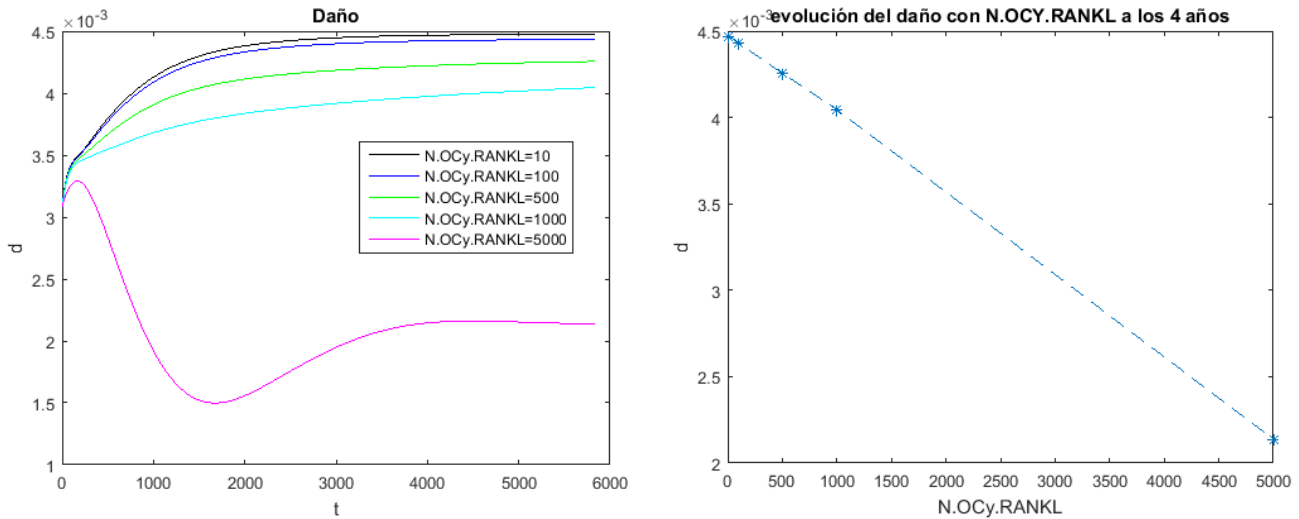
Podemos comprobar cómo el modelo es más sensible a cambios en N_{OCy}^{RANKL} del orden de 10^3 , pues variaciones en valores de órdenes de magnitud inferiores a este no provocan cambios tan significativos.

4.2.8 Daño

Como bien dijimos en el apartado 4.1.8, el daño está relacionado con la aparición de microgrietas en el tejido óseo. Cuanto más mineralizado esté el tejido, más frágil será y más probable resultará la aparición de microgrietas.

El parámetro N_{OCy}^{RANKL} se relaciona con el daño en la medida en que N_{OCy}^{RANKL} influye en la concentración de RANKL, la cual determina la osteoclastogénesis y, por tanto, afectará a la reabsorción ósea. Gracias a la reabsorción, las zonas del tejido óseo más mineralizadas, o sea, las más antiguas, son eliminadas, reduciendo así la fragilidad del hueso y devolviéndole su rigidez original tras la etapa de formación ósea.

Veamos cómo influye el valor de N_{OCy}^{RANKL} en el daño que sufre el tejido óseo:



De las gráficas anteriores podemos extraer que el daño disminuye al aumentar $N_{OCy.RANKL}^{RANKL}$. Esto se explica siguiendo el razonamiento antes expuesto: cuando $N_{OCy.RANKL}^{RANKL}$ aumenta, la concentración de RANKL también lo hace, ya que es directamente proporcional a $N_{OCy.RANKL}^{RANKL}$ (véase ecuación (1.86)), con lo cual aumenta el número de OCp que se diferencian en OCa. Al haber más cantidad de OCa la reabsorción ósea es mayor y, por tanto es eliminada una mayor parte del mineral presente en el hueso. Al disminuir el grado de mineralización, el hueso recupera rigidez y aumenta así su resistencia a la aparición de grietas, en decir, disminuye el daño.

Es posible comprobar que para los valores de $N_{OCy.RANKL}^{RANKL}$ empleados el daño se mantiene siempre por debajo de $4.5 \cdot 10^{-3}$, dentro de los valores normales y óptimos para el correcto funcionamiento de un hueso sano.

Para $N_{OCy.RANKL}^{RANKL}$ por encima de 5000 el daño comienza a hacerse inestable y a oscilar, de forma que puede llegar a alcanzar el valor $d = 1$ que resultaría fatal para el hueso, pues implica la rotura local del tejido óseo.

4.3 Comparación con el caso nominal

Una vez realizado el análisis de sensibilidad del nuevo modelo, estamos en condiciones de proceder a compararlo con el modelo antiguo, es decir, con el modelo que no consideraba el efecto de los osteocitos. Para ello, ejecutamos el mismo programa que en los casos anteriores, pero eliminando ahora todos los parámetros que incluyen el efecto de los osteocitos para poder ver el resultado en el caso nominal, entendiendo nominal como la situación anterior a la implementación de las nuevas ecuaciones.

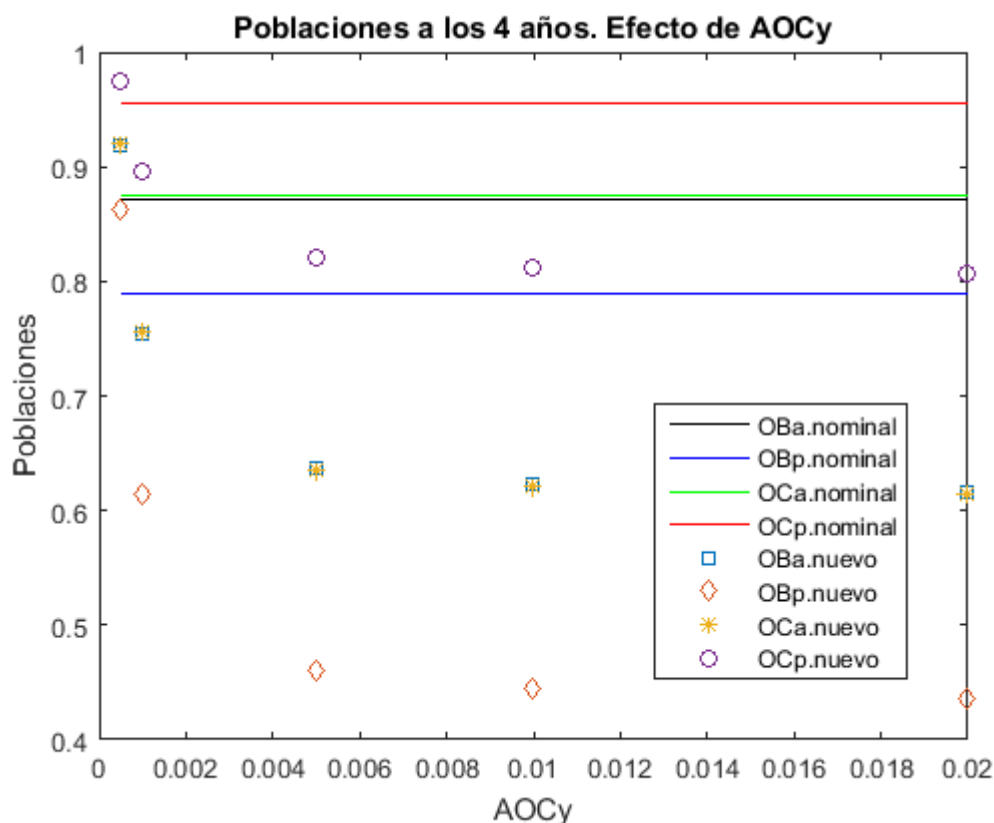
De esta forma apreciaremos si, efectivamente, las nuevas ecuaciones y parámetros implementados provocan algún cambio en los resultados que no se obtenía en el caso nominal. Si esto sucede, se demostrará que nuestro nuevo modelo aporta información adicional al modelo anterior y que la inclusión del efecto de los osteocitos en el modelo de remodelación ósea provoca cambios significativos en las poblaciones celulares.

