

# Trabajo Fin de Máster

## Máster en Ingeniería Industrial

### Caracterización in silico del docking site durante el transporte óseo

Autor: Melchor López Montero

Tutores: Esther Reina Romo

Juan Mora Macías

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

Sevilla, 2017





Trabajo Fin de Máster  
Máster en Ingeniería Industrial

# **Caracterización in silico del docking site durante el transporte óseo**

Autor:

Melchor López Montero

Tutores:

Esther Reina Romo

Juan Mora Macías

Dep. de Ingeniería Mecánica y Fabricación

Escuela Técnica Superior de Ingeniería

Universidad de Sevilla

Sevilla, 2017



Trabajo Fin de Máster: Caracterización in silico del docking site durante el transporte óseo

Autor: Melchor López Montero

Tutor: Esther Reina Romo

Juan Mora Macías

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

Presidente:

Vocales:

Secretario:

Acuerdan otorgarle la calificación de:

Sevilla, 2017

El Secretario del Tribunal



*A mi familia*

*A mis amigos*

*A mi mejor compañía*





# Agradecimientos

---

Tras siete años de esfuerzo continuo en esta escuela este texto supone la conclusión de mi vida académica. Siete años en los que no solo he estudiado y he adquirido conocimientos, también me han hecho madurar y ser una persona completamente diferente a cuando llegué. Numerosas experiencias, frustraciones y victorias que terminan en la obtención de un título, un símbolo de victoria personal, la consecución de un objetivo que se ha mantenido firme a pesar de las adversidades.

La labor que se me presenta no es fácil, pues este logro no solo me pertenece a mi como autor de este proyecto. Pertenece a cada una de las personas que de una forma o otra me han ayudado.

En primer lugar me gustaría dar las gracias a mi familia, por su cariño y por inculcarme los valores del sacrificio y la ambición para ser mejor que me han llevado a este lugar, a buscar el reto continuo y no rendirme ante las adversidades.

No más importante ha sido la ayuda por parte de mis amigos y compañeros. Siempre presentes aportando la diversión y la desconexión con los estudios que tan necesaria se me ha hecho.

Agradecer también la labor de los profesores de esta escuela, por darme los conocimientos para poder dedicarme a esta maravillosa profesión que me apasiona. En especial a mis tutores en este trabajo y en el trabajo de fin de grado, Esther Reina y Juan Mora, por permitirme conocer el mundo de la biomecánica y estar siempre a mi disposición ante cualquier problema.

Por último me gustaría dar las gracias a la persona más importante en mi vida actualmente. Si hace dos años eras una tímida mención ahora te mereces mi agradecimiento más grande y sincero. Pilar fundamental en mi día a día. Siempre tienes la forma de hacerme sentir bien. No hay momento que más desee en el día que poder charlar contigo, aunque sea a distancia. Los días se pasan volando por ti y tan volando que ya hace más de dos años que eres parte de mi vida. Nada de esto sería posible sin tu tremenda ayuda y tu compañía. Por todo esto muchísimas gracias María del Carmen.

*Melchor López Montero*

*Sevilla, 2017*



# Resumen

---

El transporte óseo es un ejemplo de distracción osteogénica en el que se genera hueso para cubrir un defecto o falta de hueso mediante la separación gradual de un segmento de transporte. Del movimiento de este segmento se genera dos zonas de conexión entre tejidos, el callo producto del distanciamiento del segmento de transporte con el hueso que permanecía en contacto con él y el docking site o la zona donde se produce el contacto entre el segmento de transporte y el hueso del que se encontraba separado.

En este trabajo se ha buscado caracterizar mediante simulaciones numéricas el docking site en un total de 11 ovejas de raza merina. De estas ovejas se extrajeron un total de 15 modelos de TAC (Tomografía Axial Computerizada) correspondientes con diferentes días desde la cirugía en la que se dio comienzo al fenómeno de transporte óseo.

La caracterización de los diferentes tejidos que componen el docking site se ha realizado utilizando dos metodologías diferentes. En primer lugar asignando propiedades constantes extraídas de la bibliografía (Reina-Romo, 2009) a los diferentes tejidos y en segundo lugar asignando propiedades variables en función de la escala de grises de los TAC's (Shefelbine et al., 2005). Por cada una de las metodologías se ha obtenido una distribución de la rigidez del docking site en función de los días tras la cirugía.



# Abstract

---

Bone transport is an example of osteogenic distraction in which bone is generated to cover a defect or lack of bone by the gradual separation of a transport segment. The movement of this segment generates two areas of connection between tissues, the callus product of the distancing of the transport segment with the bone that remained in contact with it and the docking site or the area where the contact between the transport segment and the bone of which was separated.

In this work we have tried to characterize by numerical simulations the docking site in a total of 11 sheep of merino breed. From these sheep, a total of 15 CAT models were extracted corresponding to different days from the surgery in which the bone transport phenomenon began.

The characterization of the different fabrics that compose the docking site has been done using two different methodologies. First, by assigning constant properties extracted from the bibliography (Reina-Romo, 2009) to the different tissues and secondly assigning variable properties according to the gray scale of the CATs (Shefelbine et al., 2005). For each of the methodologies a distribution of the rigidity of the docking site was obtained according to the days after the surgery.



# Índice

---

<b>Agradecimientos</b>	<b>9</b>
<b>Resumen</b>	<b>11</b>
<b>Abstract</b>	<b>13</b>
<b>Índice</b>	<b>15</b>
<b>Índice de Tablas</b>	<b>17</b>
<b>Índice de Figuras</b>	<b>19</b>
<b>1 Introducción</b>	<b>1</b>
1.1 <i>Estado del arte y motivación</i>	2
1.2 <i>Objetivos</i>	3
<b>2 Antecedentes Biológicos de la Distracción Ósea</b>	<b>5</b>
2.1 <i>Fisiología del tejido conectivo</i>	5
2.1.1 <i>Tejido óseo</i>	6
2.1.2 <i>Tejido cartilaginoso</i>	10
2.1.3 <i>Tejido fibroso</i>	10
2.1.4 <i>Tejido de granulación</i>	12
2.2 <i>Base biológica de la formación de hueso durante la distracción osteogénica</i>	12
2.2.1 <i>Fases de la distracción osteogénica</i>	12
2.3 <i>Base mecánica de la formación de hueso durante la distracción osteogénica</i>	13
2.3.1 <i>Historia del alargamiento de miembros</i>	14
2.4 <i>Factores biomecánicos</i>	15
2.5 <i>Aplicaciones clínicas</i>	16
<b>3 Métodos</b>	<b>19</b>
3.1 <i>Experimento previo</i>	19
3.2 <i>Obtención de los modelos 3D</i>	20
3.3 <i>Mallado</i>	28
3.3.1 <i>Pasos previos al mallado</i>	28
3.3.2 <i>Configuración del mallado</i>	28
3.3.3 <i>Problemas de mallado</i>	31
3.3.4 <i>Presentación mallas definitivas</i>	33
3.4 <i>Aplicación de propiedades mecánicas</i>	34
3.4.1 <i>Segmentación manual</i>	34
3.4.2 <i>Hounsfield Units</i>	38
3.5 <i>Aplicación de las condiciones de contorno y carga</i>	43
<b>4 Resultados</b>	<b>47</b>
4.1 <i>Procedimiento de resolución</i>	47
4.2 <i>Rigidez del docking site</i>	49
4.2.1 <i>Segmentación manual</i>	50
4.2.2 <i>Hounsfield Units</i>	51

4.3	<i>Rigidez del docking site relativa al volumen</i>	52
4.3.1	Segmentación manual	52
4.3.2	Hounsfield Units	55
4.4	<i>Módulo elástico medio del docking site</i>	56
4.4.1	Segmentación manual	56
4.4.2	Hounsfield Units	57
<b>5</b>	<b>Discusión</b>	<b>59</b>
5.1	<i>Análisis de los resultados</i>	59
5.2	<i>Estudio de sensibilidad</i>	64
5.3	<i>Comparación con estudios previos</i>	65
5.4	<i>Conclusiones</i>	67
5.5	<i>Limitaciones del proyecto</i>	67
5.6	<i>Líneas de futuro</i>	67
	<b>Referencias</b>	<b>69</b>



# ÍNDICE DE TABLAS

---

Tabla 3-1:	Rangos de segmentación automáticos de Mimics®.	
	<b>r! Marcador no definido.</b>	<b>¡Erro</b>
Tabla 3-2:	Caracterización de los rangos de Hounsfield Units.	22
Tabla 3-3:	Caracterización de las máscaras según Hounsfield Units.	22
Tabla 3-4:	Número de elementos y nodos de las mallas por oveja.	34
Tabla 3-5:	Propiedades materiales de los tejidos.	37
Tabla 3-6:	Propiedades asignadas a los tejidos.	38
Tabla 3-7:	Relación módulo elástico-densidad personalizada.	41
Tabla 3-8:	Valores de los coeficientes.	44
Tabla 4-1:	Volumen en mm <sup>3</sup> por tejido de cada oveja.	53
Tabla 5-1:	Volumen de los tejidos (mm <sup>3</sup> ).	62



# ÍNDICE DE FIGURAS

---

Figura 2-1: Partes del hueso largo.	6
Figura 2-2: Pasos del proceso de osificación intramembranosa.	8
Figura 2-3: Pasos en la osificación endocondral.	9
Figura 2-4: Tipos de tejido cartilaginoso.	11
Figura 2-5: Tejidos fibrosos.	11
Figura 2-6: Tejido de granulación.	12
Figura 2-7: Fases de la distracción osteogénica.	13
Figura 2-8: Aparato de distracción de Codivilla.	14
Figura 2-9: Tipos de fijadores.	15
Figura 2-10: Aplicación del transporte óseo.	17
Figura 2-11: Alargamiento de miembros.	17
Figura 3-1: Esquema general de los pasos a seguir en el capítulo.	20
Figura 3-2: Histograma de una oveja.	21
Figura 3-3: Ejemplo de radiografía para determinar los rangos de segmentación.	23
Figura 3-4: Definición del segmento de estudio.	23
Figura 3-5: Defectos iniciales de la segmentación.	24
Figura 3-6: Acondicionamiento de la zona de los tornillos.	25
Figura 3-7: Separación de todos los tejidos.	25
Figura 3-8: Definición de las propiedades de cálculo de los modelos 3D.	26
Figura 3-9: Defectos.	27
Figura 3-10: Resultado final del modelo 3D.	28
Figura 3-11: Representación de las curvas del modelo 3D.	29
Figura 3-12: Parámetros de las opciones globales de mallado.	30
Figura 3-13: Parámetros de la configuración de las partes de la malla.	30
Figura 3-14: Parámetros de la pestaña mallar volumen.	31
Figura 3-15: Defectos del mallado: Falta de obtención de curvas.	32
Figura 3-16: Defecto de mallado: Fusión de tejidos.	32
Figura 3-17: Defecto de mallado: No mallado de un tejido.	33
Figura 3-18: Defecto de mallado: Discontinuidad entre tejidos.	33
Figura 3-19: Fusión de materiales en uno único.	35

Figura 3-20: Asignación de propiedades materiales en Mimics®.	36
Figura 3-21: Selección de máscaras en la asignación de propiedades.	36
Figura 3-22: Editor de propiedades mecánicas.	37
Figura 3-23: Relación entre escala de grises y módulo elástico y adaptación a Hounsfield Units.	39
Figura 3-24: Relación final entre Hounsfield Units y módulo elástico.	39
Figura 3-25: Intervalos creados según rangos de Hounsfield Units.	40
Figura 3-26: Propiedades mecánicas de cada intervalo creado.	42
Figura 3-27: Malla de oveja con propiedades según Hounsfield Units.	42
Figura 3-28: Esquema de las condiciones de contorno.	43
Figura 3-29: Esquema de las condiciones de carga.	44
Figura 4-1: Esquema de resolución.	47
Figura 4-2: Desplazamientos en el eje vertical dependiendo de la metodología (Oveja 11)	48
Figura 4-3: Esquema de las secciones de toma de desplazamientos medios.	49
Figura 4-4: Rigidez del docking site por segmentación manual durante los primeros 100 días.	50
Figura 4-5: Rigidez del docking site por segmentación manual.	50
Figura 4-6: Rigidez del docking site por Hounsfield Units durante los primeros 100 días.	51
Figura 4-7: Rigidez del docking site por Hounsfield Units.	52
Figura 4-8: Rigidez normalizada con respecto al volumen en segmentación manual durante los primeros 100 días.	54
Figura 4-9: Rigidez normalizada con respecto al volumen en segmentación manual.	54
Figura 4-10: Rigidez normalizada con respecto al volumen con HU para los primeros 100 días.	55
Figura 4-11: Rigidez normalizada con respecto al volumen con HU.	56
Figura 4-12: Módulo elástico medio asignando propiedades por segmentación manual.	57
Figura 4-13: Módulo elástico medio con Hounsfield Units.	57
Figura 5-1: Rigidez del docking site durante los primeros 100 días con propiedades por segmentación manual y por HU.	59
Figura 5-2: Rigidez del docking site con propiedades por segmentación manual y por HU.	60
Figura 5-3: Rigidez del docking site durante los primeros 100 días incluyendo propiedades del tejido óseo inmaduro obtenidas experimentalmente.	61
Figura 5-4: Rigidez del docking site incluyendo propiedades del tejido óseo inmaduro obtenidas experimentalmente.	61
Figura 5-5: Rigidez del docking site normalizada respecto al volumen para las ovejas 5 y 10 (Caso HU).	63
Figura 5-6: Radiografías de las ovejas correspondientes con los días 35 y 37 tras la cirugía.	63
Figura 5-7: Radiografía del día 29 tras la cirugía.	64
Figura 5-8: Estudio de sensibilidad en el espécimen 277 días tras la cirugía.	65
Figura 5-9: Rigidez del callo y del docking site por segmentación manual.	66
Figura 5-10: Rigidez del callo y del docking site por Hounsfield Units.	66
Figura 5-11: Esquema de investigaciones futuras utilizando la porosidad asignada de forma aleatoria.	68





# 1 INTRODUCCIÓN

---

La distracción osteogénica es un complejo proceso biológico que permite generar nuevo hueso mediante la separación gradual de dos fragmentos óseos. Esta técnica ha ido ganando popularidad debido a los exitosos resultados obtenidos en la cirugía craneofacial y en la elongación de huesos largos. Dentro del empleo en huesos largos existen numerosas aplicaciones clínicas en las que se emplea el proceso, ya pueden ser la elongación de extremidades como el transporte óseo para el tratamiento de no-uniones en fracturas.

En un trabajo anterior se buscó determinar las propiedades del callo de distracción en el proceso de transporte óseo mediante técnicas numéricas (López-Montero, 2015). No obstante, quedó pendiente como investigación futura caracterizar, utilizando el mismo procedimiento, las propiedades del “docking-site”, espacio en el que se conectan la parte distal del segmento de transporte al hueso, y cuya distancia se va reduciendo a lo largo del transporte óseo.

A lo largo de este proyecto se llevará a cabo un estudio para determinar las propiedades del docking site mediante técnicas numéricas. Para ello se partirá de una serie de tomografías axiales computerizadas (TACs) de 11 ovejas de raza merina sobre las que se realizó un experimento previo para determinar la rigidez de los callos de sus metatarsos al ser sometidas a un proceso de transporte óseo (Mora-Macías et al., 2015) y que a su vez se emplearon para determinar numéricamente la rigidez del callo de distracción (López-Montero, 2015).

La disciplina científica en la que este trabajo está confinado es por tanto la biomecánica. La biomecánica tiene por objeto el estudio de las estructuras de carácter mecánico que existen en los seres vivos. Este área de conocimiento se apoya en diversas ciencias biomédicas, utilizando los conocimientos de la mecánica, la ingeniería, la anatomía, la fisiología y otras disciplinas, para estudiar el comportamiento de los seres vivos y resolver los problemas derivados de las diversas condiciones a las que puede verse sometido. La biomecánica está íntimamente ligada a las aplicaciones de la ingeniería a la medicina, tanto a través de estudios experimentales o modelos matemáticos para el conocimiento de los sistemas biológicos, como en este caso la caracterización del docking site durante el transporte óseo.

## 1.1 Estado del arte y motivación

Las propiedades mecánicas macroscópicas del callo de distracción se han estudiado en la literatura tanto *ex vivo* (Ohyama et al., 1994; Floerkemeier et al., 2010) como *in vivo* (Mora-Macías et al., 2015a,b,c; Aarnes et al., 2005; Dwyer et al., 1996). Se han cuantificado las fuerzas (Brunner et al., 1994; Hyodo et al., 1996; Mora-Macías et al., 2015a,b,c) y los desplazamientos (Claes et al., 2002) que participan en el proceso de distracción osteogénica *in vivo*. Por otra parte, se realizaron estudios histológicos y la radiografías para evaluar los tipos de tejido del callo, los modos de osificación y otros parámetros tales como la angiogénesis dentro del callo (Ilizarov, 1989a,b; Aronson, 1994; Aronson et al., 1989; Aronson et al., 1997; Forriol et al., 2010; Kojimoto et al., 1988; Okazaki et al., 1999; de Pablos et al., 1990).

Sin embargo todos los métodos utilizados en estas obras no proporcionan información sobre las propiedades del material del callo de distracción a través de las etapas de la regeneración del tejido óseo a nivel microestructural. Además, no permiten la obtención de las variaciones locales de las propiedades mecánicas dentro del tejido de callo.