Para realizar la comparación nos ayudaremos de una serie de gráficas en las que mostraremos el valor de las poblaciones celulares (OBa, OBp, OCa y OCp) al cabo de 4 años, es decir, cuando ya han llegado a una situación de estabilidad. Plotearemos las soluciones de las poblaciones obtenidas en el caso nominal junto con los valores de las poblaciones celulares obtenidos en el nuevo modelo que incluye el efecto de los osteocitos. Debemos recordar que las soluciones del modelo nuevo se han obtenido en función de los valores de dos parámetros: A_{OCy} y $N_{OCy.RANKL}^{RANKL}$, por ello, representaremos el valor de las poblaciones celulares al cabo de 4 años para los distintos valores de estos dos parámetros y de esta forma podremos hacer una comparación más precisa con las poblaciones del caso nominal.

A continuación comparamos el caso nominal con el nuevo modelo según los valores de A_{OCy} para posteriormente hacerlo según los valores de N_{OCy}^{RANKL} .

4.3.1 Comparación en función de A_{OCy}

En este subapartado vamos a mostrar la evolución de las poblaciones celulares del modelo nuevo conforme varía A_{OCy} junto con las poblaciones que se obtuvieron en el caso nominal, sin incluir el efecto de los osteocitos. En la siguiente gráfica podemos ver dicha evolución:

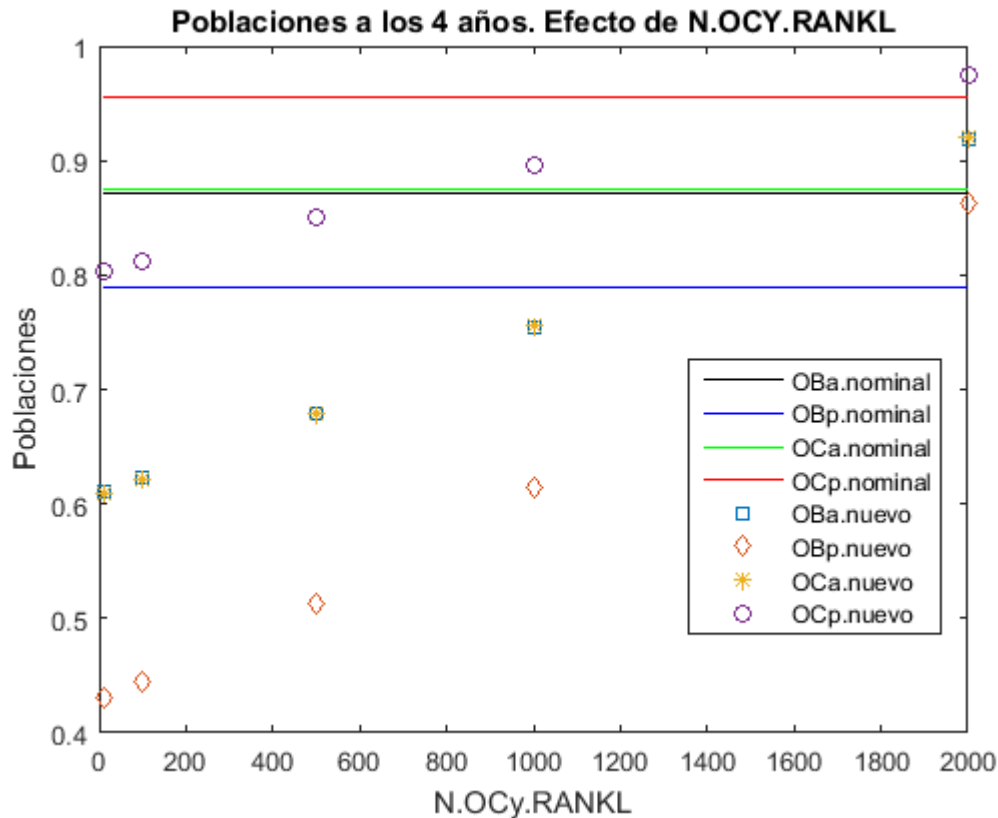


Observamos en forma de línea recta el valor de las poblaciones nominales al cabo de 4 años. Podemos ver que la población de OBa y la población de OCa alcanzan valores muy similares en ese punto final de la simulación. Al comparar estos valores con los obtenidos en el nuevo modelo, que aparecen en forma de círculos (OCp), cuadrados (OBa), asteriscos (OCa) y rombos (OBp), vemos que se producen variaciones notables. Para el valor inicial de A_{OCy} considerado dentro del rango de estabilidad del nuevo modelo, $A_{OCy} = 0.0005$, las poblaciones alcanzan valores ligeramente superiores a los obtenidos en el caso nominal. Conforme vamos aumentando el valor de A_{OCy} , las diferencias entre el caso nominal y el nuevo modelo son cada vez mayores, dando lugar a la estabilización de las poblaciones celulares en valores muy por debajo de los que se obtenían en el caso nominal. Esto nos lleva a concluir que el efecto de A_{OCy} provoca una disminución cada vez mayor del valor de estabilización de las poblaciones celulares.

A la vista de estos datos, es fácil comprobar que la influencia de los osteocitos será mayor cuanto mayor sea el valor de A_{OCy} , pero que, independientemente del valor que tome este parámetro, siempre habrá diferencias claras entre el modelo sin osteocitos y el nuevo modelo con osteocitos. Se demuestra de esta forma que la población de osteocitos tiene un efecto significativo sobre las demás poblaciones celulares, lo que nos lleva a la conclusión de que este nuevo modelo se acerca más a la realidad de la remodelación ósea de lo que lo hacían los modelos anteriores, ya que tiene en consideración una mayor cantidad de variables que permiten acercarlo un poco más al fenómeno biológico real.