La técnica de nanoindentación permite determinar el módulo de elasticidad reducido y la dureza de materiales punto por punto con una alta resolución espacial (Oliver & Pharr, 2011). Se ha aplicado con éxito para evaluar las propiedades mecánicas de los tejidos blandos (Grant et al., 2011; Tracqui et al., 2011; Yuya et al., 2010; Dwyer et al., 1996; Enlow et al., 1990; Floerkemeier et al., 2011) y tejidos duros (Amanata et al., 2008; Leong & Morgan, 2008; Leong & Morgan, 2009; Lucchini et al., 2011; Manjubala et al., 2009; Rodríguez-Florez et al., 2013; Rodríguez-Florez et al., 2014a,b; Kuangshin et al., 2006; Kuangshin et al., 2007). Algunos hallazgos han sido proporcionados por estos estudios en el tejido óseo sobre la influencia de la heterogeneidad nanoescala en la resistencia ósea (Kuangshin et al., 2006; Kuangshin et al., 2007), los cambios en la permeabilidad de hueso (Rodríguez-Florez et al., 2014) o los valores del módulo elástico del callo de cicatrización ósea (Amanata et al., 2008; Leong & Morgan, 2008; Leong & Morgan, 2009; Manjubala et al., 2009). En el último caso, Leong y Morgan (Leong & Morgan, 2008) midieron el módulo de elasticidad de los tejidos dentro del callo durante la curación de la fractura. A pesar de la obtención del módulo de elasticidad para diferentes tipos de tejido, los resultados tenían alta dispersión y el estudio utilizó un solo punto de tiempo durante el proceso de curación del hueso. Manjubala et al. (2009) presentaron, para el tejido óseo del callo durante la cicatrización ósea, los valores medios de la evolución del módulo de elasticidad con el tiempo, la variación espacial con la distancia desde la corteza del periostio y la heterogeneidad por medio de mapas de módulo elástico entre otros. Sin embargo, según los autores, las propiedades mecánicas de los tejidos del callo no fueron evaluadas por nanoindentación durante la distracción osteogénica. La información sobre la variación espacial y temporal del módulo elástico local y la dureza del callo durante la osteogénesis por distracción podría contribuir a aclarar aspectos controvertidos o desconocidos en la literatura acerca de la distracción ósea.

Los métodos vistos para evaluar de las propiedades mecánicas de callo durante el progreso de la osteogénesis por distracción tienen algunas limitaciones. Las radiografías y exámenes clínicos manuales, de uso común en las rutinas clínicas diarias han demostrado ser inexactas (Panjabi et al., 1985; Panjabi et al., 1989; Webb et al., 1996) y no son capaces de proporcionar suficiente información cuantitativa. La evaluación de la rigidez del callo de distracción *in vivo* utilizando fijadores instrumentados proporcionan estimaciones adecuadas de rigidez del callo como puede verse en la literatura (Mora-Macías et al., 2015a,b; Dwyer et al., 1996; Aarnes et al., 2005; Floerkemeier et al., 2011). Sin embargo, no siempre es conveniente o posible utilizar fijadores externos instrumentados. Además, con el último método, la rigidez de medición no se puede proporcionar después de la retirada del distractor. La rigidez del callo después de la retirada distractor puede ser un dato de interés en los casos clínicos o estudios de distracción osteogénica como este trabajo. Por otro lado, los métodos para evaluar las propiedades mecánicas de callos *ex vivo* en experimentos con animales tales como nanoindentación (Leong & Morgan, 2008; Manjubala et al., 2009) o ensayos mecánicos de toda la muestra (Ohyama et al., 1994; Floerkemeier et al., 2010) implican que un grupo de animales tiene que ser sacrificado por cada punto de evaluación de tiempos.



Los métodos no invasivos se han utilizado para evaluar la rigidez tejido óseo *in vivo*, tales como alta resolución de resonancia magnética (Liu et al., 2010), el ultrasonido cuantitativo (Raum et al., 2005) o el análisis por elementos finitos a partir de imágenes de TAC (Shefelbine et al., 2005). A diferencia de las otras técnicas, en la literatura se ha evaluado la fiabilidad de la predicción de las propiedades mecánicas del tejido óseo por medio de imágenes de TAC basadas en análisis de elementos finitos. Harp et al. (1994) demostraron que la rigidez de los huesos cortical y esponjoso, se puede predecir con precisión por imágenes. El contenido mineral de los huesos en un callo de fractura a partir de imágenes de TAC se correlacionó con las mediciones experimentales de la rigidez del callo en un trabajo anterior (Augat et al., 1997). La aplicación del método de los elementos finitos a partir de imágenes de TAC permite determinar la rigidez de una muestra de tejido óseo utilizando una malla de elementos finitos en las que la forma y las propiedades tridimensionales de cada elemento (en función de la escala de grises) se obtienen a partir de imágenes de TAC. Este método se ha utilizado en estudios previos en el tejido óseo maduro (Cattaneo et al., 2001; Gupta et al., 2004), los huesos reconstruidos (Taddei et al., 2003), el hueso trabecular (Müller & Rüegegger, 1995; van Rietbergen et al., 1995), hueso osteoporótico (Newitt et al., 2002) y el callo de fractura (Shefelbine et al., 2005).

El análisis de elementos finitos basado en imágenes de TAC se utilizó para estimar la rigidez del callo durante el proceso de osteogénesis por distracción (López-Montero, 2015). Sin embargo, no se ha estimado la rigidez del docking site por este método.

## 1.2 Objetivos

Los objetivos que se pretenden alcanzar con la ejecución de este trabajo se detallan a continuación:

- El objetivo principal de este trabajo será la determinación numérica de las propiedades del docking site en un total de 15 escenarios diferentes que se corresponden con los días 17, 22, 29, 35, 37, 50, 79, 98, 137, 161, 205, 277, 311, 379 y 471 tras practicar una intervención y su posterior proceso de transporte óseo en ovejas de raza merina. De esta forma se obtendrá una evolución de la rigidez del docking site con el tiempo  
También se describirá la evolución temporal de los tejidos y de las propiedades mecánicas de la zona durante su remodelación con modelos de elementos finitos creados a partir de TACs.  
El procedimiento de modelización se realizará desde dos perspectivas. En primer lugar, tras modelar los tejidos que forman el docking site de forma manual, le serán asignadas a cada uno propiedades constantes diferentes extraídas de la bibliografía (Reina-Romo et al., 2009). En segundo lugar, se hará uso de la escala de grises para asignar las propiedades a los tejidos usando una relación entre modulo de elasticidad y escala de grises (Shefelbine et al., 2005).
- Obtener la variación espacial de los tejidos durante el proceso. A partir de los modelos 3D obtenidos de los TACs se podrá observar como las proporciones de los tejidos en el docking site van evolucionando a lo largo de la osificación.
- Establecer una comparativa entre los resultados obtenidos por cada uno de los métodos propuestos anteriormente.
- Establecer una comparativa entre los resultados obtenidos para en el docking site y los obtenidos para el callo de distracción en el trabajo previo (López-Montero, 2015).
- Determinar la sensibilidad de los resultados a factores como el tamaño de elementos de la malla de elementos finitos.
- Finalmente comprobar la validez de los resultados comparándolos con los obtenidos experimentalmente. Validar el procedimiento o si por el contrario el problema debe ser modelado por otro procedimiento diferente al realizado anteriormente para determinar la rigidez del callo de distracción (López-Montero, 2015) a causa del contacto entre los segmentos de hueso cortical mucho más resistentes que los tejidos blandos o el tejido óseo inmaduro.
- Determinar la influencia del volumen de los tejidos en la rigidez del conjunto.

En las siguientes páginas se describirá el procedimiento utilizado para intentar abordar cada uno de estos objetivos.

Tras presentar el estado del arte, motivación y objetivos, en segundo lugar se presentará el proceso de la distracción ósea. Para ello se describirán los tejidos que aparecen y que influyen en el proceso de la distracción. También se han incluido las bases biológicas y mecánicas de la distracción osteogénica en las que se detallan las fases del proceso y la historia de éste, respectivamente. Finalmente se presentan los factores biomecánicos que influyen así como las aplicaciones clínicas que tiene la técnica.

El tercer capítulo tratará la metodología empleada para la determinación de las propiedades de cada uno de los conjuntos. En este apartado se describirá detalladamente el proceso de modelado de los TACs, mallado y asignación de propiedades. A continuación también se detallará la aplicación de las cargas y condiciones de contorno para su posterior simulación con un programa comercial de elementos finitos.

El cuarto capítulo consistirá en la presentación de los resultados obtenidos siguiendo el procedimiento descrito en el capítulo anterior.

El último capítulo tratará de abordar los objetivos descritos anteriormente, para ello se discutirán y analizarán los resultados, se compararán los procedimientos y se determinará su validez comparándolos con los resultados experimentales. Como conclusión se describirán las posibles limitaciones del trabajo así como futuras líneas de trabajo con las que continuar la investigación.

## 2 ANTECEDENTES BIOLÓGICOS DE LA DISTRACCIÓN ÓSEA

---

Para comprender en profundidad lo descrito en este texto será necesario describir el proceso de la distracción osteogénica. La distracción ósea es un proceso único para la formación de hueso nuevo entre las superficies de segmentos óseos que son gradualmente separados. Bajo la influencia de una tensión, el callo blando se mantiene en el centro de la brecha de distracción mientras que la curación de la fractura rutinaria sucede en la periferia de lo regenerado (Samchukov et al., 2001). Se han observado muchos tejidos además del hueso que se forman bajo tensión, incluyendo la mucosa, piel, músculo, tendón, cartílago, vasos sanguíneos y los nervios periféricos (Ilizarov, 1989a, b; Cope et al., 1999). Por lo tanto, la distracción osteogénica implica un proceso de formación de tejido continuo.

Un ejemplo de distracción osteogénica resulta el transporte óseo, en este proceso se busca reparar una fractura ósea mediante el movimiento gradual de una sección de hueso sano, el segmento de transporte, a través de la región afectada. De este movimiento aparecen dos zonas de osificación, el callo formado por la separación del segmento de transporte y la sección superior del hueso, y el docking site, donde el segmento de transporte se une con el hueso receptor. Esta última región será la que se buscará caracterizar en este texto.

En los siguientes apartados se tratarán la fisiología de los tejidos conectivos, prestando un énfasis especial en los más comunes durante la distracción osteogénica. Además se describirá el proceso desde una visión tanto biológica como mecánica, detallando tanto las fases que intervienen en el proceso como los factores biomecánicos que tienen influencia en él.

### 2.1 Fisiología del tejido conectivo

Los tejidos conectivos comparten un origen común con las células mesenquimales indiferenciadas (células madre) y abarcan los principales constituyentes estructurales del cuerpo. Los diferentes tipos de tejidos conectivos son responsables de dar y mantener forma al cuerpo. Mecánicamente, aportan una matriz que conecta y une las células y órganos y que da apoyo al cuerpo. El principal constituyente del tejido conectivo son las matrices extracelulares que consisten en diferentes combinaciones de fibras de proteínas como el colágeno.

Forman parte del tejido conectivo cartílago, tendones, ligamentos, hueso y tejido adiposo como piel, sangre o linfa (Cowin, 1999). En este apartado se detallarán los principales tejidos que aparecen en la brecha de distracción como son el tejido óseo, el tejido cartilaginoso, el tejido fibroso y el de granulación.

## 2.1.1 Tejido óseo

El hueso es un tejido metabólicamente activo capaz de adaptar su estructura a los estímulos mecánicos y reparar daños estructurales a través de un proceso de remodelación (Robling et al., 2006). Tiene la capacidad de formar nuevos tejidos óseos en lugares que han sido dañados o perdidos, tales como en curación de fracturas o distracción osteogénica.

### 2.1.1.1 Estructura del hueso

A nivel macroscópico, el hueso maduro se puede clasificar en hueso compacto/cortical y hueso esponjoso/trabecular (Figura 2-1). El hueso esponjoso tiene espacios amplios y abiertos rodeados de placas de hueso estrechas y conectadas. Los espacios amplios contienen médula ósea roja y las placas de hueso son trabéculas compuestas por varias capas de laminillas. Por otro lado, el hueso compacto es mucho más denso, con espacios más pequeños y una organización espacial más precisa y gruesa.

El hueso esponjoso se puede encontrar en la epífisis o en las cabezas de los huesos largos mientras que el hueso cortical se localiza en la diáfisis o en las capas más externas del hueso trabecular. La epífisis es una región expandida de los extremos de cada hueso que se articula con otro. Exceptuando las superficies articulares, el hueso está completamente rodeado por el periostio, un tejido fibroso duro, altamente vascularizado y sin nervios realmente importante en la curación del hueso durante la distracción ósea (Delloye et al., 1990; Yasui et al., 1991).

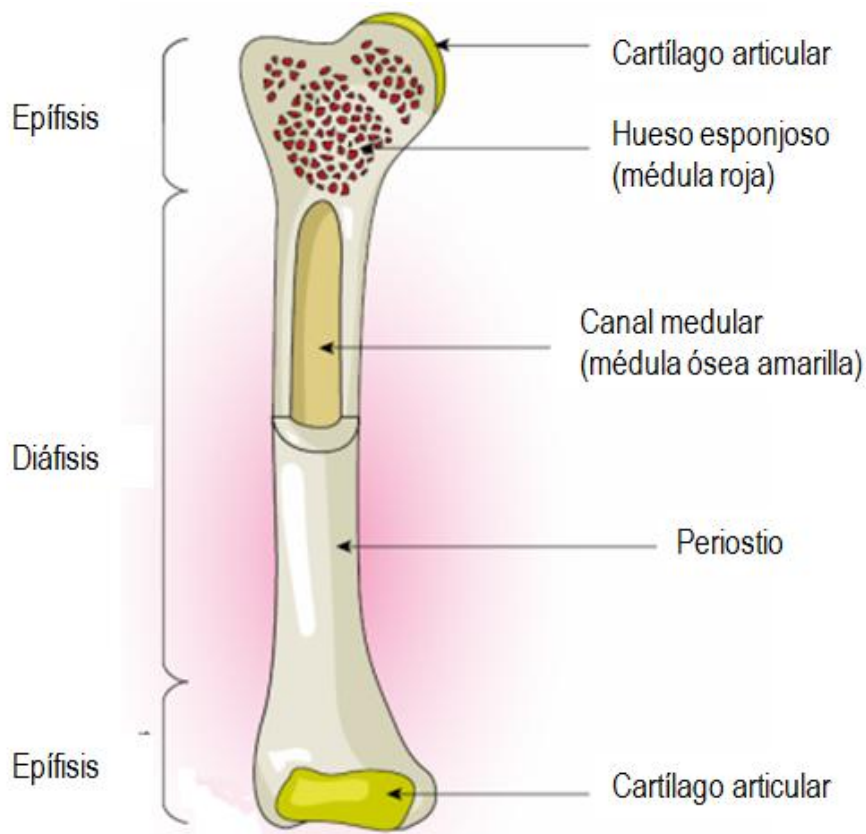


Figura 2-1: Partes del hueso largo.

A nivel microscópico, el hueso se divide en tres categorías:

- El hueso primario o lamelar puede existir en el cortical o en el trabecular.
- El hueso secundario se deposita solamente durante la remodelación y reemplaza al hueso primario cortical o trabecular.
- Tejido óseo inmaduro: Este tipo de hueso se despliega rápidamente como una disposición desorganizada de fibras de colágeno y osteocitos. El patrón desorganizado y la baja proporción de proteínas no colágenas disminuye la fuerza mecánica del tejido óseo inmaduro en comparación con el hueso primario o secundario. La proporción de células por volumen es alta, confirmando la función de dar un apoyo mecánico temporal, como por ejemplo tras lesiones traumáticas o durante la distracción osteogénica, siendo el tipo de hueso que aparece en el callo de distracción y sobre el que se centrará el presente trabajo.

### 2.1.1.2 Células del hueso

Se pueden distinguir tres tipos de células en el tejido óseo:

- Osteoblastos: son células mononucleares de origen mesenquimal que secretan matriz de hueso sin mineralizar (osteóide), que eventualmente se mineraliza para crear hueso maduro. Son las células del hueso que más se generan durante la distracción osteogénica.
- Osteocitos: son osteoblastos terminalmente diferenciados completamente rodeados de una matriz de colágeno. Éstas células son las más abundantes en los huesos, pueden estar tanto en el tejido óseo inmaduro como en el lamelar y pueden actuar como sensores ante señales mecánicas o químicas (Cowin et al., 1991; Lanyon, 1993; Burger, 2001).
- Osteoclastos: son células multinucleares derivadas de la fusión de precursores hematopoyéticos mononucleares que reabsorben hueso mediante la secreción de ácido y proteasas.

### 2.1.1.3 Tipos de osificación

El hueso normalmente se desarrolla por vía intramembranosa o por osificación endocondral. Actualmente está en discusión cuál de los dos métodos se da en el proceso de distracción osteogénica, mientras que algunos autores proponen que solamente se da osificación endocondral (Kojimoto et al., 1988; Kallio et al., 1994), otros abogan por una osificación puramente intramembranosa (Singare et al., 2006; Ilizarov, 1989b; Kallio et al., 1994; Sencimen et al., 2007; López-Pliego et al., 2016). Una combinación de ambas, endocondral e intramembranosa se ha propuesto en otras investigaciones (Fink et al., 2003; Forriol et al., 2010; Krawczyk et al., 2007; Jazrawi et al., 1998; Li et al., 1999; Mizuta et al., 2003; Richards et al., 1999).

La osificación intramembranosa ocurre por la diferenciación directa de las células madre mesenquimales en células óseas que más tarde secretan tejido óseo. Este tipo de formación de hueso comienza cuando un centro de osificación aparece en la membrana de tejido conectivo fibroso (estructuras de soporte) (Figura 2-2.1). Las células mesenquimales centrales forman un grupo y se diferencian en osteoblastos, formando un centro de osificación (Figura 2-2.2). Los osteoblastos comienzan a secretar osteóide, que se mineraliza en pocos días y los osteoblastos atrapados se convierten en osteocitos. El osteóide acumulado se establece entre los vasos sanguíneos embrionarios, que forman una red aleatoria. El resultado es una red de trabéculas (Figura 2-2.3). La mesénquima vascularizada se condensa en la cara externa del tejido óseo y se convierte en el periostio (Figura 2-2.4). Las trabéculas junto al periostio espesan, formando un collar de tejido óseo inmaduro que luego se reemplaza con hueso laminar maduro. El hueso esponjoso, que consta de distintas trabéculas, persiste internamente y su tejido vascular se convierte en la médula roja.

Todos los huesos del esqueleto humano se forman por osificación endocondral, salvo las clavículas y algunos huesos del cráneo como la mandíbula. El proceso (Figura 2-3), que comienza en el segundo mes de desarrollo, se apoya en estructuras de cartílago hialino creadas más rápido como modelos para la construcción del hueso.

La formación de un hueso largo comienza normalmente en un centro de osificación, que se encuentra en el centro de la diáfisis. Primero, el pericondrio que cubre el cartílago hialino se infiltra con vasos sanguíneos,

convirtiéndose en periostio vascularizado. El periostio contiene una capa de células indiferenciadas que posteriormente se convierten en osteoblastos. Dichos osteoblastos secretan osteoide contra la diáfisis de cartílago hialino, envolviéndolo en un collarín de hueso. Esto sirve como apoyo para el nuevo hueso. Mientras el cinturón de hueso se forma, los condrocitos en el primer centro de osificación empiezan a crecer (hipertrofia) y marcan a la matriz de cartílago de alrededor para que calcifique. Desde que el cartílago calcifica se impermeabiliza para difundir nutrientes, los condrocitos se encuentran ante una muerte programada o apoptosis y la matriz se comienza a deteriorar. En el tercer mes, las nuevas cavidades son invadidas por una serie de elementos llamados el brote perióstico, que contiene una arteria y una vena nutrientes, fibras nerviosas y linfáticas, elementos de médula roja, osteoblastos y osteoclastos. Los vasos sanguíneos que forman el brote invaden la cavidad dejada por los condrocitos y la rama en direcciones opuestas a lo largo de la longitud del eje. Los osteoclastos entrantes erosionan parcialmente la matriz del cartílago calcificado, y los osteoblastos secretan osteoide alrededor de los fragmentos restantes del cartílago hialino, formando hueso cubierto de trabéculas de cartílago. A medida que el centro de osificación primaria se agranda, los osteoclastos degradan el hueso esponjoso recién formado para formar la cavidad de la médula ósea en el centro de la diáfisis. Poco antes o después del nacimiento, los centros secundarios de osificación aparecen en una o ambas epífisis. Las células de cartílago se someten a la misma transformación como anteriormente y las epífisis ganan tejido óseo. Cuando la osificación secundaria se ha completado, el cartílago hialino se mantiene sólo en los cartílagos articulares y en las placas epifisarias (Marieb, 2004).

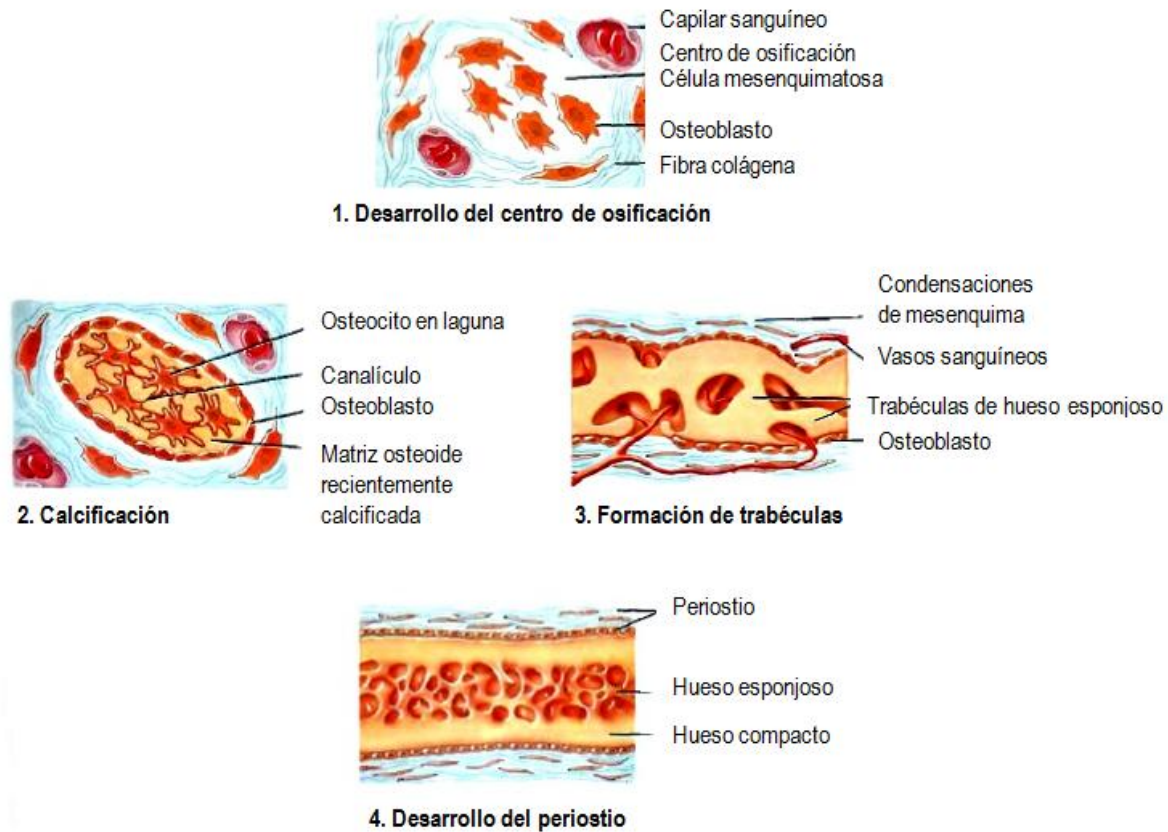


Figura 2-2: Pasos del proceso de osificación intramembranosa.

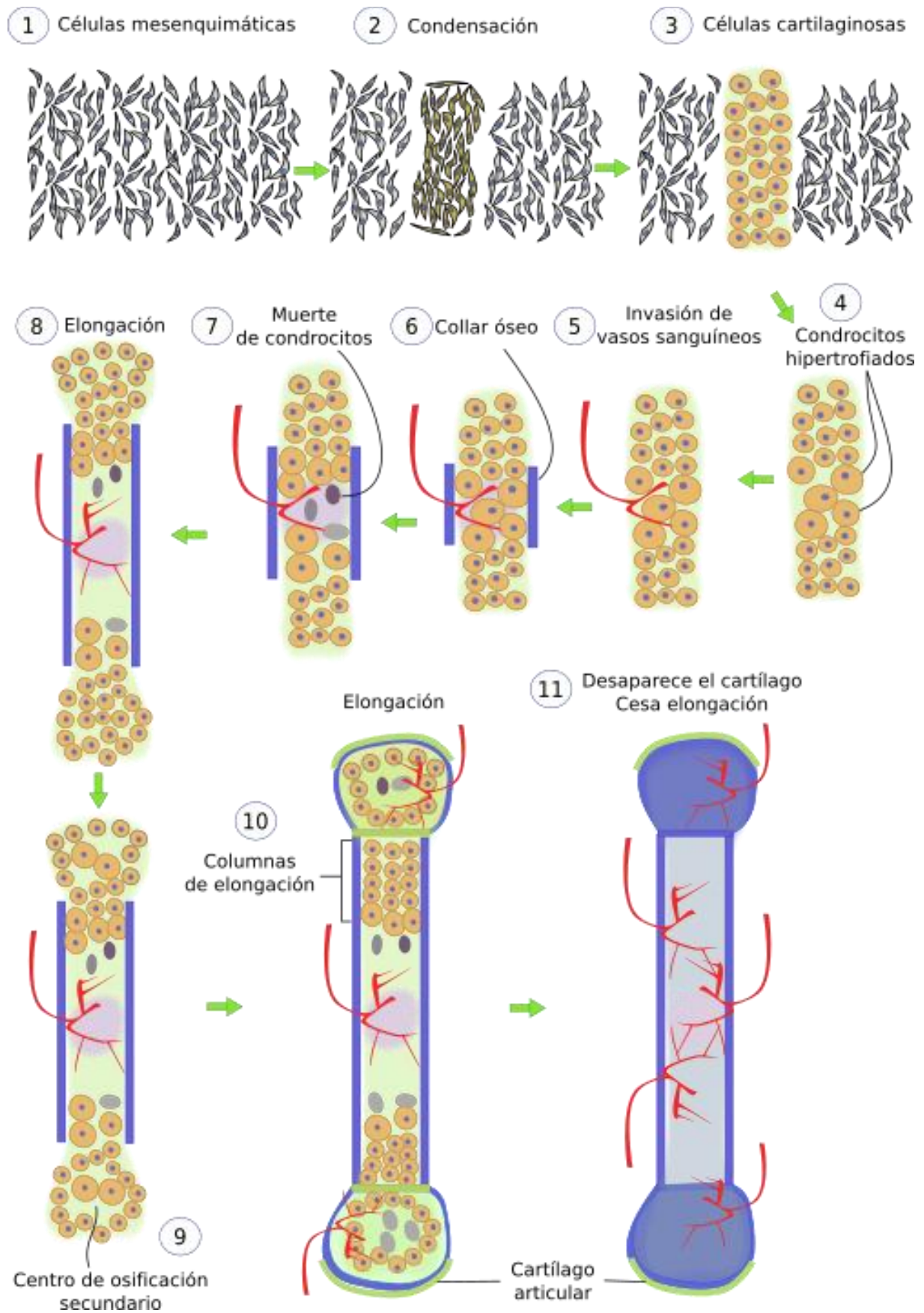


Figura 2-3: Pasos en la osificación endocondral.

#### 2.1.1.4 Composición del hueso

El hueso maduro está compuesto por un 70% de matriz inorgánica, un 20% de matriz orgánica y un 10% de agua. La composición en detalle depende de la especie, la localización del hueso en la anatomía, la dieta y tanto la presencia como ausencia de enfermedades (Kaplan et al., 1994):

- Parte inorgánica: El componente inorgánico del hueso es principalmente hidroxiapatita cristalina en forma de placa,  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$  o HA (Kaplan et al., 1994; Ying, 2001). En la matriz mineralizada de HA pueden estar presentes una pequeña cantidad de impurezas.
- Parte orgánica: Aproximadamente el 90% de la parte orgánica del hueso es colágeno de tipo I, el 10% restante son proteínas no colágenas, como lípidos y otras macromoléculas.

La presencia de cristales da al hueso su rigidez y resistencia a la compresión, mientras que las fibras de colágeno le confieren resistencia a la tensión y dureza (Adams et al., 2006). Las propiedades de retención de agua de los proteoglicanos les permiten “capturar espacio” en el tejido en desarrollo (Adams et al., 2006).

#### 2.1.2 Tejido cartilaginoso

El cartílago es un tipo de tejido conectivo que crece tanto a tensión como a compresión y que tiene propiedades intermedias entre el tejido conectivo denso y el hueso. Es duro pero flexible, aportando rigidez elástica a las estructuras que da apoyo.

Está compuesto de células especializadas llamadas condrocitos y condroblastos que producen una gran cantidad de matriz extracelular compuesta por fibras de colágeno, abundante sustancia fundamental rica en proteoglicanos y fibras de elastina.

El cartílago se clasifica en tres tipos:

- El cartílago hialino es el más abundante del cuerpo. Es un material bastante duro, translúcido y rico en colágeno y proteoglicanos. Cubre los extremos de los huesos para formar una superficie suave en las uniones articulares (Figura 2-4.1). Se encuentra también en la nariz, la laringe, entre las costillas y el esternón, en los procesos de osificación y en la distracción osteogénica.
- El cartílago elástico es similar en apariencia al cartílago hialino, salvo por la presencia de numerosas ramificaciones de fibras elásticas en su matriz (Figura 2-4.2).
- El fibrocartílago se caracteriza por las grandes cantidades de irregulares y densas haces de fibras de colágeno gruesas en su matriz (Figura 2-4.3). Respecto al cartílago hialino y elástico, el fibrocartílago se basa en la alternancia de capas de matriz de cartílago y capas densas y anchas de fibras de colágeno tipo I. Es un material blanco, muy duro que aporta una alta resistencia a la tracción y apoyo.

Dentro de los tejidos conectivos, el tipo de cartílago que aparece en el callo de distracción es el cartílago hialino cuya matriz está compuesta por un denso entramado de fibras de colágeno enredadas en una solución concentrada de proteoglicanos (Bateman et al., 1996).

#### 2.1.3 Tejido fibroso

El tejido conectivo fibroso es un tipo de tejido conectivo que tiene una relativa alta resistencia a la tracción y gran elasticidad, debido a su relativamente alta concentración de colágeno y fibras elásticas. Estas fibras están incrustadas en una matriz formada principalmente por agua, polisacáridos y proteínas. Existen varias categorías de tejido conectivo fibroso:

- El tejido conectivo laxo (Figura 2-5.1) apoya la mayoría del epitelio y muchos órganos que necesitan expandirse como los pulmones, arterias o la vejiga. Rodea los vasos sanguíneos y nervios, y se encuentra



también entre músculos y en el callo de distracción durante la fase de latencia de la distracción osteogénica (Pietrzak, 2008). Hay tres subclases: areolar, adiposo y reticular (Marieb & Hoehn, 2007).

- El tejido conectivo denso (Figura 2-5.2) tiene fibras de colágeno como su elemento matricial principal. Existen dos subclases: regular o irregular.

Cuando se produce una desunión o pseudoartrosis durante la distracción osteogénica pueden aparecer dos tipos de tejidos en función de la desunión (Ilizarov & Gracheva, 1971). Si la pseudoartrosis es rígida, el tejido entre los extremos del hueso es denso y fibroso o tejido fibrocartilaginoso mientras que en desuniones móviles el tejido es conectivo laxo (Khaleel & Pool, 2003).

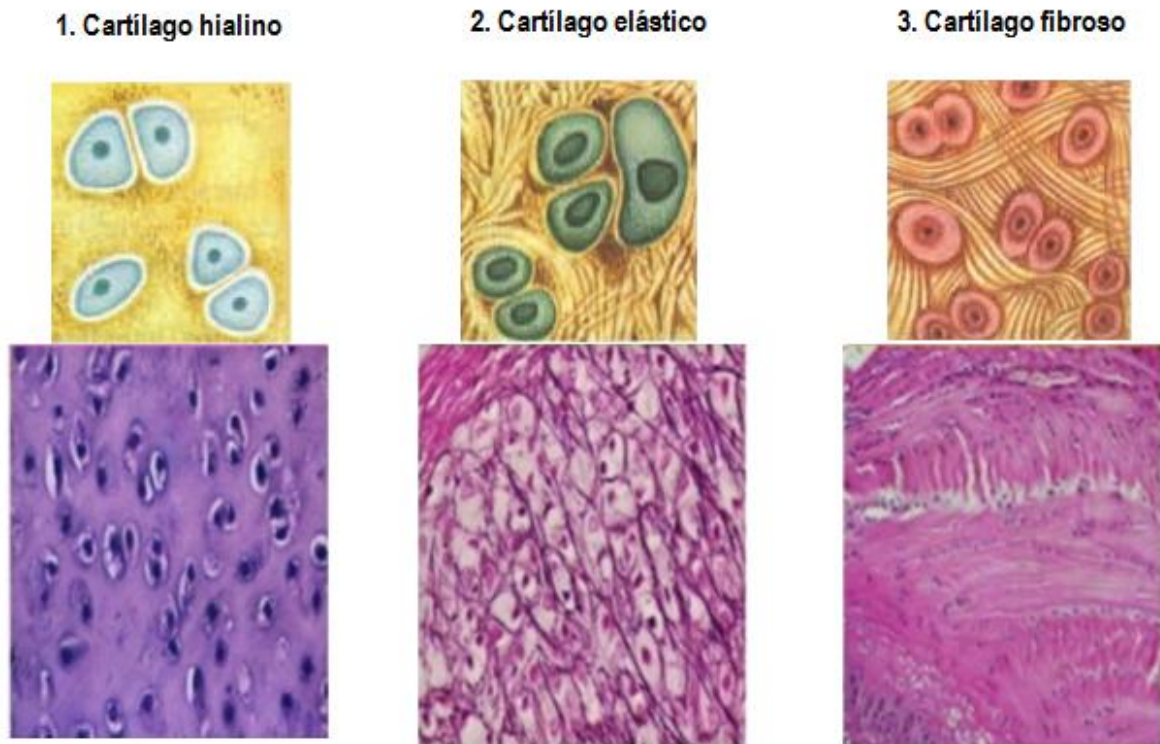


Figura 2-4: Tipos de tejido cartilaginoso.

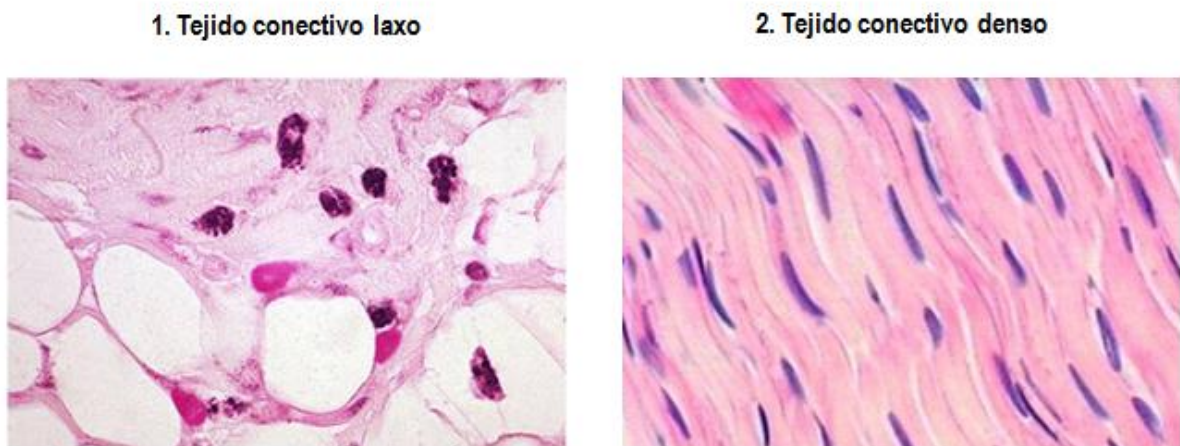


Figura 2-5: Tejidos fibrosos.