4.3.2 Comparación en función de N_{OCy}^{RANKL}

En este subapartado mostraremos la evolución de las poblaciones celulares teniendo en cuenta ahora las variaciones en el parámetro N_{OCy}^{RANKL} , enfrentando las soluciones del nuevo modelo a las obtenidas en el modelo nominal. Los resultados han sido los siguientes:



Al igual que en el subapartado anterior, es evidente que existen diferencias entre los valores obtenidos en el caso nominal (aparecen en la ilustración en forma de línea recta) y los obtenidos con el nuevo modelo. Para los valores iniciales de N_{OCy}^{RANKL} se obtienen poblaciones celulares por debajo de las del caso nominal. Sin embargo, conforme aumenta el valor de N_{OCy}^{RANKL} , los resultados obtenidos con el nuevo modelo van siendo cada vez mayores y más diferentes a los del caso nominal.

Esto muestra, una vez más, la clara influencia del efecto de los osteocitos en el nuevo modelo. Sea cual sea el valor de N_{OCy}^{RANKL} dentro del rango de estabilidad determinado en el subapartado 4.2, los resultados obtenidos con y sin osteocitos son siempre diferentes.

De nuevo, es posible concluir que el nuevo modelo aporta grandes diferencias respecto al anterior, pues se aprecian cambios muy significativos en las poblaciones celulares que muestran cómo influye la población de osteocitos en el proceso de remodelación ósea.

5 CONCLUSIONES Y TRABAJOS FUTUROS

5.1 Conclusiones

El objetivo principal de este trabajo era la inclusión del efecto de una nueva población celular, la población de osteocitos, en el modelo de remodelación ósea propuesto por Pivonka et al. en 2013 [5], en el cual también se ha incluido el daño y el grado de mineralización haciendo uso de lo expuesto por Martínez-Reina et al. [1].

Para llevar a cabo dicho objetivo se han diseñado una serie de ecuaciones complementarias a las ya existentes que, o bien modifican expresiones que ya habían sido empleadas anteriormente, o bien aportan expresiones completamente nuevas al modelo, como es el caso de la ecuación (1.91).

En nuestro afán por introducir el efecto de los osteocitos en el proceso de remodelación ósea mediante un modelo de poblaciones celulares, se crearon tres nuevos parámetros, hasta ahora inexistentes, además de una nueva variable de estado: la concentración de osteocitos por mm^3 . Gracias a esto hemos podido comprobar satisfactoriamente qué cambios provoca la inclusión de los osteocitos en el modelo de remodelación ósea basado en poblaciones celulares

Efectivamente, los resultados obtenidos son diferentes en el modelo antiguo (sin considerar los osteocitos) y en el nuevo modelo, lo que nos lleva a concluir que esta población sí que tiene efectos significativos en la remodelación ósea que deberían ser tenidos en cuenta.

Además de haber cumplido nuestro objetivo principal, también hemos conseguido alcanzar los objetivos particulares que consistían en ver qué efectos provoca la variación de los nuevos parámetros en las poblaciones celulares consideradas (OBa, OBp, OCa, OCp, OCy) así como en el valor del daño, de la fracción de ceniza y de la porosidad. Hemos podido comprobar que el rango de valores establecido para las nuevas variables nos proporciona soluciones estables del modelo, en algunos casos originando resultados incluso mejores, en términos de estabilidad, que aquellos que se obtenían en el modelo antiguo sin osteocitos. De esta forma se concluye que el rango de estabilidad para el parámetro A_{OCy} está dentro del intervalo [0.0005; 0.005] siendo el valor de $A_{OCy} = 0.001$ el que aporta los resultados óptimos para la mayoría de las variables. En el caso del parámetro N_{OCy}^{RANKL} , el rango de valores que aporta estabilidad al modelo está dentro de [100; 5000], siendo el modelo más sensible para valores entre $N_{OCy}^{RANKL} = 1000$ y $N_{OCy}^{RANKL} = 5000$, concluyendo que $N_{OCy}^{RANKL} = 1000$ da lugar a las soluciones óptimas en términos de estabilidad. Se puede comprobar como los valores óptimos de los nuevos parámetros se encuentran dentro del orden de magnitud que se había estimado en la fase previa al análisis de sensibilidad del modelo, lo cual aporta fiabilidad a los cálculos realizados.

Finalmente, concluimos que, a la hora de emplear el nuevo modelo aquí propuesto, los valores que deberían considerarse para los tres nuevos parámetros son:

$$- D_{burial} = 1 / 67$$

$$- A_{OCy} = 0.001$$

$$- N_{OCy}^{RANKL} = 1000$$

Gracias a la utilización de estos valores, o incluso con otros valores dentro del rango de estabilidad arriba determinado, el modelo nos proporciona evoluciones de las variables que concuerdan positivamente con los procesos bioquímicos estudiados acerca de la remodelación ósea, es decir, que podemos considerar que el objetivo de este trabajo se ha alcanzado exitosamente.

5.2 Trabajos futuros

De cara a seguir mejorando el modelo, sería interesante incluir el efecto de otros parámetros que no han sido incluidos por ahora. De igual forma, sería de gran utilidad estudiar la efectividad del modelo para sujetos enfermos, pues todos los análisis realizados se han basado en un sujeto con tejido óseo sano. Por ello, se proponen una serie de posibles trabajos a realizar en un futuro a raíz del modelo presentado en este documento:

1. Considerar la posibilidad de un sujeto enfermo, en este caso aplicaríamos al modelo las variaciones pertinentes para incluir el efecto de una enfermedad como la osteoporosis. Para ello tan sólo habría que modificar los parámetros que aparecen dentro del archivo de MATLAB *osteocitos1.m* con el nombre de “factor_dis1”, “factor_dis2” y “factor_dis3” (consultar Anexo A). Estos factores provocan cambios en la velocidad de producción de RANKL y en la velocidad de producción de OPG, alterando así el ratio RANKL-OPG, que resulta crucial en la etapa de reabsorción ósea.
2. Aplicar una administración de PTH externa intermitente. Esto también está incluido en el archivo *osteocitos1.m*, sin embargo se había considerado una administración externa de PTH nula para simplificar el modelo. Se propone ahora introducir este efecto en el modelo para ver qué variaciones aporta a cada población celular.
3. Incluir el efecto de la esclerostina. En el apartado 3.5.2 se explicó la relación entre esta molécula y los osteocitos, viendo que cumple un papel fundamental en la etapa de formación ósea, además de ejercer cierta influencia en el proceso de reabsorción (ver apartado 3.5.3). Por ello, se considera de interés el contemplar esta molécula dentro del modelo de remodelación ósea.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] J. Martínez-Reina, J. M. García-Aznar, J. Domínguez, and M. Doblaré, "On the role of bone damage in calcium homeostasis," *Journal of Theoretical Biology*, pp. 704-712, 2008.
- [2] P. Pivonka, et al., "Model structure and control of bone remodeling: A theoretical study," *Bone*, pp. 249-263, 2008.
- [3] S. Kamarova, R. Smith, S. Dixon, S. Sims, and L. Wahl, "Mathematical model predicts a critical role for osteoblast autocrine regulation in the control of bone remodeling," *Bone*, pp. 206-215, 2003.
- [4] V. Lemaire, F. Tobin, L. Greller, C. Cho, and L. Suva, "Modeling the interactions between osteoblast and osteoclast activities in bone remodeling," *Journal of Theoretical Biology*, pp. 293-309, 2004.
- [5] 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*, pp. 134-147, 2013.
- [6] P. Buenzli, P. Pivonka, B. S. Gardiner, and D. W. Smith, "Modelling the anabolic response of bone using a cell population model," *Journal of Theoretical Biology*, pp. 42-52, 2012.
- [7] P. R. Buenzli, "Osteocytes as a record of bone formation dynamics: A mathematical model of osteocyte generation in bone matrix," *Journal of Theoretical Biology*, pp. 418-427, 2015.
- [8] G. A. Borelli, *De Motu animalium*. Pisa, 1667.
- [9] Chriudel. EpiMetaDiaphyse. (Consultado 14/09/2016). [Online]. <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:EpiMetaDiafisis.png>
- [10] Educación Física Jaén. (Consultado 14/09/2016). [Online]. <http://blogcarlosl.blogspot.com.es/2011/09/tema-1-el-sistema-osteoarticular.html>
- [11] J. Pérez. Huesos, Músculos y Articulaciones. (Consultado 14/09/2016). [Online]. <https://sites.google.com/site/huesosmusculos/system/app/pages/recentChanges?offset=25>
- [12] Diplomado de Endocrinología Ginecológica. (Consultado 14/09/2016). [Online]. http://www.e-sanitas.edu.co/Diplomados/endocrino/modulo_11/remodelamiento.html
- [13] Osteomielite crônica. (Consultado 14/09/2016). [Online]. <http://anatpat.unicamp.br/lamosso1.html>
- [14] W. S. S. Jee, "The skeletal tissues," in *Histology: Cell and Tissue Biology, 5th ed.*, L. Weiss, Ed. Elsevier, 1983.
- [15] W. Kahle, H. Leonhardt, and W. Platzer, *Atlas de Anatomía (para estudiantes y médicos). Tomo I*. Barcelona, España: Omega, 1993.
- [16] J. D. Currey, "The mechanical consequences of variation in the mineral content of bone," *J. Biomech.*, pp.

1-11, 1969.

- [17] G. S. Beaupé, T. E. Orr, and D. R. Carter, "An approach for time-dependent bone modelling and remodeling-theoretical development," *J. Orthopaed. Res.*, pp. 651-661, 1990.
- [18] H. M. Frost, *Bone Remodeling and its Relationship to Metabolic Diseases*. Springfield IL: Charles C. Thomas, 1973.
- [19] R. B. Martin, "Toward a unifying theory of bone remodeling," *Bone*, pp. 1-6, 2000.
- [20] A. M. Parfitt, "The physiologic and clinical significance of bone histomorphometric data," in *Bone Histomorphometry Techniques and Interpretation*, R. R. Recker, Ed. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 1983, pp. 143-223.
- [21] P. Fridez, "Modélisation de l'adaptation osseuse externe," EPFL, Physics Department, 1996.
- [22] P. Pivonka, et al., "Theoretical investigation of the role of the RANK-RANKL-OPG system in bone remodeling," *Journal of Theoretical Biology*, pp. 306-316, 2010.
- [23] M. GR, *Bone remodeling and its disorders*. London, England: Martin Dunitz Ltd, 1999.
- [24] S. S, P. P, H. Ch, and S. DW, "Computational simulations of the mechanobiological regulation of bone remodeling by means of a coupled systems biology-micromechanical approach," in *Proceedings of the 9th IASTED International Conference on Biomedical Engineering, February 2012*, Innsbruck, Austria, 2012, pp. 657-664.
- [25] R. B. Martin, "Porosity and specific surface of bone," in *CRC Critical Reviews in Biomedical Engineering*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 1984, pp. 179-222.
- [26] R. T. Whalen and D. R. Carter, "Influence of physical activity on the regulation of bone density," *Journal of Biomechanics*, vol. 21, no. 10, pp. 825-837, 1988.
- [27] C. R. Jacobs, "Numerical simulation of bone adaptation to mechanical loading,," PhD thesis, Stanford University, 1994.
- [28] L. J. Gibson, "The mechanical behaviour of cancellous bone," *J. Biomech*, no. 18, pp. 317-328, 1985.
- [29] D. R. Carter and W. C. Hayes, "The behaviour of bone as a two-phase porous structure," *J. Bone Joint Surg.*, pp. 954-962, 1977.
- [30] C. A. Pattin, W. E. Caler, and D. R. Carter, "Cyclic mechanical property degradation during fatigue loading of cortical bone," *J. Biomech*, vol. 29, no. 1, pp. 69-79, 1996.
- [31] J. M. García-Aznar, T. Rueberg, and M. Doblarè, "A bone remodelling model coupling microdamage growth and repair by 3D BMU activity," *Biomech. Model. Mech.*, pp. 147-167, 2005.
- [32] R. C. Juvinall, *Engineering Considerations of Stress, Strain and Strength*. New York, USA: McGraw-Hill, 1967.
- [33] J. D. Currey, "Tensile yield in compact bone is determined by strain, post-yield behaviour by mineral content," *J. Biomech*, pp. 549-556, 2004.

- [34] C. J. Hernandez, G. S. Beaupré, and D. R. Carter, "A model of mechanobiologic and metabolic influences on bone adaptation," *J. Rehabil. Res. Dev.*, pp. 235-244, 2001.
- [35] M. Prideaux, D. M. Findlay, and G. J. Atkins, "Osteocytes: The master cells in bone remodelling," *Current Opinion in Pharmacology*, pp. 24-30, 2016.
- [36] M. Capulli, R. Paone, and N. Rucci, "Osteoblast and osteocyte: Games without frontiers," *Archives of Biochemistry and Biophysics*, pp. 3-12, 2014.
- [37] B. S. Noble, "The osteocyte lineage," *Archives of Biochemistry and Biophysics*, pp. 106-111, 2008.
- [38] J. Klein-Nulend, A. D. Bakker, R. G. Bacabac, A. Vatsa, and S. Weinbaum, "Mechanosensation and transduction in osteocytes," *Bone*, pp. 182-190, 2012.
- [39] S. Tatsumi, et al., *Cell Metab.*, pp. 464-475, 2007.
- [40] K. M. Hannah, C. D. L. Thomas, J. G. Clement, F. De Carlo, and A. G. Peele, "Bimodal distribution of osteocyte lacunar size in the human femoral cortex as revealed by micro-CT," *Bone*, no. 47, p. 866, 2010.
- [41] U. E. Pazzaglia, T. Congiu, V. Sibilìa, and D. Quacci, "Osteoblast-osteocyte transformation. A SEM densitometric analysis of apposition in rabbit femur," *J. Anat.*, pp. 132-141, 2014.
- [42] M. RB, "Porosity and especific surface of bone," *Crit. Rev Biomed Eng*, pp. 179-222, 1984.