### 2.1.4 Tejido de granulación

El tejido de granulación (Figura 2-6) es un tejido conectivo débilmente organizado que reemplaza el coágulo de fibrina durante la fase de latencia de la distracción osteogénica o durante la fase de inflamación en la curación de fracturas y en curación de heridas. Está compuesto principalmente por células mesenquimales, proliferando fibroblastos, macrófagos, vasos sanguíneos recién formados y sustancia fundamental que incluye colágeno, glicoproteínas y ácido hialurónico (Mulder et al., 2002).

Tejido de granulación

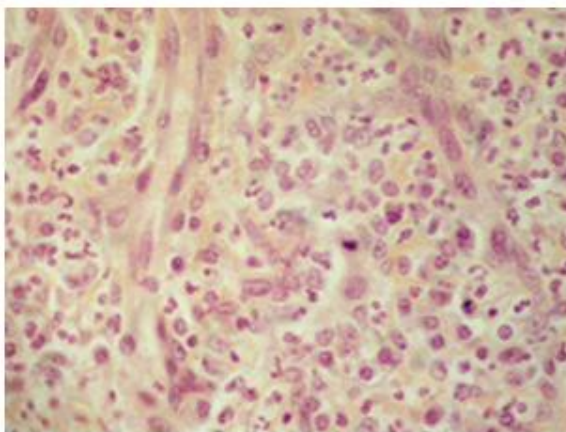


Figura 2-6: Tejido de granulación.

## 2.2 Base biológica de la formación de hueso durante la distracción osteogénica

La distracción osteogénica es una técnica quirúrgica destinada a formar grandes cantidades de tejido óseo. Dependiendo de la localización anatómica donde se induzca el esfuerzo tensional, la distracción osteogénica se puede dividir entre callotaxis (distracción del callo de fractura) o distracción fisaria (distracción de la placa de crecimiento). Este trabajo se centrará en el primer caso basado en el estiramiento gradual del callo de reparación que se forma alrededor de los segmentos de hueso quirúrgicamente separados mediante una osteotomía (Murray, 1996). Este método ha sido utilizado como la técnica de distracción predominante en los modelos experimentales y en las aplicaciones clínicas debido a las muchas complicaciones asociadas a la distracción fisaria (Pietrzak, 2008).

### 2.2.1 Fases de la distracción osteogénica

En el proceso de distracción, hay cinco pasos secuenciales fundamentales en los cuales se producen diferentes fenómenos biológicos:

- Osteotomía: En esta fase el hueso es quirúrgicamente dividido en dos segmentos, con la consiguiente pérdida de continuidad y de integridad mecánica. Los fragmentos de hueso son posteriormente fijados a un distractor o fijador externo para estabilizar la brecha recién creada.
- Fase de latencia: Este es el periodo entre la realización de la osteotomía y el comienzo de la tracción, durante la cual se forma el callo blando (Figura 2-7.1). Este periodo coincide con los pasos iniciales en la curación normal del hueso.
- Distracción: este es el periodo en el que los extremos del hueso osteotomizado son separados gradualmente formándose nuevos tejidos óseos en el progresivo aumento de la brecha

interfragmentaria (Figura 2-7.2). Durante la aplicación del esfuerzo de tensión, se crea un microambiente dinámico (Delloye et al., 1990). Este ambiente estimula cambios a nivel celular y subcelular. Estos cambios pueden ser caracterizados como un efecto de estimulación del crecimiento y de forma (Kallio et al., 1994; Holbein et al., 1995; Mosheiff et al., 1996).

- Consolidación: el periodo de consolidación es el espacio de tiempo entre el cese de la tracción y la retirada del dispositivo de distracción (Figura 2-7.3). Este periodo representa el tiempo requerido para completar la mineralización del tejido regenerado. Tras el fin de la distracción, el callo de distracción osifica gradualmente y una nueva zona de fibra ósea recorre la brecha.
- Remodelación: es el plazo de tiempo entre la retirada del dispositivo de distracción (y por tanto la aplicación de la carga funcional completa) hasta completar la remodelación del hueso recién formado (Figura 2-7.4). Durante este periodo, la estructura ósea inicialmente creada se refuerza por hueso lamelar de fibras paralelas. Tanto el tejido cortical como la médula se restablecen.

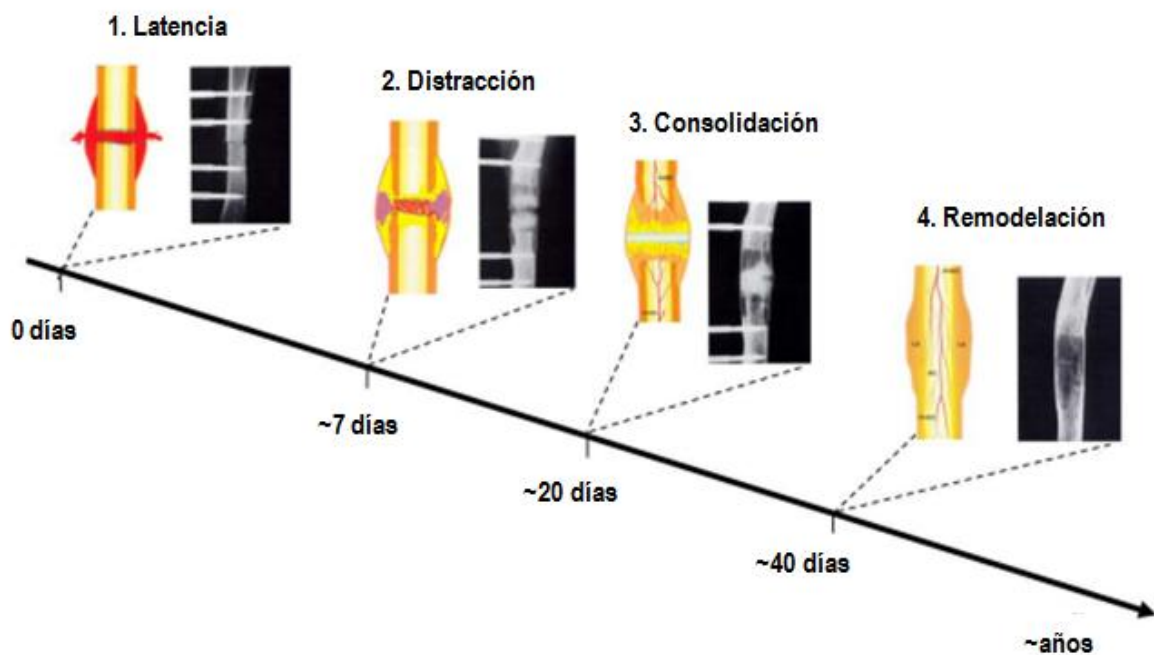


Figura 2-7: Fases de la distracción osteogénica.

## 2.3 Base mecánica de la formación de hueso durante la distracción osteogénica

Las investigaciones clínicas y experimentales han demostrado que el hueso es un tejido sensible a los esfuerzos que reacciona ante el ambiente mecánico imperante (Lanyon, 1987; Riddle & Donahue, 2009). En particular en la distracción osteogénica el ambiente mecánico lo impone el equipo de distracción en influye en la posterior curación.

Para comprender el papel de la mecánica en la distracción osteogénica será de gran ayuda conocer la historia del alargamiento de miembros que representa la evolución de los fijadores.

Dentro de la historia de la distracción osteogénica un nombre sobresale sobre el resto y este es Gavriil Abramovich Ilizarov. El profundo interés en la influencia mecánica en los procesos biológicos llevó a este traumatólogo ruso a desarrollar su conocida ley de "Tension-Stress". Esta ley describe como la tracción gradual de algunos tejidos vivos genera unas tensiones que estimulan y mantienen la regeneración y el crecimiento continuo de ciertas estructuras tisulares, tales como vasos sanguíneos, nervios, piel o huesos.

### 2.3.1 Historia del alargamiento de miembros

Aunque los principios de manipulación de huesos, el uso de tracción en fracturas de huesos largos y el desarrollo de fijadores externos se habían puesto en práctica desde muchos antes, la combinación de estas tres técnicas fue llevada a cabo en primer lugar por Codivilla en 1905 cuando, tras una osteotomía, sometió los fragmentos de hueso a una fuerte tensión usando clavos fijados al hueso (Codivilla, 1905). Su dispositivo empleaba un molde tradicional de yeso, en el cual se colocaba la pierna y se cortaba a la mitad al nivel de la osteotomía. La parte proximal del aparato se sujetaba en un bastidor externo estacionario, y la parte distal se conectaba a un pasador insertado en el hueso calcáneo (Figura 2-8). Se consiguió un alargamiento por tracción en una sola fase de tracción esquelética aplicada en el pin transcalcáneo (Samchukov et al., 2001). Esta única fase de alargamiento se vio complicada por lesiones nerviosas graves y convulsiones persistentes e incontrolables (Codivilla, 1905).

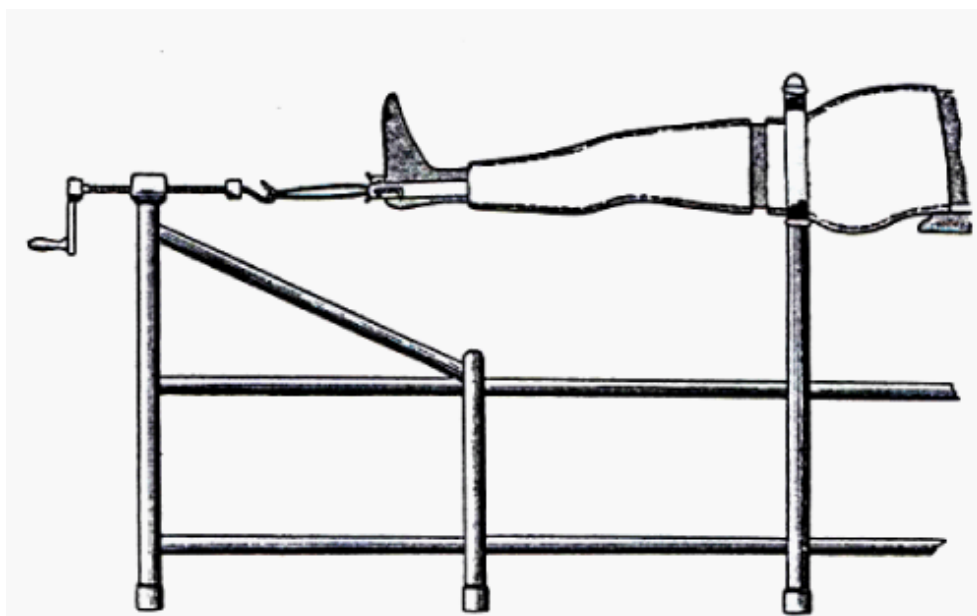


Figura 2-8: Aparato de distracción de Codivilla.

Tras el empleo de varios métodos con grandes tasas de altas complicaciones no fue hasta la introducción de la idea de un periodo de latencia (Abbott, 1927) y la utilización de un fijador monolateral (Putti, 1990, 1934) que la técnica dio unos resultados fiables.

Antes de la aparición de Ilizarov se introdujeron varias modificaciones en las técnicas y se simplificaron los equipos, pero no fue hasta la llegada de este traumatólogo ruso que la técnica no tuvo su mayor desarrollo. En 1951 diseñó un nuevo aparato consistente en dos anillos metálicos unidos mediante barras (Figura 2-9.1). Posteriormente desarrolló una técnica para realizar osteotomías de baja energía y subperiósticas y un protocolo de alargamiento de miembros basado en un periodo de latencia de 5 a 7 días seguido de una fase de distracción de 1 mm al día en incrementos de 0.25 mm (Ilizarov, 1989a,b).

El trabajo de Ilizarov fue desconocido fuera de las fronteras de Rusia durante muchos años, empleándose principalmente la técnica de Wagner (1971) en los países germanohablantes y en Estados Unidos. Este método era simple pero conllevaba numerosas complicaciones con el paso del tiempo.

La aplicación de fijador de anillo Ilizarov en algunas localizaciones o para corregir deformaciones angulares resulta difícil. Es por esto que las deformidades en un plano se pueden corregir empleando fijadores híbridos (Green, 1991; Green et al., 1992) que consiguen aplicar fuerzas o desplazamientos graduales al hueso en cualquier plano o dirección. No obstante, las deformidades en dos o tres planos requieren un fijador Marco Espacial Taylor que genera movimiento simultáneo en varios planos (Figura 2-9.2).

En la actualidad la distracción también puede realizarse empleando fijadores internos formados por dispositivos intramedulares que se colocan en el canal del hueso, llevándose a cabo toda la distracción en el interior de la pierna (Figura 2-9.3).

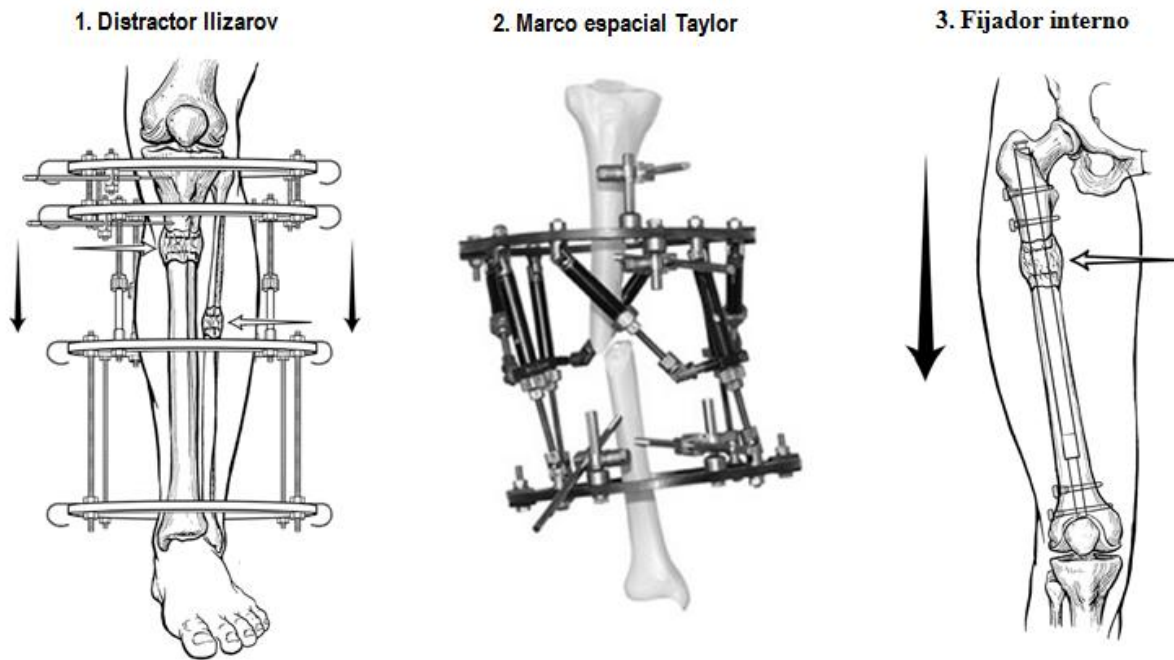


Figura 2-9: Tipos de fijadores.

## 2.4 Factores biomecánicos

El ambiente mecánico en el cual la formación del hueso ocurre clínicamente no ha sido completamente determinado aún. De hecho, hay multitud de factores mecánicos y biológicos que afectan a la calidad y la cantidad de hueso regenerado. Los parámetros principales incluyen:

- **Suministro vascular:** Muchos estudios han sugerido que el suministro de sangre tiene una influencia significativa en la forma y la masa del hueso resultante (Trueta & Trías, 1961; Ilizarov, 1989a; Aronson, 1994). Si el suministro de sangre es inadecuado para apoyar la carga mecánica normal o aumentada, el hueso no podrá responder favorablemente, llevando a atrofias o cambios degenerativos. En contraste, si el suministro sanguíneo es adecuado para apoyar la carga mecánica aumentada, el hueso mostrará cambios hipertróficos compensatorios.
- **Periodo de latencia:** En general se ha establecido que un periodo de latencia tras la corticomía aumenta la formación de hueso (White & Kenwright, 1991; Gil-Albarova et al., 1992; Aronson, 1994; Aronson & Shen, 1994). La duración del periodo de latencia en la mayoría de artículos clínicos (Paley, 1990; Price & Mann, 1991; Dahl & Fischer, 1991; Bonnard et al., 1993; Kenwright & White, 1993; Aronson, 1994; Fischgrund et al., 1994) han establecido entre 3 a 10 días.
- **Velocidad de distracción:** Representa la cantidad total de movimiento de segmento de hueso realizado por día. Una distracción de 1 mm por día sigue siendo el consenso para la formación de hueso en cualquier lugar (Ilizarov, 1989a,b, 1990; Aronson, 1993; Choi et al., 1997; Farhadieh et al., 2000; al Ruhaimi, 2001; King et al., 2003), aunque es posible un rango de proporciones o incluso necesario para muchos tratamientos, como en el alargamiento angular. Velocidades que van desde 0.5 a 2 mm por día han sido fiables en distracción. Sin embargo, con tasas de menos de 0.5 mm por día el hueso puede consolidar prematuramente (Rozbruch & Ilizarov, 2006) y con velocidades de más de 2 mm por día pueden darse la isquemia local en la interzona o el retraso de la osificación (Ilizarov, 1989a,b,

1990; Yashi et al., 1993; Rozbruch & Ilizarov, 2006). En general, el hueso se forma más lentamente en adultos y necesitan tasas de distracción más lentas, mientras que los niños se pueden beneficiar de tasas de más de 1 mm por día para evitar la consolidación prematura de la brecha de distracción.