ANEXO A: OSTEOCITOS1.M

```
%Diferencias con symbolicPivonka7e.m
%Incluye el efecto de la población de osteocitos
clear
clc
close all

% P.Pivonka et al./Engineering Structures 47 (2013) 134-147

% Constantes modelo Pivonka
%pM = 6.02214*10^5; %Se usa el n°células/mm3 ó n°moléculas/mm3 como unidad de concentración
pM=1; %Se usa el picomolar como unidad de concentración
% Las variables dis miden el avance de la enfermedad, con posibilidad de distintas
% influencias en cada parámetro
syms OCp OCa OBp OCy OBa dis1 dis2 dis3 ;
DOBu = 0.7; %velocidad diferenciación OBU en OBp
DOBp = 0.166; %velocidad diferenciación OBp en OBa
AOBa = 0.111-(1/67); %velocidad apoptosis de OBa,nominal 0.111
P_OBp = 0.021; %proliferación de OBp
DOCu = 4.2; %diferenciación de OCu en OCa
DOCp = 2.1; %diferenciación de OCp en OCa
AOCa = 5.65; %velocidad apoptosis de OCa
Dburial = 1/67; %velocidad de enterramiento de OBa,ver apartado 3.5.4 TFG Laura B.
%% nueva
AOCy = 0.05; %velocidad de apoptosis de osteocitos,valor óptimo en 0.001
%%
K_actOBu_TGFB = (5.63e-4)*pM*0.01; %K_D1,TGF-B
K_repOBp_TGFB = (1.75e-4)*pM*0.01; %K_D2,TGF-B
K_actOCa_TGFB = (5.63e-4)*pM*0.01; %K_D3,TGF-B
K_actOB_PTH = 150*pM; %K_D4,PTH
K_repOB_PTH = 0.222*pM; %K_D6,PTH
K_actOC_RANKL = 5.68*pM; %K_D8,RANKL
K_OPG_RANKL = 0.001/pM; %K_A1,RANKL
K_RANK_RANKL = 0.034/pM; %K_A2,RANKL

PI_actOCu_MCSF = 0.5;
%% nueva
N_OCy_RANKL = 1000; %número máximo de OCY que segregan RANKL debido al daño y/o al desuso, valor
óptimo en 1000
%%
%Simulación de osteoporosis
factor_dis1=1; % Se multiplica (o divide) una constante por este factor para simular
la osteoporosis
factor_dis2=5;
factor_dis3=5;
t_dis=730; % El factor se incrementará en forma de rampa desde el día 0 hasta
el día t_dis. Luego permanece cte.
N_OCp_RANK(dis1) = 1e4*dis1; % Número de receptores RANK por OCp *1 para osteoporosis
B_RANKL(dis2) = 1.68e2*pM*dis2; % Velocidad de producción de RANKL 100% *1 para osteoporosis
N_OBp_RANKL = 2.7e6; % Máximo número de RANKL por OBp
D_RANKL = 10; % Velocidad de degradación del RANKL

D_OPG = 0.35; % Velocidad de degradación del OPG
B_OBa_OPG(dis3) = 1.62e8/dis3;% Velocidad de producción de OPG por OBa para osteoporosis
OPGmax = 2e8*pM;
P_OPGd = 0; % OPG administrado externamente

D_PTH = 86; % Velocidad de degradación del PTH
B_PTH = 250*pM; % Producción sistémica de PTH
P_PTHd = 0*pM; % PTH administrado externamente (o producido de manera anómala,
osteoporosis)
t1 = 4; % Número de días seguidos que se administra el PTH
t2 = 10; % Número de días que se descansa en el tratamiento

D_TGFB = 2; % Velocidad de degradación del TGF
P_TGFBd = 0; % TGF administrado externamente (expresado en pM)
N_TGFB_BONE = 0.01*pM; % Concentración de TGF en la matriz ósea

KRES = 5.6366/pM; %velocidad reabsorción matriz ósea
KFORM = 0.1325/pM; %velocidad formación matriz ósea
```

```

p0 = 0.01; % Porosidad de referencia para calcular SV0

syms p;
Sv1(p) = 32.26*p - 93.94*p^2 + 133.96*p^3 - 101.04*p^4 + 28.76*p^5;
Sv(p) = (heaviside(p)-heaviside(p-1))*Sv1(p);
Sv0 = Sv(p0);

syms k_OBu k_OBp k_OCp k_OCc;
gOBu(p, k_OBu) = (Sv(p)/Sv0)^k_OBu;
gOBp(p, k_OBp) = (Sv(p)/Sv0)^k_OBp; %funciones para tener en cuenta la superficie especifica
gOCc(p, k_OCc) = (Sv(p)/Sv0)^k_OCc;
gOCp(p, k_OCp) = (Sv(p)/Sv0)^k_OCp;

%Ctes para el cálculo del estímulo
EST0=50; % Mpa/día, estímulo en el estado de equilibrio
mexp=4; % Exponente del número de ciclos, ver Martínez-Reina et al.(2008)

%Ctes de la correlación de Hernández

KE=84370; % Cte de la correlación de Hernández (MPa)
%alfa=0.7; % Fracción de ceniza
sigma=30; % Tensión uniaxial aplicada (MPa) (valor nominal 30 MPa)

%Ctes para evaluar el daño (Artículo de Rueberg and García-Aznar (2005)
%sobre BMUs)
d0=0.0; % Daño inicial
nciclos=1000; % n° de ciclos diarios

kappa = 1e5; % Influencia del estímulo mecánico en la emisión de RANKL %Pivonka
et al. (2013)
lambda = 0.1; % Influencia del estímulo en la proliferación de OBp %Pivonka et al. (2013)
kappa2 = 5e4; % Influencia del daño en la emisión de RANKL (nominal 1e5, como
kappa)

%Ctes para la mineralización %Martínez-Reina et al. (2008)
tresid = 1000; % Tiempo de residencia del tejido en días
XMINMAX = 0.72 ; % Fracción de ceniza máxima
DT=22; % Mineralization lag time;
MINP=5; % Días que dura la mineralización primaria
XKAPPA = 0.007; % Parámetro de velocidad de la mineralización (nominal 0.007)

OBu = 0.001*pM;
OCu = 0.001*pM;

DeltaT=1/4; % Tiempo de integración

syms x k d P_PTH alfa;
PIact(x) = x/(1 + x);
PIrep(x) = 1/(1 + x);
P_RANKL1(x) = kappa * (1 - x) * (heaviside(x)-heaviside(x - 1)); % Función que evalúa si el
estímulo es de desuso %Ec.(10) PIVONKA (2013)
P_RANKL2(d) = kappa2 * d * (heaviside(d)-heaviside(d - 1)); % Función de emisión de RANKL en
función del daño, ver aptdo 3.4.1 TFG Laura B.
P_RANKL(x,d) = P_RANKL1(x) + P_RANKL2(d);
def(x,d,alfa) = sigma / ((1-d)*KE*(alfa^2.74)*(1-x)^2.58); %expresión de E obtenida de
ec.(23) Martínez-Reina et al. (2008)
EST(x) = sigma*nciclos^(1/mexp)/(1-x)^2; %estímulo es función de la tensión, ver aptdo 3.3.2.1
TFG Laura B.
EST1(k) = (1+1/k)*EST0; %pivonka 2013 para definir PIest
PIest(x,k) = 1/2 + (k/2*(x-1)*(heaviside(x-1)-heaviside(x-EST1(k)/EST0)) + 1/2 * heaviside(x-
EST1(k)/EST0) ); %ECUACIÓN 11 PIVONKA 2013

TGFB(OCa) = (N_TGFB_BONE*KRES*OCa + P_TGFBd)/D_TGFB;
PTH(P_PTH) = (B_PTH + P_PTH)/D_PTH; %CTE, pero con administración externa que puede ser
variable
OPG(OBa, P_PTH, dis3) =
(B_OBa_OPG(dis3)*OBa*PIrep(PTH(P_PTH)/K_repOB_PTH)+P_OPGd)/(B_OBa_OPG(dis3)*OBa*PIrep(PTH(P_PTH)/
K_repOB_PTH)/OPGmax+D_OPG);
RANKLeff(OBp, P_PTH) = N_OBp_RANKL*OBp*PIact(PTH(P_PTH)/K_actOB_PTH);
RANKL1(OBp, p, d, P_PTH, dis2, OCy) =
RANKLeff(OBp, P_PTH) * (B_RANKL(dis2)+P_RANKL(EST(p)/EST0, d)*N_OCy_RANKL*OCy); %incluye influencia
OCy en la producción de RANKL por daño y/o desuso