- Frecuencia de distracción: Se define como en número de incrementos por día en los que la tasa de distracción está dividida. Ritmos de frecuencia más altos dan una regeneración más favorable y causan menos problemas en el tejido blando.
- Edad del paciente: Los pacientes más mayores tienden a curar más lentamente, con mayores retrasos tras los veinte años de edad (Paley, 1990, FIschgrund et al., 1994; Aronson, 1994).
- Longitud de la distracción regenerada: La tasa de curación está directamente relacionada con la longitud de la brecha distraída de forma que a mayor longitud, más tiempo de tratamiento será necesario.
- Factores relacionados con el fijador: Estos afectan a las propiedades mecánicas del equipo de distracción y la estabilidad de la fijación del segmento de hueso. Entre los factores se encuentran el número, longitud y diámetro de los tornillos de fijación, la rigidez del equipo de distracción o las propiedades materiales del equipo.
- Factores relacionados con los tejidos: Los parámetros intrínsecos son también importantes factores que afectan a la calidad y la formación de la regeneración. Estos incluyen el tipo de hueso así como la tensión desarrollada en el tejido blando que lo rodea, el que incluye músculos, ligamentos y fascia.

## 2.5 Aplicaciones clínicas

El empleo de la distracción osteogénica se ha extendido más allá de las aplicaciones en huesos largos, como por ejemplo en el esqueleto craneal con el alargamiento y ampliación mandibular o la distracción maxilar o del medio tercio facial. No obstante este apartado se centrará principalmente en aquellas aplicaciones clínicas más relacionadas con los huesos largos al ser estas las más relacionadas con el proyecto. A continuación se detallan un listado de aplicaciones clínicas:

- Transporte óseo: Fue introducido por primera vez por Ilizarov para tratar defectos de huesos largos que provenían de traumas, resección oncológica o anomalías congénitas (Ilizarov, 1971, 1988). El concepto incluye la resección del hueso patológico seguido del transporte gradual de un segmento de hueso sano osteotomizado (disco de transporte) con un dispositivo de distracción a través del área de defecto. Después de que el disco de transporte alcanza el segmento de hueso opuesto, el tejido fibroso que interviene se elimina a continuación aplicando una compresión entre el segmento de transporte y el hueso receptor en el docking site (Figura 2-10).

La pseudoartrosis congénita de la tibia se trata idealmente utilizando el método de transporte óseo de Ilizarov con la resección abierta de la pseudoartrosis y la fijación intramedular (Paley et al., 1992).

- Alargamiento de miembros: Las anomalías congénitas (defectos de nacimiento) con deficiencias de reducción de extremidades como hemimelia radial y cubital, acortamiento congénito del fémur (Figura 2-11), hemimelia peronea o tibial son las causas más comunes del alargamiento de miembros. Sin embargo, otras causas como las fracturas de la niñez del fémur, osteomielitis, enfermedades neurológicas como parálisis cerebral, displasia (malformaciones) y la destrucción de la articulación de la cadera, la poliomielitis paralítica residual pueden también causar grandes cantidades de acortamiento óseo.

Una aplicación interesante de alargamiento de las extremidades es la capacidad de alargar ambas extremidades inferiores y aumentar la altura. Esto tiene la aplicación más lógica en el enanismo

acondroplásico. La acondroplasia es la más común de las formas de enanismo. No obstante el alargamiento de huesos no solo se aplica al enanismo, actualmente también personas totalmente sanas se someten a un alargamiento de huesos como una operación estética para ganar varios centímetros de altura.

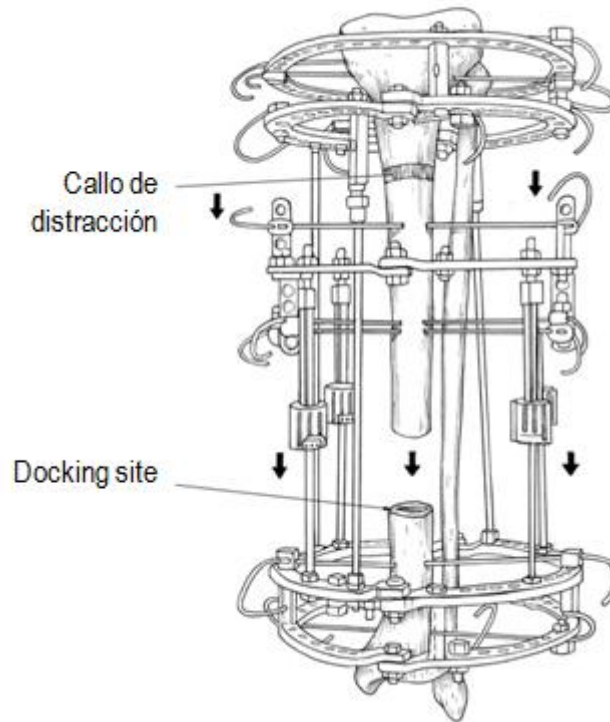


Figura 2-10: Aplicación del transporte óseo.

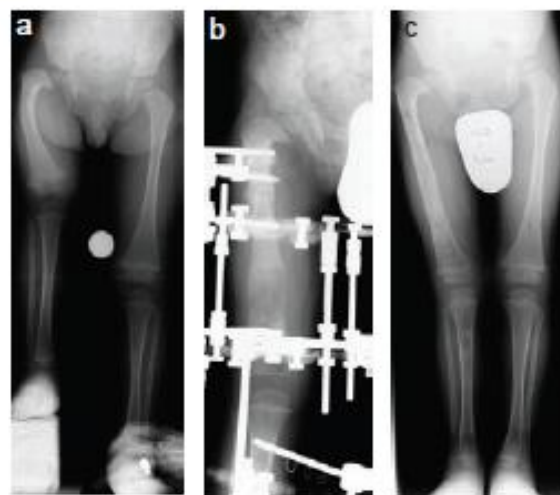


Figura 2-11: Alargamiento de miembros.

a) Paciente de dos años con una deficiencia congénita en el fémur y una diferencia de 8 cm en la longitud de las piernas, b) Alargamiento de fémur corto con un aparato Ilizarov, c) Tras un alargamiento de 7 cm las dos piernas tienen una longitud casi igual.

- Tratamiento de no-uniones: A pesar de los avances en los tratamientos de fracturas, a veces la curación puede dar lugar a no-uniones. Estas desuniones se pueden tratar mediante distracción osteogénica.

- Artrodiastasis: La distracción osteogénica se puede utilizar para corregir gradualmente deformaciones en articulaciones angulares como rodillas, tobillos o caderas y poder así restablecer el movimiento de las articulaciones rígidas.

Reconstrucción de pies: Se ha llevado a cabo para una variedad de condiciones incluyendo deformación de pies no tratada, residual o recurrente en adultos, deformidades post-traumáticas y enfermedades degenerativas de las articulaciones, fusiones de tobillos fallidas y una variedad de deformidades tales como astrágalo vertical (Grant et al., 1992; Paley, 1993; de la Huerta, 1994).



## 3 MÉTODOS

---

En este capítulo se detallarán todos los pasos seguidos para la realización de las simulaciones (Figura 3-1). En primer lugar se describirá el experimento previo en el que se determinaron las propiedades mecánicas de los callos de distracción de las ovejas (Figura 3-1.1) y se obtuvieron los TACs de cada una de ellas (Figura 3-1.2). A continuación se detallarán todos los pasos seguidos para generar los modelos 3D a partir de los TAC del paso anterior (Figura 3-1-3). Seguidamente se explicará la metodología para la obtención de las mallas de elementos finitos de cada modelo (Figura 3-1-4). Tras esto se mostrará el procedimiento que se siguió para asignar las propiedades mecánicas a cada uno de las mallas según los diferentes métodos de cálculo que se querían llevar a cabo, a partir de una segmentación manual y asignación de propiedades fijas (Figura 3-1.5.2) o a partir de las Hounsfield Units (Figura 3-1.5.3). En último lugar se presentarán las condiciones de carga y de contorno aplicadas a las mallas para la posterior simulación (Figura 3-1.6.1 y Figura 3-1.6.2).

### 3.1 Experimento previo

Para la obtención de los modelos 3D de los callos óseos se han empleado un total de 15 TACs realizados a 11 ovejas merinas, con edades comprendidas entre los 3 y los 5 años y un peso de  $53.5 \pm 8.5$  kg (Mora-Macías et al., 2015). El bienestar durante los experimentos de cada una de las ovejas fue garantizado según el comité ético de la Universidad de Sevilla.

El proceso de transporte óseo fue realizado sobre cada oveja empleando un distractor de tipo Ilizarov. Inicialmente el fijador fue implantado en el metatarso de la pierna posterior derecha. El fijador fue colocado en el metatarso con la ayuda de una herramienta auxiliar para dirigir los tornillos y evitar desalineaciones.

A continuación se realizó una cirugía estándar a cada uno de los animales para implantar el distractor. Se realizaron tres osteotomías, obteniendo dos segmentos de hueso. El fragmento distal fue retirado para crear así el defecto, y el proximal, el transportable, fue fijado al distractor antes del corte. Tras un periodo de latencia de una semana, se inició la fase de distracción separando el segmento de hueso transportable 1 mm al día durante 15 días para llenar el defecto, quedando dos zonas de curación diferenciadas. Por un lado el callo de distracción, la zona proximal, que se simuló en estudios previos, (López-Montero, 2015, Mora-Macías, 2017) y por otro, el docking site, que se simulará en este trabajo. Posteriormente, se dio comienzo a la fase de consolidación, hasta que el callo óseo estuviese completamente osificado.

La obtención de los TACs se llevó a cabo en las ovejas variando los días de curación para obtener así una evolución del proceso. Las piezas metálicas del distractor provocaban reflejos al realizar los TACs por lo que se procedió a sacrificar a 9 de las ovejas (correspondientes a los días 17, 22, 29, 35, 37, 51, 79, 98 y 161 tras la cirugía) para detener el proceso. Para evitar la desalineación de los fragmentos de hueso se procedió a congelar las patas de las ovejas antes de retirar el distractor. Los otros dos casos se estudiaron después de que el callo osificara completamente y que el distractor fuese retirado. Por lo tanto, estos animales no fueron sacrificados y se realizaron varios TACs *in vivo* sobre ellos (137, 205, 277, 311, 379 y 471 días tras la cirugía).

Por tanto será necesario procesar un total de 15 TACs. Es decir, se realizarán un total de 15 modelos de docking site, cada uno correspondiente a un día de curación que van desde los 17 a los 471 días tras la cirugía. Modelos a partir de los cuales se realizará toda la simulación objetivo de este texto.

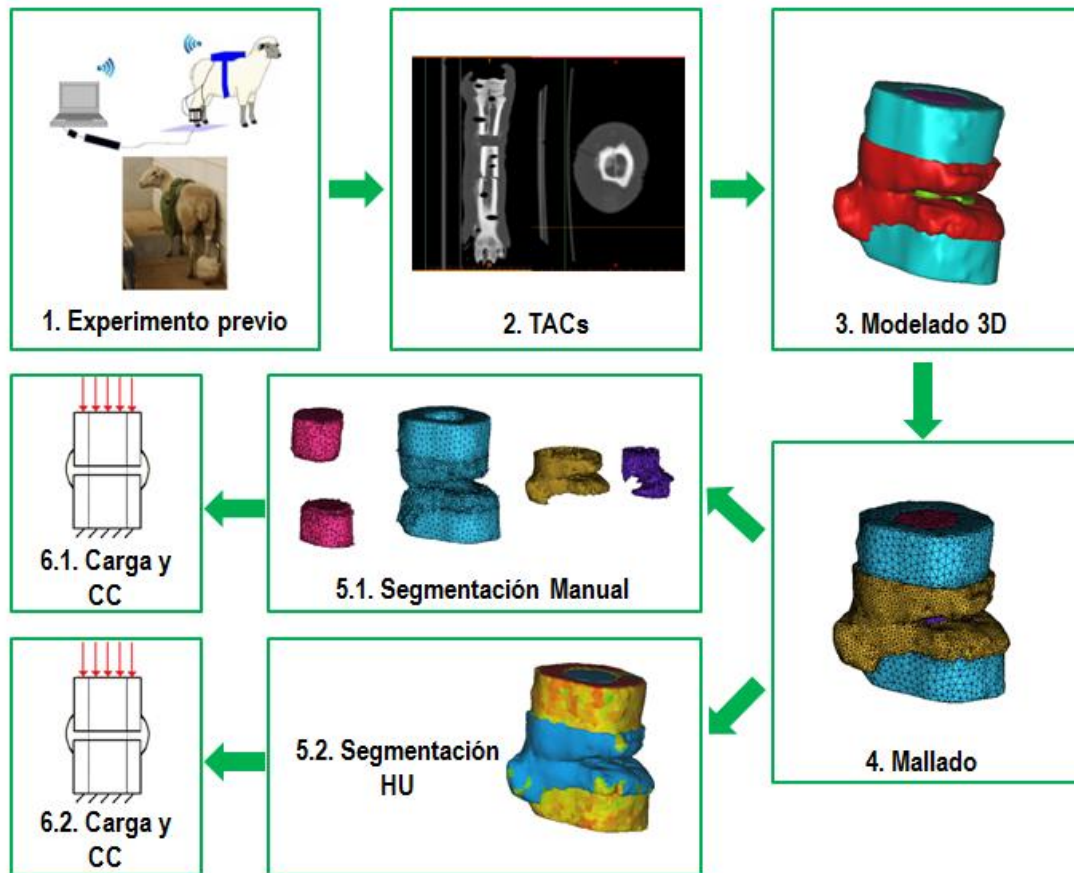


Figura 3-1: Esquema general de los pasos a seguir en el capítulo.

### 3.2 Obtención de los modelos 3D

Para procesar el conjunto de imágenes que forman cada TAC se utilizó el programa comercial Mimics® en su versión 10.0. Este programa permite cargar una serie de imágenes que componen los TAC para formar una imagen 3D del objeto de estudio. Entre sus principales funciones destaca la capacidad de segmentar los tejidos del objeto de estudio utilizando una serie de máscaras. Cada máscara se corresponde con un conjunto de puntos de la imagen 3D que se encuentran en un rango de escala de grises previamente determinado.

Dentro de las opciones del programa se permite la elección de las unidades con las que trabajar, pudiendo utilizar escala de grises o Hounsfield Units (HU). En este caso se emplearon las Hounsfield Units. Esta escala de atenuación de los rayos X varía entre -1024 y 3071 correspondiendo el 0 al valor del agua destilada y el -1000 al aire en condiciones normales de presión y temperatura.

Las máscaras pueden ser editadas para añadir o eliminar secciones y se pueden realizar operaciones booleanas entre ellas que resultarán muy útiles a la hora de diferenciar los tejidos.

Para simular el docking site se diferenciarán dos zonas: una “sana” formada por hueso cortical y medula ósea en su interior y una brecha de tejido que se corresponde con la unión entre los fragmentos de hueso y que estará formada principalmente por tejido óseo inmaduro y tejido blando, pudiendo aparecer también hueso cortical en aquellos casos en los que se han comenzado a soldar los fragmentos. Por tanto serán necesarias al menos cuatro máscaras.

El programa dispone de rangos de HU predeterminados para cada tipo de tejido (Tabla 3-1). No obstante, entre las opciones no se incluyen los tejidos a estudiar. Simplemente se distingue entre tejido blando y hueso. Por lo que los valores se determinarán siguiendo la metodología empleada para el cálculo de la rigidez del callo de distracción en un trabajo previo (López-Montero, 2015).

Tabla 3-1: Rangos de segmentación automáticos de Mimics®.

Máscara	Intervalo Hounsfield Units
Tejido Blando	(-700)-225
Hueso Cortical	226-2332

El rango de escala de grises en cada oveja resulta ser diferente, por tanto previamente a definir los rangos de segmentación será necesario normalizar los valores de escala de grises hasta ajustarlos a un estándar. Para ello será necesario revisar el histograma de cada uno de los TACs (Figura 3-2) en el que se representa el número de elementos, o de puntos en este caso, que tienen asignado un mismo valor de HU. En el caso de la Figura 3-2 se puede observar como el mayor número de elementos se encuentra en los tejidos más blandos. Para determinar el mínimo valor de HU que se considerará se buscará el valor en el que la gráfica comienza a crecer, en este caso en torno a -150 HU, valores más bajos de -150 HU se consideran despreciables. El máximo de HU, correspondiente con el hueso cortical más duro se localiza en torno a 2083. De forma similar se ha determinado los valores máximos en cada uno de los TACs (Tabla 3-2).

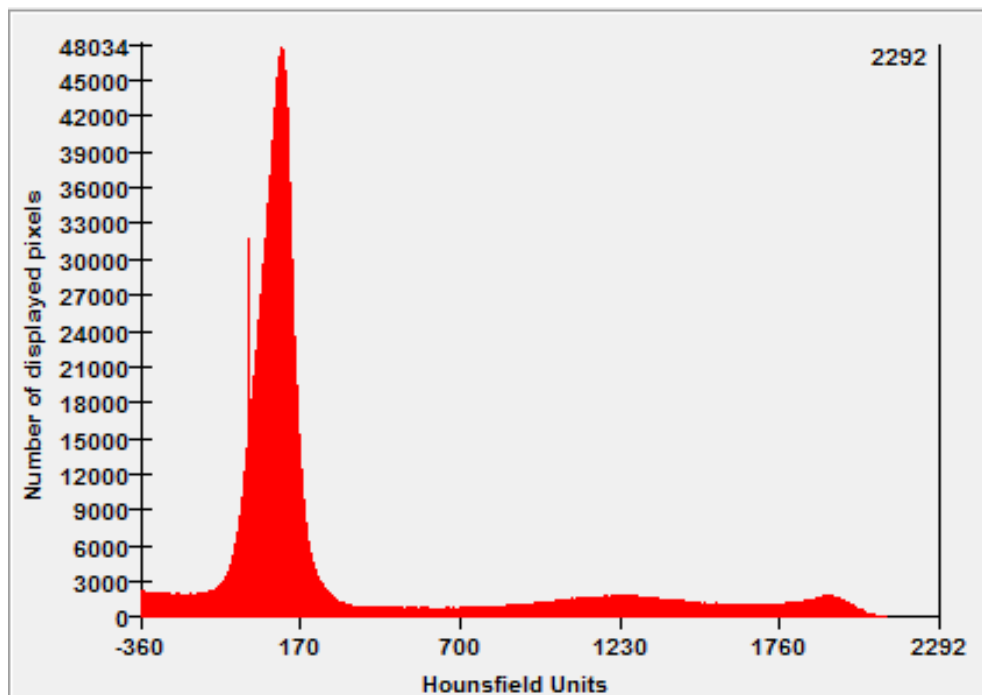


Figura 3-2: Histograma de una oveja.