```

Modelo de Remodelación Ósea Basado en Poblaciones Celulares con el Efecto de los Osteocitos

```

RANKL2(OBp,p,d,P_PTH,dis2,OCy) =
RANKL1(OBp,p,d,P_PTH,dis2,OCy)/(B_RANKL(dis2)+D_RANKL*RANKLeff(OBp,P_PTH));
RANKL(OBp,OBa,OCp,p,d,P_PTH,dis1,dis2,dis3,OCy) =
RANKL2(OBp,p,d,P_PTH,dis2,OCy)/(1+K_OPG_RANKL*OPG(OBa,P_PTH,dis3)+K_RANK_RANKL*N_OCp_RANK(dis1)*O
Cp);

T1(OBp, OBa, OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp,
k_Oc,dis1,dis2,dis3)=DOBu*OBu*PIact(TGFB(OCa)/K_actOBu_TGFB)*gOBu(p, k_OBu);
T2(OBp, OBa, OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp,
k_Oc,dis1,dis2,dis3)=DOBp*OBp*PIrep(TGFB(OCa)/K_repOBp_TGFB)*gOBp(p, k_OBp);
T3(OBp, OBa, OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp,
k_Oc,dis1,dis2,dis3)=P_OBp*OBp*PIest(EST(p)/EST0, lambda);
T4(OBp, OBa, OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp, k_Oc,dis1,dis2,dis3)=AOBa*OBa;
T5(OBp, OBa, OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp,
k_Oc,P_PTH,dis1,dis2,dis3,OCy)=DOCu*OCu*PIact(RANKL(OBp,OBa,OCp,p,d,P_PTH,dis1,dis2,dis3,OCy)/K_
actOC_RANKL)*PI_actOCu_MCSF*gOCu(p, k_OCp); %PIact cambia
T6(OBp, OBa, OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp,
k_Oc,P_PTH,dis1,dis2,dis3,OCy)=DOCp*OCp*PIact(RANKL(OBp,OBa,OCp,p,d,P_PTH,dis1,dis2,dis3,OCy)/K_
actOC_RANKL)*gOCp(p, k_OCp); %PIact cambia
T7(OBp, OBa, OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp,
k_Oc,dis1,dis2,dis3)=AOCa*OCa*PIact(TGFB(OCa)/K_actOCa_TGFB);
T8(OBp, OBa, OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp, k_Oc,dis1,dis2,dis3)=Dburial*OBa; %primer
término ec. (1.91) TFG Laura B.
T9(OBp, OBa, OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp,
k_Oc,dis1,dis2,dis3,OCy)=AOCy*P_RANKL(EST(p)/EST0,d)*OCy; %segundo término ec. (1.91) TFG Laura
B.

Ff(OBp, OBa, OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp, k_Oc,dis1,dis2,dis3) = T1(OBp, OBa, OCp, OCa,
p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp, k_Oc,dis1,dis2,dis3) - T2(OBp, OBa, OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp,
k_OCp,dis1,dis2,dis3) + T3(OBp, OBa, OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp,
k_Oc,dis1,dis2,dis3);
Fg(OBp, OBa, OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp, k_Oc,dis1,dis2,dis3) = T2(OBp, OBa, OCp, OCa,
p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp, k_Oc,dis1,dis2,dis3) - T4(OBp, OBa, OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp,
k_OCp,dis1,dis2,dis3)-T8(OBp, OBa, OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp,
k_Oc,dis1,dis2,dis3);%incluye nuevo termino por enterramiento de OBa
Fh(OBp, OBa, OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp, k_Oc,P_PTH,dis1,dis2,dis3,OCy) = T5(OBp, OBa,
OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp, k_Oc,P_PTH,dis1,dis2,dis3,OCy) - T6(OBp, OBa, OCp, OCa, p,
d, k_OBu, k_OBp, k_OCp, k_Oc,P_PTH,dis1,dis2,dis3,OCy);
Fi(OBp, OBa, OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp, k_Oc,P_PTH,dis1,dis2,dis3,OCy) = T6(OBp, OBa,
OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp, k_Oc,P_PTH,dis1,dis2,dis3,OCy) - T7(OBp, OBa, OCp, OCa, p,
d, k_OBu, k_OBp, k_OCp, k_Oc,dis1,dis2,dis3);
Fj(OBp, OBa, OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp, k_Oc,dis1,dis2,dis3) = KRES*OCa - KFORM*OBa;
Fk(OBp, OBa, OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp, k_Oc,dis1,dis2,dis3,OCy)=T8(OBp, OBa, OCp,
OCa, p, d, k_OBu, k_OBp, k_OCp, k_Oc,dis1,dis2,dis3)-T9(OBp, OBa, OCp, OCa, p, d, k_OBu, k_OBp,
k_OCp, k_Oc,dis1,dis2,dis3,OCy); %ec. (1.91) TFG Laura B.

%%
% Punto de partida de la simulación. Es el punto de equilibrio de la
% simulación anterior, sin PTH y sin osteoporosis
load('Sin_PTH.mat')
tamano=length(dv);
dv0=dv(tamano); %daño
pv0=pv(tamano);
OBpv0=OBpv(tamano); %partimos del último valor obtenido en la simulación anterior
OBav0=OBav(tamano);
OCpv0=OCpv(tamano);
OCav0=OCav(tamano);
VM0=VM(tamano); %Fracción volumétrica de mineral
fraccion0=fraccion(tamano); %Fracción de ceniza

clear('dv','fraccion','OBav','OBpv','OCav','OCpv','pv','VM','OCyv')

nsteps=1460/DeltaT; % N° de periodos analizados N°días/DeltaTdv=zeros(nsteps,1); (nominal (1460
días, 4 años)

dv=zeros(nsteps,1);
pv=zeros(nsteps,1);
OBav=zeros(nsteps,1);
OBpv=zeros(nsteps,1);
OCpv=zeros(nsteps,1);
OCav=zeros(nsteps,1);
OCyv=zeros(nsteps,1);
VM=zeros(nsteps,1);
fraccion=zeros(nsteps,1);

dv(1)=dv0;