Tabla 3-2: Caracterización de los rangos de Hounsfield Units.

Oveja (días desde la cirugía)	Valor mínimo (HU)	Valor máximo (HU)
17	-250	2400
22	-200	2250
29	-250	2380
35	-250	2150
37	-250	2350
51	-200	2350
79	-200	2210
98	-150	2200
137	-250	2080
161	-250	2350
205	-250	2190
277	-250	2150
311	-200	2150
379	-300	2250
471	-250	2080

Además de seguir el criterio de la normalización también se han diferenciado los tejidos a partir de las radiografías que se disponen del experimento previo. Con ellas se han podido determinar de una forma más concreta algunos rangos de tejidos (Figura 3-3). Con todo esto los rangos que se han determinado se corresponden con los que se presentan en la Tabla 3-3. Se han unificado en este caso los tejidos blando y medular dado que tienen el mismo rango de HU.

Tabla 3-3: Caracterización de las máscaras según Hounsfield Units.

Máscara	Intervalo Hounsfield Units
Tejidos Blandos	0-133
Tejido óseo inmaduro	134-(799-999)
Hueso cortical	>(800-1000)

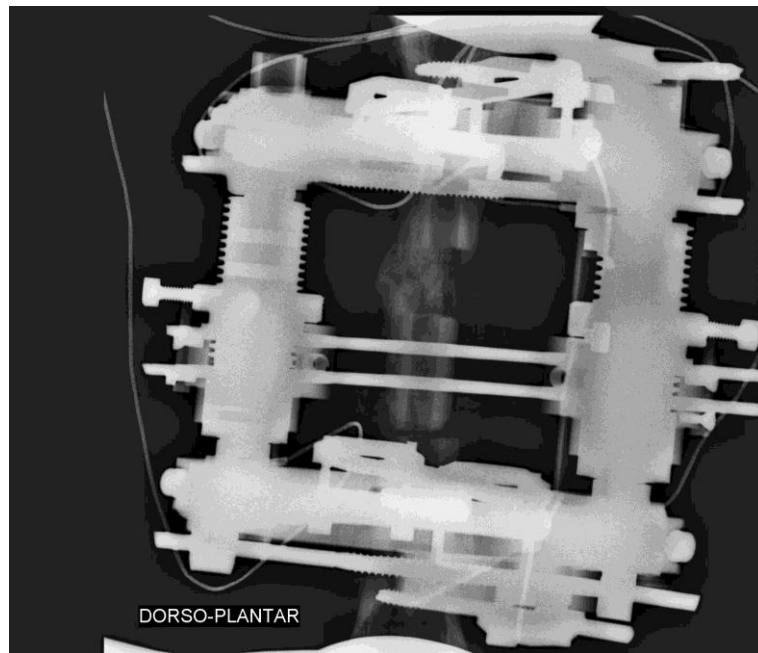


Figura 3-3: Ejemplo de radiografía para determinar los rangos de segmentación.

Una vez umbralizadas las distintas máscaras se buscó normalizar la región de estudio para tener un segmento de las mismas dimensiones en los 15 modelos. El docking site se sitúa en el centro del segmento rodeado de hueso cortical y médula ósea por ambos lados. Dependiendo de la distancia entre imágenes del TAC, que varían entre 0.6 y 1 mm se determinó una longitud del segmento de estudio de entre 19.8 y 20 mm.

Para conseguir este segmento se eliminaron de las máscaras todos las zonas que no formasen parte de él (Figura 3-4).

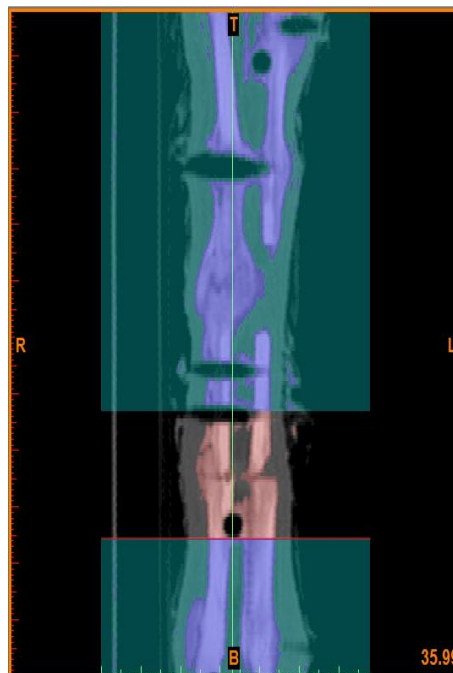


Figura 3-4: Definición del segmento de estudio.

Una vez obtenida la sección de estudio fue necesario acondicionar las máscaras para el posterior mallado. La segmentación llevada a cabo hasta el momento no asegura que todas las regiones del segmento de estudio queden perfectamente delimitadas. En primer lugar, al determinar un límite inferior por encima del mínimo real de HU muchas regiones de los tejidos blandos con valores inferiores no están incluidas, resultando huecos. Por otro lado será necesario incluir en esta máscara todas las regiones no incluida así como eliminar zonas que no se corresponden con el tejido blando, sino con músculo o piel de la pata (Figura 3-5.1).

En el caso de las máscaras del tejido óseo inmaduro y del hueso cortical este problema no es tan acusado. En el caso del tejido óseo inmaduro también existen regiones aisladas que deben ser eliminadas (Figura 3-5.2) mientras que en el hueso cortical estas regiones se encuentran principalmente en el callo de distracción y se añaden al tejido óseo inmaduro.

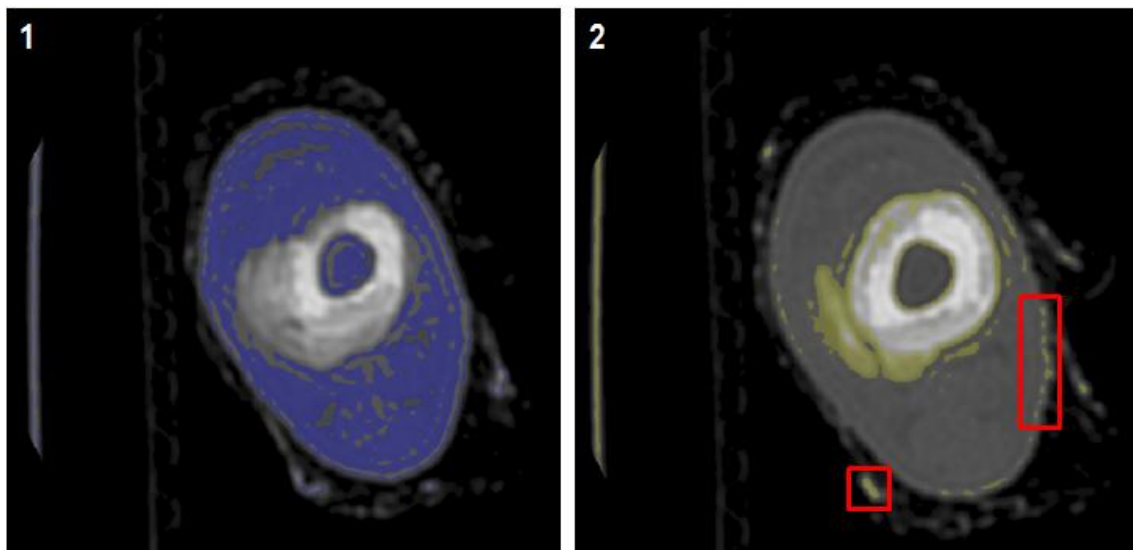


Figura 3-5: Defectos iniciales de la segmentación.

Tras una primera limpieza se procedió a reacondicionar las máscaras en las zonas donde habían estado situados los fijadores del distractor. Los fijadores atravesaban completamente el hueso por lo que tanto la médula ósea como el hueso cortical deben ser corregidos. En la imagen inferior (Figura 3-6.1) se puede observar como el hueso cortical pierde su continuidad y es rodeado por la máscara del tejido óseo inmaduro. Además el tejido óseo inmaduro ocupa las zonas en las que normalmente debería haber médula ósea. En algunas ocasiones el tejido óseo inmaduro generado por los fijadores se une con el del callo de distracción que es el que se pretende estudiar en el trabajo. Por tanto es necesario reconstruir las máscaras y eliminar toda la posible influencia de los fijadores.

Concluida la reconstrucción, se eliminaron tanto el periostio como el endostio que aparecían en la máscara del tejido óseo inmaduro y se llenaron con las máscara de los tejidos blandos todos los huecos que habían quedado vacíos a lo largo de la limpieza, ya fuese en el tejido blando o en la médula ósea (Figura 3-6.2).

En este punto las máscaras ya están acondicionadas pero aún no están los tejidos definidos totalmente. Para separar la médula ósea del tejido blando del callo se emplearon las operaciones booleanas de las opciones de Mimics. Creando una copia de la máscara de los tejidos blandos y eliminando las secciones correspondientes a la médula, es decir, todo el tejido blando que se encuentra rodeado de hueso cortical. Esta máscara corresponde al tejido blando del callo. Si se resta esta máscara a la que se disponía inicialmente el resultado es una máscara con la médula ósea. Así ya se tendrían de cuatro máscaras que corresponderían con los diferentes tejidos (Figura 3-7).

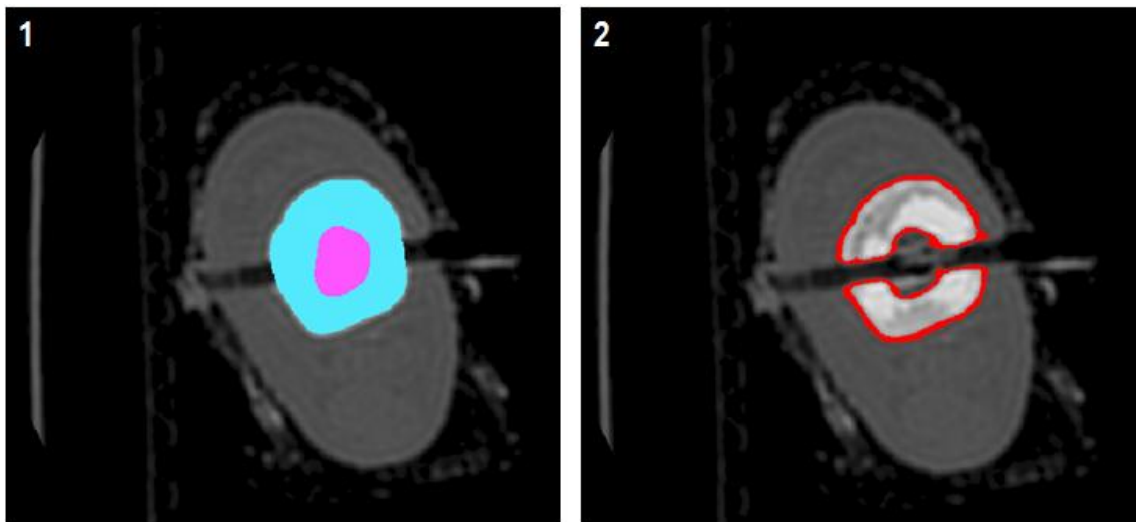


Figura 3-6: Acondicionamiento de la zona de los tornillos.

De las máscaras se obtuvieron cada uno de los modelos 3D correspondientes. La función para calcular modelos 3D del programa ofrece varias opciones de calidad. Dentro de estas opciones se eligió la opción para obtener una calidad personalizada. Esta opción permite elegir entre diferentes parámetros que se fueron cambiando hasta encontrar la opción más adecuada (Figura 3-8). Por ejemplo dentro de la selección del método de interpolación se advirtió que apoyándose en la escala de grises la continuidad entre los tejidos resultaba más adecuada que basándose en el contorno. Misma conclusión se alcanzó en la preferencia de continuidad frente a precisión. Los resultados eligiendo la continuidad eran mucho mejores. Otra opción interesante y la principal razón para elegir esta opción de cálculo personalizado era la posibilidad de suavizar los resultados, eliminando rugosidades que podrían dificultar el posterior mallado de los modelos.

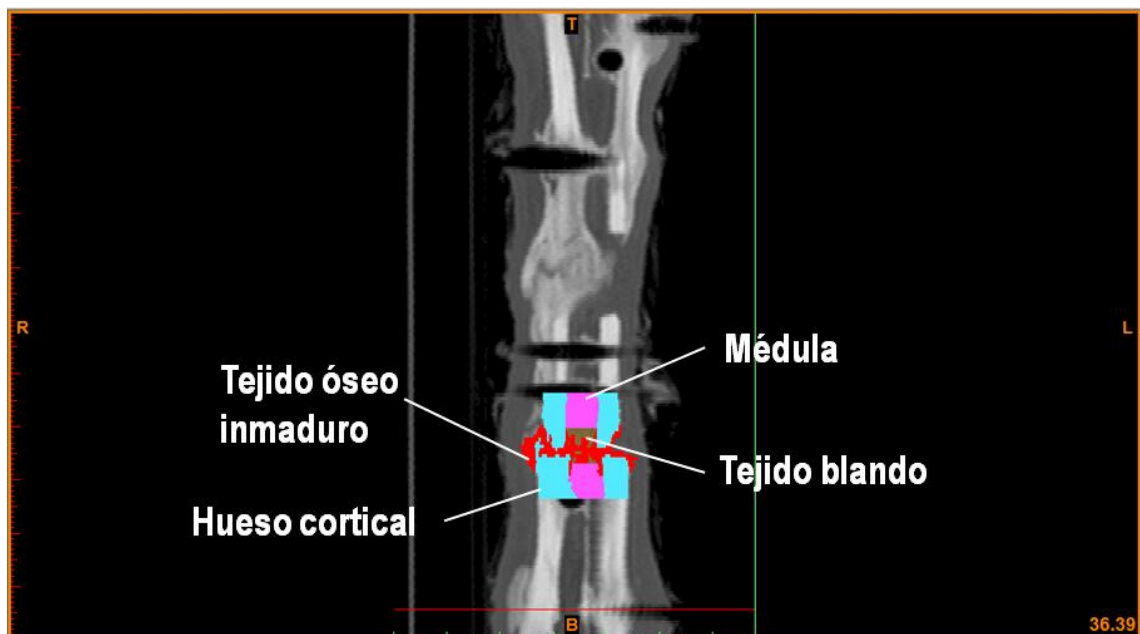


Figura 3-7: Separación de todos los tejidos.

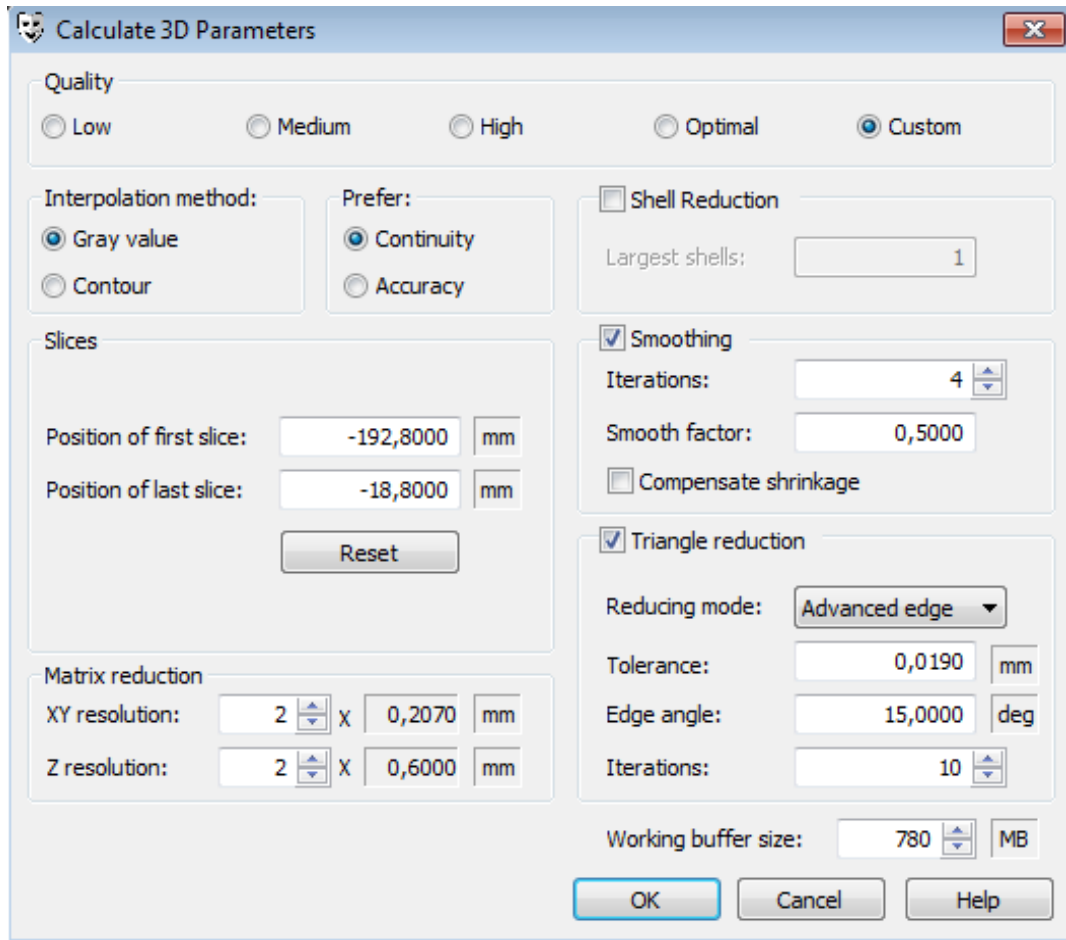


Figura 3-8: Definición de las propiedades de cálculo de los modelos 3D.