```

```

pv(1)=pv0;
OBpv(1)=OBpv0;
OBav(1)=OBav0;
OCpv(1)=OCpv0;
OCav(1)=OCav0;
%% nueva
OCyv(1)=0.1*OBav0; %población inicial de osteocitos,proporcional a OBav0
%%
VM(1)=VM0;
fraccion(1)=fraccion0;
% Se inicializa la cola que guarda la cantidad de tejido formada en la historia reciente
% En este caso se importa de una simulación anterior
load('vfprev.mat')
%%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
nciclos2=nciclos*DeltaT;
for i=1:nsteps-1
    dia=double(floor(i*DeltaT))+1; %para saber en qué día de la simulación estamos
    P_PTHi=P_PTHd*intermitente(t1,t2,dia);
    disease1=1+(factor_dis1-1)*triangularPulse(0,t_dis,Inf,dia);
    disease2=1+(factor_dis2-1)*triangularPulse(0,t_dis,Inf,dia);
    disease3=1+(factor_dis3-1)*triangularPulse(0,t_dis,Inf,dia);
    dv(i+1)= dano2( dv(i) , def(pv(i),dv(i),fraccion(i)) , nciclos2 , KRES , OCav(i) , fraccion(i)
);
    OBpv(i+1)=OBpv(i) + Ff(OBpv(i) , OBav(i) , OCpv(i) , OCav(i) , pv(i) , dv(i) , 0.25 , 0 , 1 ,
0,disease1,disease2,disease3)*DeltaT;
    OBav(i+1)=OBav(i) + Fg(OBpv(i) , OBav(i) , OCpv(i) , OCav(i) , pv(i) , dv(i) , 0.25 , 0 , 1 ,
0,disease1,disease2,disease3)*DeltaT;
    OCpv(i+1)=OCpv(i) + Fh(OBpv(i) , OBav(i) , OCpv(i) , OCav(i) , pv(i) , dv(i) , 0.25 , 0 , 1 , 0 ,
P_PTHi,disease1,disease2,disease3,OCyv(i))*DeltaT;
    OCav(i+1)=OCav(i) + Fi(OBpv(i) , OBav(i) , OCpv(i) , OCav(i) , pv(i) , dv(i) , 0.25 , 0 , 1 , 0 ,
P_PTHi,disease1,disease2,disease3,OCyv(i))*DeltaT;
    pv(i+1) = pv(i) + Fj(OBpv(i) , OBav(i) , OCpv(i) , OCav(i) , pv(i) , dv(i) , 0.25 , 0 , 1 ,
0,disease1,disease2,disease3)*DeltaT;
    OCyv(i+1)=OCyv(i) + Fk(OBpv(i) , OBav(i) , OCpv(i) , OCav(i) , pv(i) , dv(i) , 0.25 , 0 , 1 ,
0,disease1,disease2,disease3,OCyv(i))*DeltaT;
    %%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
    % MINERALIZACIÓN
    %%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
VM(i+1)=mineral(pv(i+1),KFORM,OBav(i+1),KRES,OCav(i+1),tresid,VFPREV,VM(i),XMINMAX,DT,MINP,XKAPPA
,DeltaT);

fraccion(i+1)=3.2*VM(i+1)/(3.2*VM(i+1)+1.1*3.0/7.0);

% Se actualiza la cola
SUMAVF=0.0;
for j=tresid/DeltaT:-1:2
    VFPREV(j)=VFPREV(j-1)*(1.0-KRES*OCav(i+1)*DeltaT/(1-pv(i+1)));
    if VFPREV(j) < 1e-13
        VFPREV(j)=0.0;
    end
    SUMAVF=SUMAVF+VFPREV(j);
end
VFPREV(1)=KFORM*OBav(i+1)*DeltaT;
SUMAVF=SUMAVF+VFPREV(1);
VFPREV(tresid/DeltaT+1)=(1-pv(i+1))-SUMAVF; % Este elemento final de la cola guarda el resto,
lo que falta para que todos los elementos de VFPREV sumen (1-p)=BVTV

% Si las poblaciones son negativas se ponen a 0
if OBpv(i+1)<0
    OBpv(i+1)=0;
end
if OBav(i+1)<0
    OBav(i+1)=0;
end
if OCpv(i+1)<0
    OCpv(i+1)=0;
end
if OCav(i+1)<0
    OCav(i+1)=0;
end
if OCyv(i+1)<0
    OCyv(i+1)=0;
end
if pv(i+1)<0.001
    pv(i+1)=0.001;
end

```

```

    if pv(i+1)>0.999
        pv(i+1)=0.999;
    end
end

figure(1)
plot(OBav/OBav(1))%para normalizarlo respecto al estado de equilibrio anterior
title('OBav/OBav(1)')
ylabel('OBa')
xlabel('t')
figure(2)
plot(OBpv/OBpv(1))
title('OBpv/OBpv(1)')
ylabel('OBp')
xlabel('t')
figure(3)
plot(OCpv/OCpv(1))
title('OCpv/OCpv(1)')
ylabel('OCp')
xlabel('t')
figure(4)
plot(OCav/OCav(1))
title('OCav/OCav(1)')
ylabel('OCA')
xlabel('t')
figure(5)
plot(pv)
title('porosidad')
ylabel('pv')
xlabel('t')
figure(6)
plot(dv)
title('daño')
ylabel('dv')
xlabel('t')
figure(7)
plot(fraccion)
title('fracción de ceniza')
ylabel('alpha')
xlabel('t')
figure(8)
plot(OCyv/OCyv(1))
title('OCyv/OCyv(1)')
ylabel('OCy')
xlabel('t')

save('osteoporosis_5.mat','OBpv','OBav','OCpv','OCav','pv','dv','fraccion','OCyv')

```


ANEXO B: *DANO2.M*

```
% Diferencias con dano2: las propiedades de fatiga dependen ahora del
% contenido de mineral

% d_old      :   daño del paso anterior
% d          :   daño actualizado
% def        :   deformación en mm/mm
% nciclos    :   n° de ciclos
% KRES       :   volumen de hueso reabsorbido por día y por pM de OCa
% OCa        :   concentración de OCa en pM
% alpha      :   fracción de ceniza, de ella dependen las props de fatiga

function d=dano2(d_old,def,nciclos,KRES,OCa,alpha)

%Primero calculamos las props de fatiga en función del mineral
Nfatiga2 = 1e7;
Ca=398.8*alpha;
%Datos de la correlación lineal de la curva de Currey
%según artículo J Theor Biol (2012)
D1=11.341;      %Pendiente recta de regresión %ctes de la ec.(11) de Martínez-Reina 2008
C1=25.452;      %Ordenada en el origen recta de regresión
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
aux=10^(C1-D1*log10(Ca)); %ec.(11)de Martínez-Reina 2008, calcula la def. última en rotura
Betad=2;        % Se supone que la def. límite de fatiga es la def. última en rotura dividido por
Betad %Tabla 1 de Martínez-Reina 2008
delta2 = 14.1; %es la delta en tracción para Martínez-Reina 2008
C3      = -20; %es la Ct2 de Martínez-Reina 2008
def_ultima=aux*1e6; %Pasamos la deformación última a microdeformaciones

aux=(def_ultima/Betad)^delta2;
Nfatiga=log10(Nfatiga2*aux); %ec.(10)de Martínez-Reina 2008
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%Ahora calculamos el daño

% Pasamos las deformaciones a microdeformaciones
eps      = def*1e6;
Nf       = (10^Nfatiga)/(eps^delta2); %Ec.(6) de Martínez-Reina 2008
% Calculamos el incremento de daño por carga
if eps<4700
    gamma2=-0.01818*(eps-4100)+12; %gamma2 es gamma_t
    C2=(exp(C3)-1)/(10^Nfatiga); %estas dos líneas son las ecuaciones (8) de Martínez-Reina 2008
    N1=exp(C3)-exp(C3*(1-d_old)^gamma2);
    N1=N1/C2/(eps^delta2); %Número de ciclos necesarios para tener d_old con el nivel de
deformación actual
    if N1+nciclos > 0.9999*Nf
        d=0.999;
    else
        aux=exp(C3)-C2*(N1+nciclos)*(eps^delta2);
        aux=(log(aux))/C3;
        d=1-aux^(1/gamma2);
    end
else
    d=0.999;
end
% Calculamos la reparación de daño por remodelación
if d<0.999 % Sólo reparamos si no ha roto
    drep=KRES*OCa*d_old;
    d=d-drep;
    if d<0
        d=0;
    end
end
end
end
```


ANEXO C: MINERAL.M Y CALMINERAL.M

mineral.m:

```
% KRES      : volumen de hueso formado por día y por pM de OBa
% OBa       : concentración de OBa en pM
% KRES      : volumen de hueso reabsorbido por día y por pM de OCa
% OCa       : concentración de OCa en pM
% tresid    : tiempo de residencia del tejido formado
% VFPREV    : array, cantidad de tejido formado hace i días, que queda
% XMIN      : fracción de ceniza promedio que tiene el tejido hoy
% DT        : Mineralization lag time
% MINP      : Duración de la fase de mineralización primaria
% XKAPPA    : Parámetro de velocidad de mineralización
% DeltaT    : Tiempo de integración

function m=mineral(p,KFORM,OBa,KRES,OCa,tresid,VFPREV,VMIN,XMINMAX,DT,MINP,XKAPPA,DeltaT)

DVR=KRES*OCa*DeltaT;          % Tejido reabsorbido en el último incremento de tiempo
DVF=KFORM*OBa*DeltaT;        % Tejido formado en el último incremento de tiempo

% Inicializar la cola

% MINERALIZACION PRIMARIA Y SECUNDARIA DEL TEJIDO FORMADO ANTERIORMENTE
SUMMINER=0.0;
VMPRIM=0.45*1.1*(3.0/7.0)/(3.2*(1.0-0.45));
VMMAX=XMINMAX*1.1*(3.0/7.0)/(3.2*(1.0-XMINMAX));

% Corregido de la rutina FORTRAN
for i=2:tresid/DeltaT
    DELTAVM=calmineral(i*DeltaT,XMINMAX,DT,MINP,XKAPPA)-calmineral((i-1)*DeltaT,XMINMAX,DT,MINP,XKAPPA);
    SUMMINER=SUMMINER+VFPREV(i-1)*DELTAVM;
end
% Cantidad de mineral que gana el ultimo elto de la COLA, que supera
% el tiempo de residencia, se supone que se pone a la máxima fracción de
% ceniza de manera inmediata
SUMMINER=SUMMINER+VFPREV(tresid/DeltaT)*(VMMAX-calmineral(tresid,XMINMAX,DT,MINP,XKAPPA));
% Fin de corregido de la rutina FORTRAN

% Fracción volumétrica de mineral
% Lo que ya había
AUXMINER=(1-p)*VMIN;
% Lo que se añade en el osteoide (por mineralización primaria)
% AUXMINER=AUXMINER+DVF*VMPRIM;
% Esto estaba mal. En el osteoide no se aporta mineral
%%
% Lo que se elimina por reabsorción
AUXMINER=AUXMINER-DVR*VMIN;
% Lo que se acumula por mineralización
AUXMINER=AUXMINER+SUMMINER;

% Se normaliza el contenido de mineral con la fraccion volumetrica
m=AUXMINER/(1-p);

% Comprobamos si lo que ha salido cumple los límites

end
```

calmineral.m:

```
% Función que devuelve el contenido de mineral que tiene un trozo de hueso
% formado hace t días.
% IMPORTANTE: t ESTÁ EXPRESADO EN DÍAS

function miner=calmineral(t,XMINMAX,DT,MINP,XKAPPA)

VMPRIM=0.45*1.1*(3.0/7.0)/(3.2*(1.0-0.45));
VMMAX=XMINMAX*1.1*(3.0/7.0)/(3.2*(1.0-XMINMAX));

if t < DT
    miner=0.0;
elseif t <= MINP+DT
    miner=VMPRIM*(t-DT)/MINP;
else
    miner=VMMAX+(VMPRIM-VMMAX)*exp(-XKAPPA*(t-MINP-DT));
end

end
```