Con los modelos 3D se pueden observar más defectos de las máscaras que han de solucionarse. A continuación se presentan varios ejemplos y sus posibles soluciones:

- Restos de limpieza. Es un defecto muy común que se da cuando las máscaras tienen alguna región que no ha sido limpiada por completo (Figura 3-9.1). Es importante realizar una inspección visual en el modelo 3D para evitar que quede cualquier resto.
- Salientes pronunciados. A pesar de la opción del suavizado en la creación del modelo 3D, es posible que éste tenga picos en algunos tejidos que podrían dar errores en la simulación (Figura 3-9.2). Es por tanto necesario editar las máscaras hasta eliminar los más pronunciados.
- Tejidos demasiado finos. Cuando la región de tejido es muy fina el modelo 3D se suele generar con huecos (Figura 3-9.3). En estos casos será necesario engrosar dichos tejidos.
- Un posible fallo que se ha dado en varios modelos es la falta de continuidad entre tejidos (Figura 3-9.4). Este defecto suele darse entre la médula y el tejido blando o entre el hueso cortical y el tejido óseo inmaduro. Principalmente se debe a cambios bruscos en el tamaño y la forma de los tejidos entre imágenes en los TAC.

Por ejemplo entre el tejido blando y la médula suele suceder que la médula tiene una forma bastante definida de principio a fin, sin embargo, el tejido blando tiene una forma más irregular. Cuando se separan los dos tejidos en una imagen de TAC suele aparecer la médula y justo en la siguiente el tejido blando con una forma que no se parece en absoluto a la de la médula. El programa lo interpreta como una discontinuidad y no une los dos tejidos con el consiguiente error en el futuro mallado. La mejor forma de evitar este defecto es editar las máscaras para que cuando se dé el cambio de tejido los dos tengan una forma parecida.



La falta de continuidad se puede dar también cuando los cambios de tejidos no son escalonados. Es decir, cuando se pasa del hueso cortical con altos valores de HU inmediatamente al tejido blando. Este problema es muy recurrente en los extremos del callo de distracción. El método de interpolación basado en la escala de grises toma como una discontinuidad ese cambio tan brusco. Para solventar este caso se deben editar las máscaras para que el cambio de tejidos no sea brusco. Por ejemplo creando una transición con tejido óseo inmaduro.

- Relacionado con el problema anterior pero con un efecto totalmente contrario ocurre en los TACs con baja resolución (normalmente con distancia entre imágenes de 1 mm) que la opción de continuidad del modelado fusiona tejidos en los que existen una discontinuidad. Por ejemplo en la oveja correspondiente a los 22 días tras la cirugía. Si se modela las imágenes aparecerán los dos segmentos de hueso cortical fusionados (Figura 3-9.5.1). No obstante, observando las radiografías tomadas en ese mismo día se puede observar que existe una separación entre ambos segmentos (Figura 3-9.5.2). La distancia entre imágenes del TAC es mayor que la distancia entre los segmentos, por lo que el programa detecta como continuas las dos zonas. En estos casos será necesario editar las máscaras hasta crear la separación.

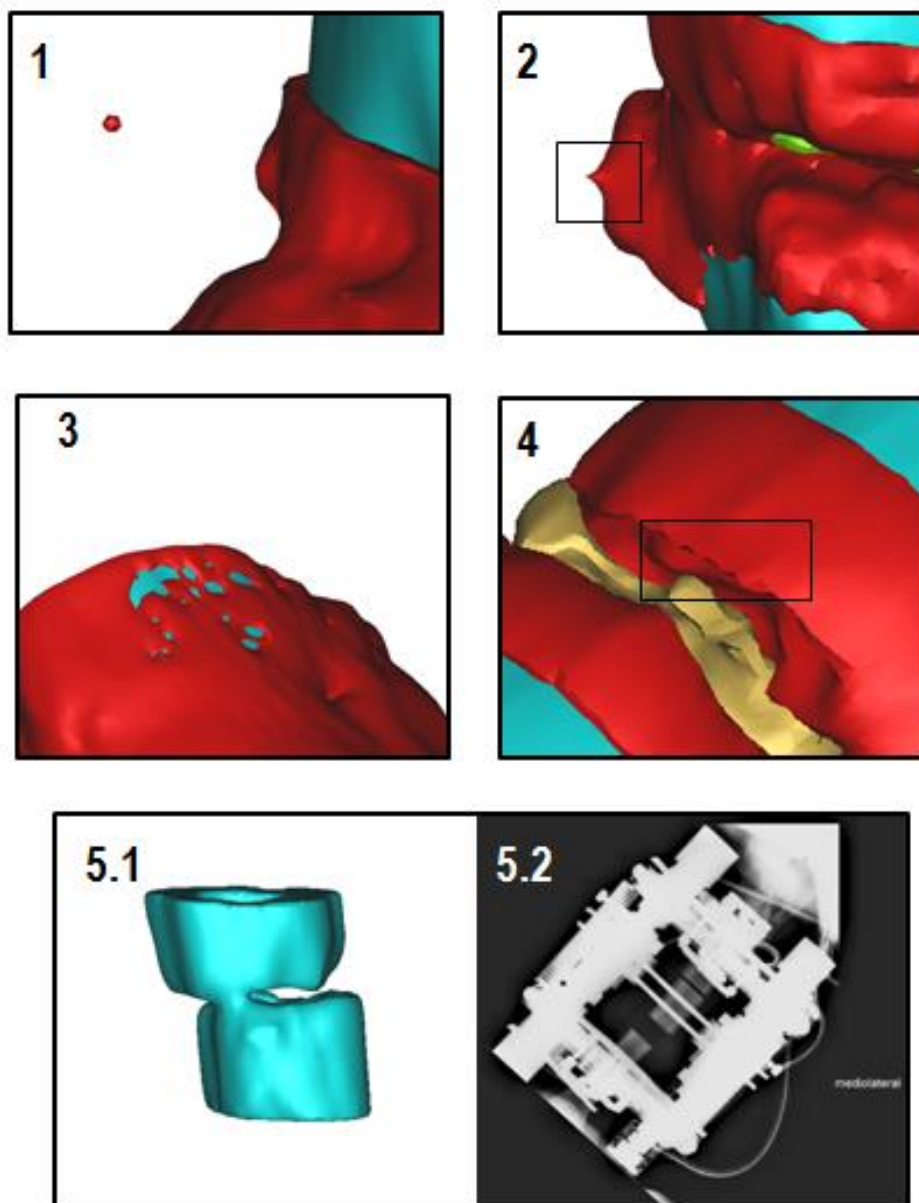


Figura 3-9: Defectos.

En este punto todos modelos están totalmente definidos y se puede pasar a su mallado (Figura 3-10). Para esto cada uno de los tejidos de cada oveja se exporta como un archivo .stl.

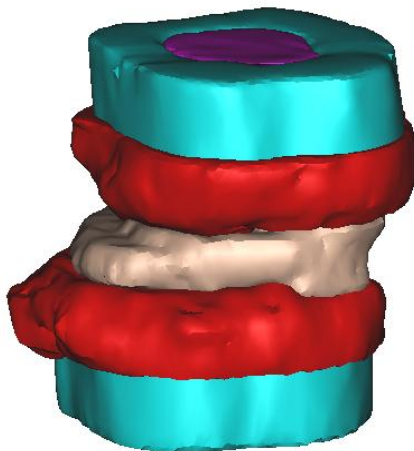


Figura 3-10: Resultado final del modelo 3D.

### 3.3 Mallado

El mallado de los modelos 3D se realizó empleando el programa Ansys Icem CFD® versión 14.5. Este programa permite el mallado de complejos modelos exportados desde otros programas de CAD (Diseño Asistido por Ordenador) con relativa facilidad. Dentro de sus opciones se puede corregir el modelo 3D antes de mallar, editar las mallas e incluso asignar cargas y condiciones de contorno. En este caso el programa simplemente se ha empleado para generar las mallas que posteriormente fueron simuladas.

#### 3.3.1 Pasos previos al mallado

Una vez importados correspondientes a una oveja y antes de proceder al mallado es recomendable extraer las curvas de las superficies (Figura 3-11). La principal razón es que extrayendo las curvas se obtienen unos resultados más precisos ya que los elementos se adaptan mejor a la forma de las curvas cuando se realiza el mallado.

#### 3.3.2 Configuración del mallado

A continuación dentro de la función de mallado aparecen un conjunto de pestañas con opciones que deben completarse antes de mallar para obtener unos resultados óptimos. Las más destacables son la de opciones globales de mallado, los parámetros de las partes de la malla y la pestaña de mallar volúmenes.

##### Opciones globales de mallado

En la primera pestaña de opciones globales de mallado aparece un nuevo menú en el que se pueden cambiar ciertos parámetros del mallado. La selección de parámetros globales se ha mantenido en todos los modelos.

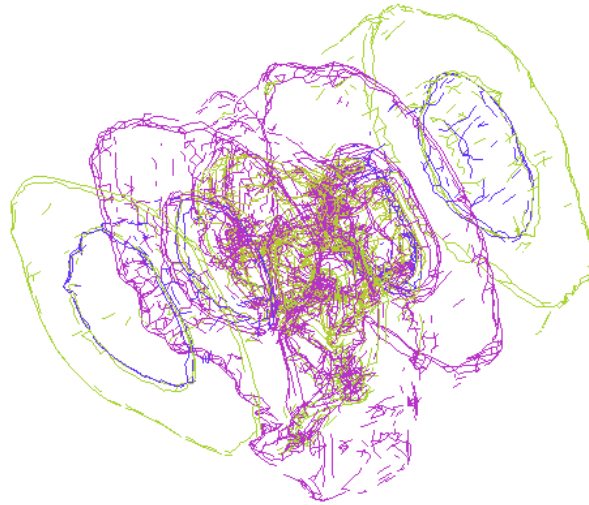


Figura 3-11: Representación de las curvas del modelo 3D.

- Tamaño global de la malla: En esta pestaña se activó la función de refinamiento de la malla basado en la curvatura y la proximidad (Figura 3-12.1). De este modo el tamaño de los elementos irá disminuyendo a medida que se acercan a una curva adaptándose mejor al contorno de los tejidos.
- Parámetros de mallado de volumen: Se activaron las funciones de suavizado (smooth) y de embrutecido (coarsen) de la malla. Con la primera se buscan unas transiciones más suaves entre elementos y con la segunda se busca aumentar el tamaño de los elementos en las regiones donde no se requiere precisión. El número de iteraciones seleccionadas en cada caso fue de 5 y 2 respectivamente (Figura 3-12.2).
- También se activaron las funciones para arreglar huecos y cerrar agujeros que serán de gran ayuda en la obtención de las mallas (Figura 3-12.2).

#### Configuración de las partes de la malla

La configuración de las partes de la malla incluye una serie de parámetros que se puede cambiar para cada uno de los tejidos (Figura 3-13). Variando estos parámetros principalmente es como se han obtenido los resultados más apropiados para cada una de las mallas. Inicialmente todos los parámetros están a cero, lo que indica que el programa tomará unos valores que considere óptimos. En algunos casos pueden resultar útiles pero normalmente es necesario variar algunos de los parámetros.

De la variedad de parámetros que se pueden modificar en este proyecto se ha trabajado principalmente con dos, el tamaño máximo de los elementos (Max size) y el tamaño mínimo límite (Min size limit). Con ellos se busca un tamaño de malla con una relación definición-tiempo de simulación optimizada. Para tejidos con una forma más definida, por ejemplo cortical y médula, estos valores se han tomado más altos para que la malla fuese más gruesa. En el caso del tejido óseo inmaduro y el tejido blando, el tamaño máximo y mínimo de los elementos se ha tomado más bajo para darle así más resolución.

#### Mallar volumen

En esta pestaña se puede seleccionar el tipo de mallado que se quiere llevar a cabo pudiendo elegir entre robusto, rápido o de frente de avance (Figura 3-14). El primero es más recomendable para mallar volúmenes y más intuitivo en sus resultados que los otros dos, más útiles en el mallado de superficies.

Una vez terminada la configuración del mallado se puede pasar a la obtención de la malla. La nueva malla que se crea está formada por elementos de volumen además de elementos de superficie. Los elementos de superficie se incluyen en los modelos que se importaron inicialmente mientras que los elementos de volumen aparecen agrupados en nuevos materiales creados. Los nuevos materiales creados forman conjuntos de

elementos que pueden variar entre un elemento hasta cientos de miles y necesitarán ser agrupados para formar los tejidos.

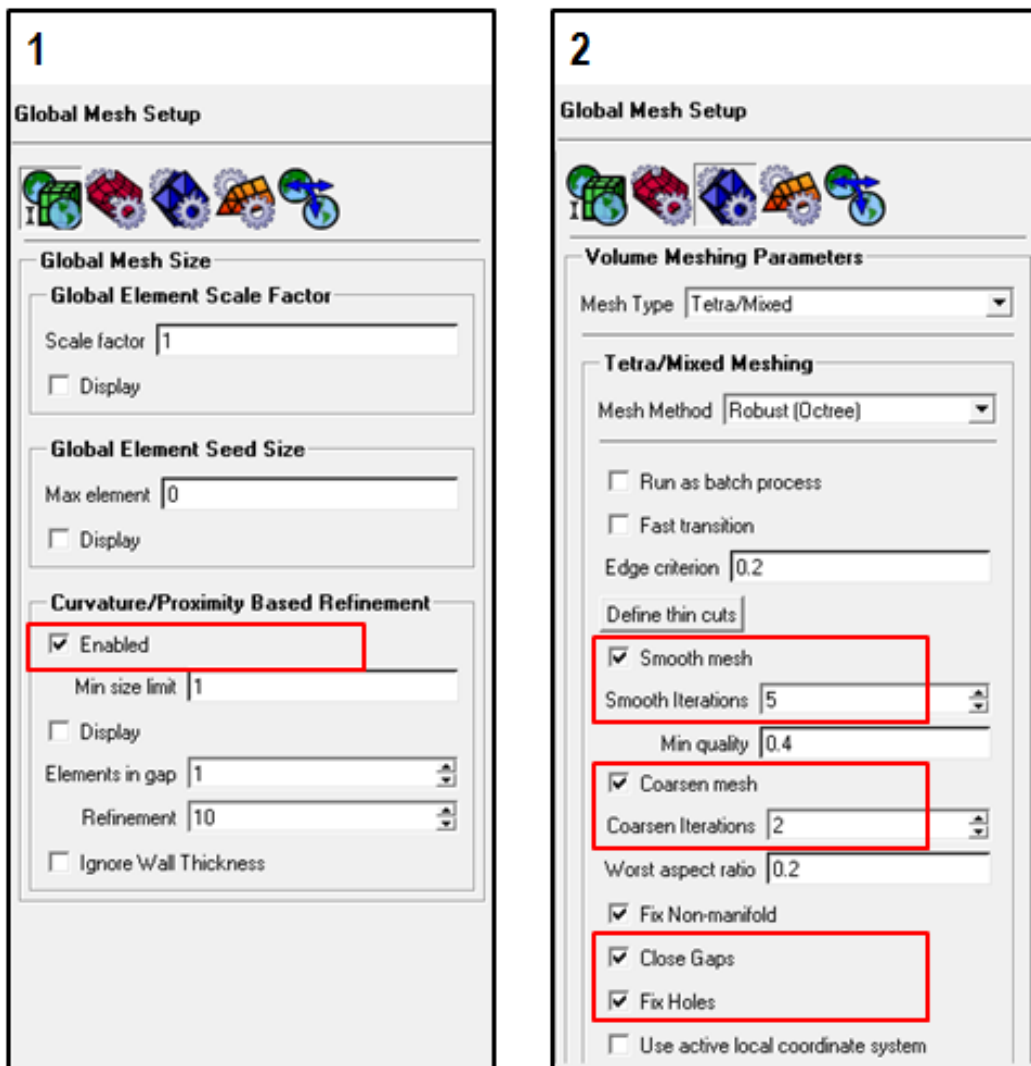


Figura 3-12: Parámetros de las opciones globales de mallado.

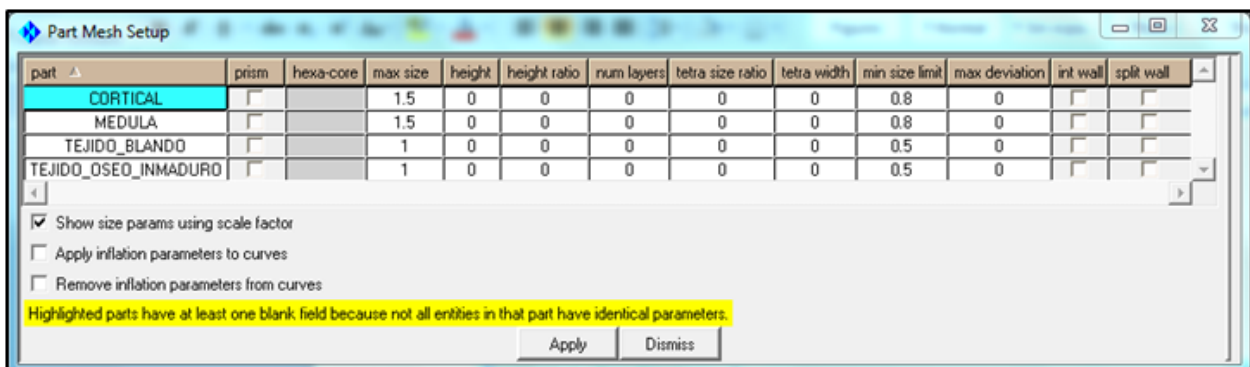


Figura 3-13: Parámetros de la configuración de las partes de la malla.

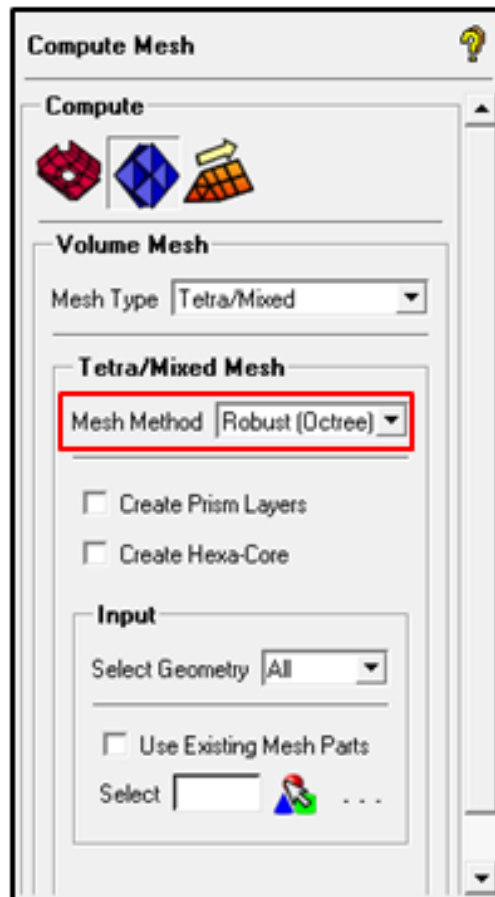


Figura 3-14: Parámetros de la pestaña mallar volumen.

### 3.3.3 Problemas de mallado

Al obtener la malla será necesario realizar una breve inspección para evitar posibles fallos como la presencia de huecos internos, la falta de malla en algún tejido o la fusión de varios tejidos en un nuevo material. Si cualquiera de estos fallos ocurriese o si la calidad de la malla no fuese acorde con las necesidades, bien por imprecisión o por un exceso de elementos, se procedería a variar los parámetros específicos de los tejidos y a mallar de nuevo. En esta sección se mostrarán algunos de los fallos en el mallado más comunes y sus soluciones.

- Falta de obtención de las curvas de las superficies: Realizar este paso resulta crucial para mejorar la calidad y la precisión del mallado. Un mallado no adaptado a las superficies (Figura 3-15.1) resulta mucho más rápido computacionalmente que uno en el que este paso se haya dado (Figura 3-15.2). Sin embargo, la falta de detalle y la complejidad de los modelos a mallar hace que las mallas no sean válidas:
- Fusión de tejidos en la malla: Uno de los fallos más comunes que se han dado durante la obtención de las mallas es que uno de los grupos de elementos de volumen que se crean automáticamente contenga elementos de dos tejidos diferentes (Figura 3-16). Separar ambos grupos de elementos resulta demasiado laborioso por lo que en estos casos se opta por mallar nuevamente el conjunto cambiando sensiblemente los parámetros de mallado de los tejidos que se unen. Normalmente, tejidos con parámetros similares tienden a unirse, por lo que en este caso se busca variar los parámetros para diferenciar los tejidos sin comprometer la calidad del mallado.

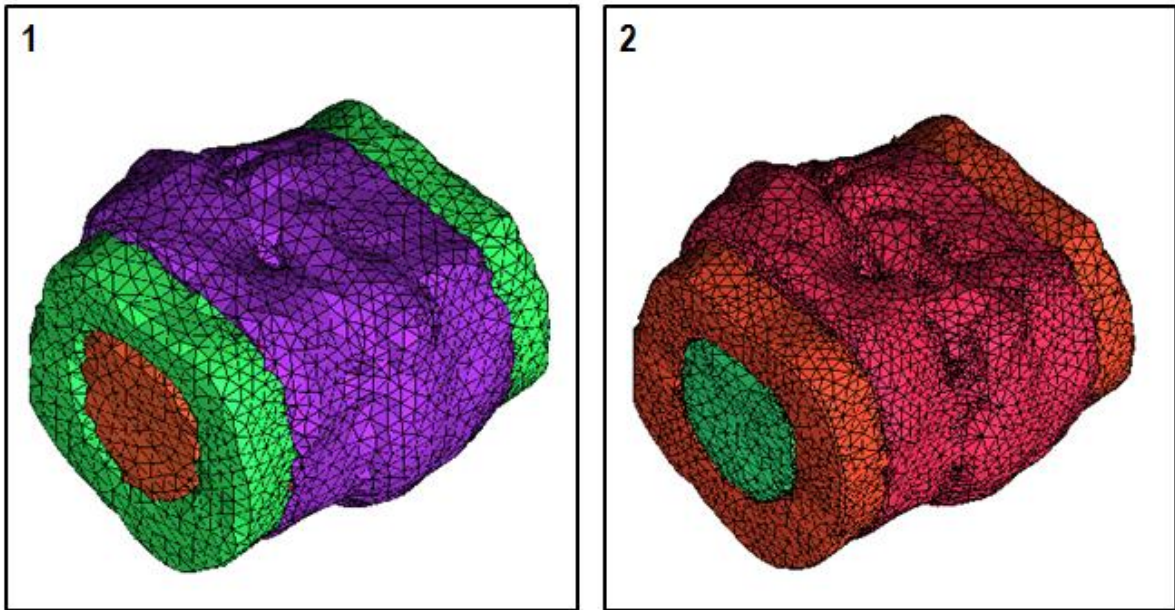


Figura 3-15: Defectos del mallado: Falta de obtención de curvas.

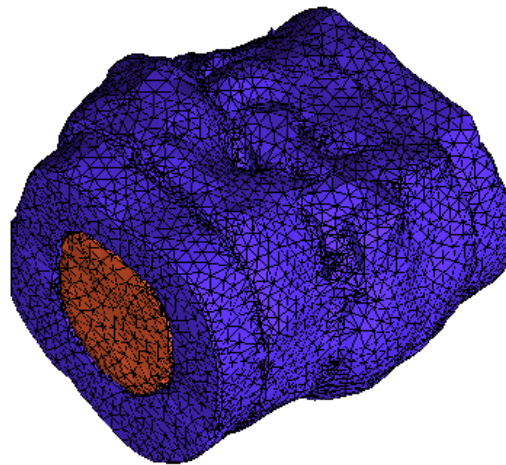


Figura 3-16: Defecto de mallado: Fusión de tejidos.

- No mallado de uno de los tejidos: Es común que durante el procesado el programa aborte el mallado de alguno de los tejidos. En estos casos el programa no muestra ningún error pero al observar la malla se observa como uno de los tejidos no se encuentra (Figura 3-17). La principal razón de este problema es la asignación de unos parámetros de mallado no acordes con el tejido. En este caso una forma de solucionarlo puede ser cambiar dichos parámetros por otros más acordes o eliminarlos por completo y que así el propio programa asigne los parámetros que considera más acordes.

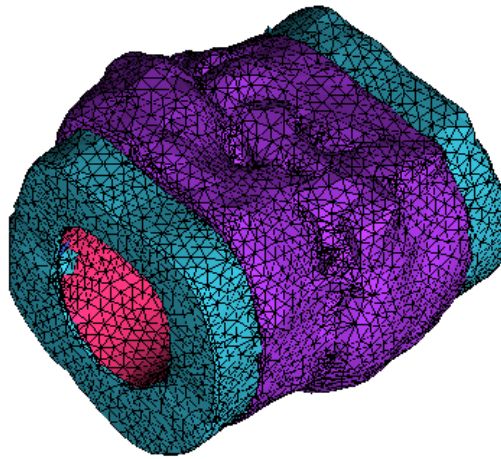


Figura 3-17: Defecto de mallado: No mallado de un tejido.

- Discontinuidad entre tejidos: Como ya se comentó anteriormente, dentro de los parámetros globales del mallado existe la opción de cerrar huecos (Close gaps). No obstante, en ocasiones una vista en corte de la malla muestra errores que superficialmente no se advierten. En este caso los tejidos aparecen desconectados (Figura 3-18). El defecto puede deberse a dos motivos: un modelado con falta de continuidad, como se ha descrito en el apartado 3.2, o por un error en el procesado de la malla provocado por unos parámetros de los tejidos muy diferentes. Por tanto será necesario revisar el modelo 3D buscando discontinuidades y si no es el caso variar los parámetros del mallado.

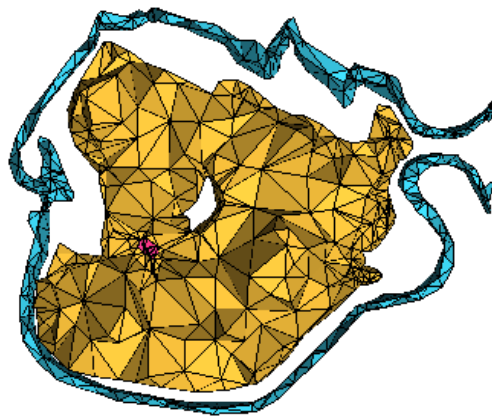


Figura 3-18: Defecto de mallado: Discontinuidad entre tejidos.

### 3.3.4 Presentación mallas definitivas

Tras seguir todos los pasos anteriores se han conseguido un total de 15 mallas correspondientes a las imágenes 3D de los TACs de las 11 ovejas del estudio. Cada una de las mallas representa un día diferente de curación en el proceso de distracción ósea. En el caso de la oveja 5 y 10, que no fueron sacrificadas, se realizaron 3 TACs variando los días. En la Tabla 3-4 se presentan el número de nodos y elementos de las mallas para cada uno de los días de curación.

Tabla 3-4: Número de elementos y nodos de las mallas por oveja.

Oveja (Días tras la cirugía)	Número de elementos	Número de nodos
17	88725	17041
22	87726	16713
29	163532	30607
35	114394	21557
37	86819	17021
51	119292	22797
79	164133	30699
98	308714	56302
137	201788	37072
161	239133	44122
205	359326	62830
277	103522	18628
311	272538	48838
379	114590	20389
471	77129	14680

### 3.4 Aplicación de propiedades mecánicas

Una vez obtenidas todas las mallas de elementos finitos el siguiente paso a seguir será la asignación de las propiedades mecánicas. En este punto el trabajo se divide en dos vertientes. Por un lado la asignación de propiedades fijas a los tejidos diferenciados durante el modelado y por otro la asignación de propiedades dependientes de la escala de Hounsfield Units.

#### 3.4.1 Segmentación manual

El procedimiento de segmentación manual tiene como objetivo asignar unos valores constantes extraídos de la bibliografía a cada uno de los tejidos que se han distinguido en los TACs y que posteriormente han sido modelados.

Ansys Icem CFD® genera diferentes conjuntos de elementos a los que determina como materiales. Será necesario unificar todos los materiales en conjuntos de elementos con la forma de los tejidos a estudiar. Este procedimiento se podrá realizar utilizando el mismo programa. No obstante, su ejecución resulta poco intuitiva y muy laboriosa. En algunas ocasiones no se puede diferenciar si un conjunto de elementos pertenece a un



tejido o a otro por lo que en este texto la segmentación de la malla se ha realizado con el programa Mimics®.

El procedimiento utilizado en este caso pasa por exportar las mallas de Ansys Icem CFD® a Mimics®. Para evitar que se creen diferentes sets de elementos se han unificado todos los elementos a un solo material (Figura 3-19). La exportación se hace eligiendo un archivo .inp compatible con Abaqus®, seleccionando solamente los elementos de volumen, desechando los elementos superficiales, tipo barra y puntos.

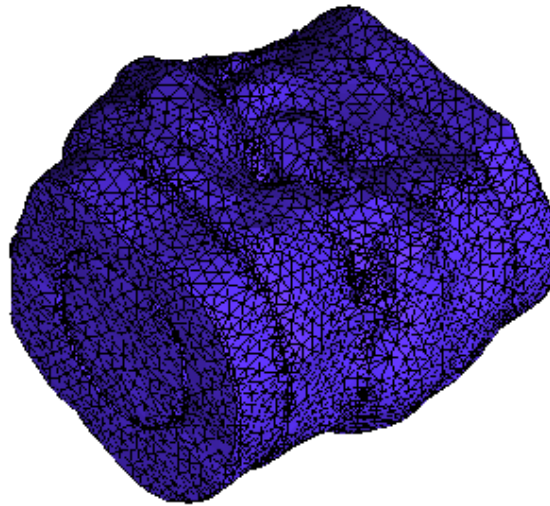


Figura 3-19: Fusión de materiales en uno único.

En este punto se cargará el archivo .inp en Mimics®. Seleccionando la pestaña de materiales en la sección de mallas aparece la ventana de asignación de propiedades (Figura 3-20).

La asignación de propiedades se puede realizar de forma uniforme, estableciendo un número de materiales, de forma controlada con un archivo externo (Look-up file) y en último caso haciendo uso de las máscaras creadas anteriormente. En la segmentación manual esta última opción será la más adecuada. A través de una nueva ventana se pueden seleccionar las máscaras en las que se quiere diferenciar el tejido (Figura 3-21). Una vez seleccionadas las máscaras simplemente será necesario asignar las propiedades a cada grupo de elementos utilizando la pestaña “Material Editor” (Figura 3-22).

En la figura 3-22 se pueden observar 5 grupos de elementos en lugar de 4 como se han definido anteriormente. Esto se produce cuando la malla no es completamente similar al modelo 3D. En estos casos se crea un nuevo material con los elementos que no pertenecen a ninguna máscara. A este material se le asignarán propiedades de tejido blando.

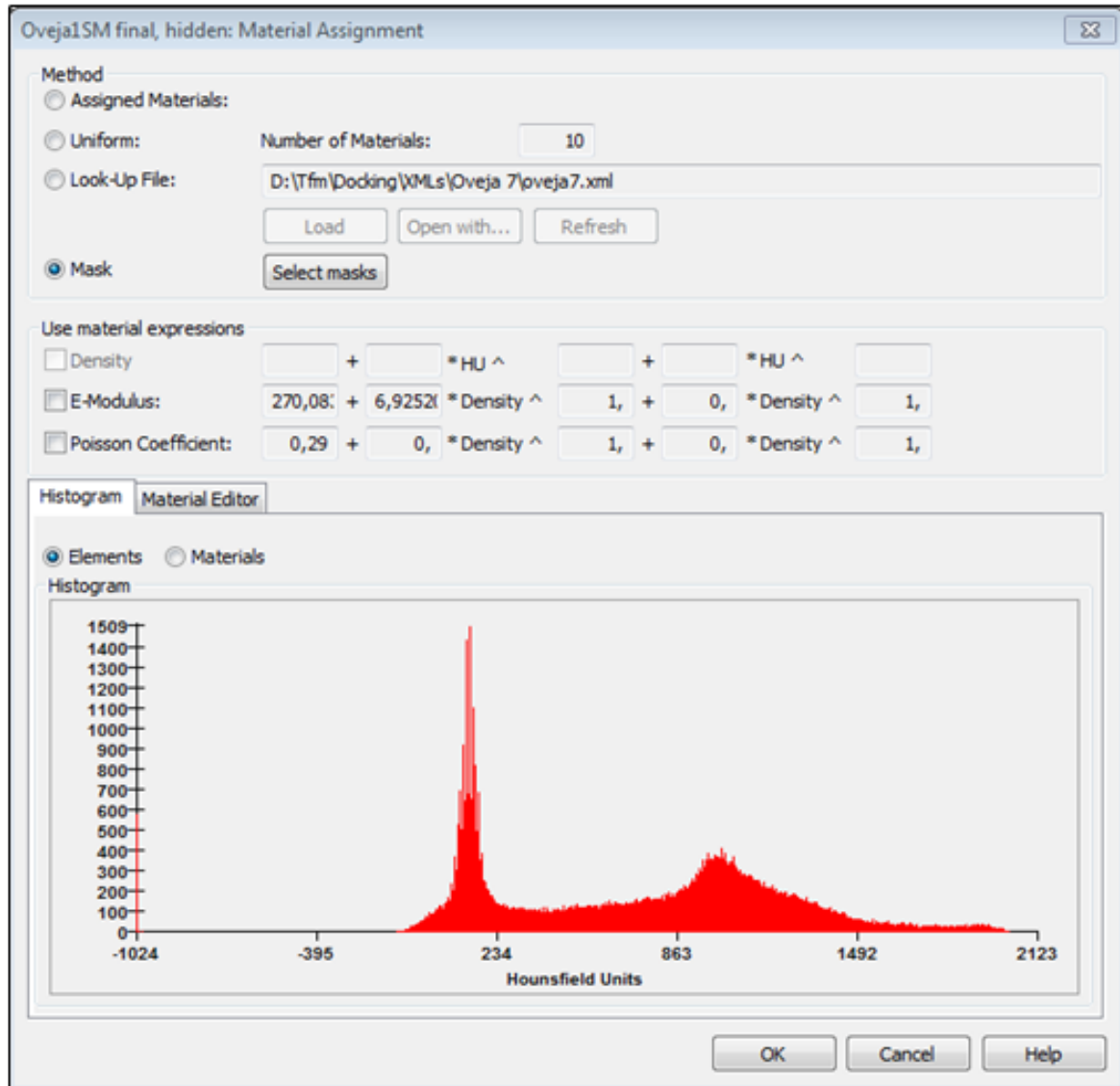


Figura 3-20: Asignación de propiedades materiales en Mimics®.

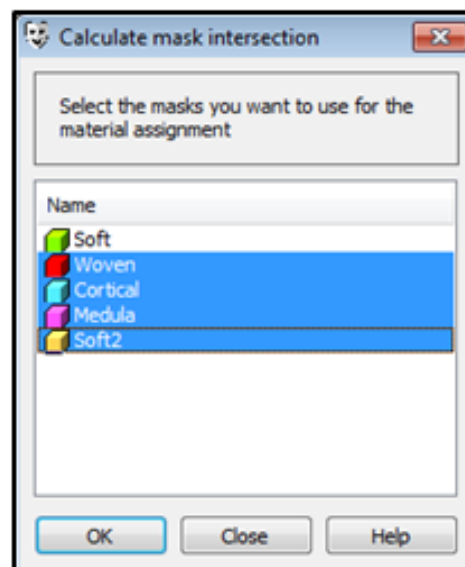


Figura 3-21: Selección de máscaras en la asignación de propiedades.

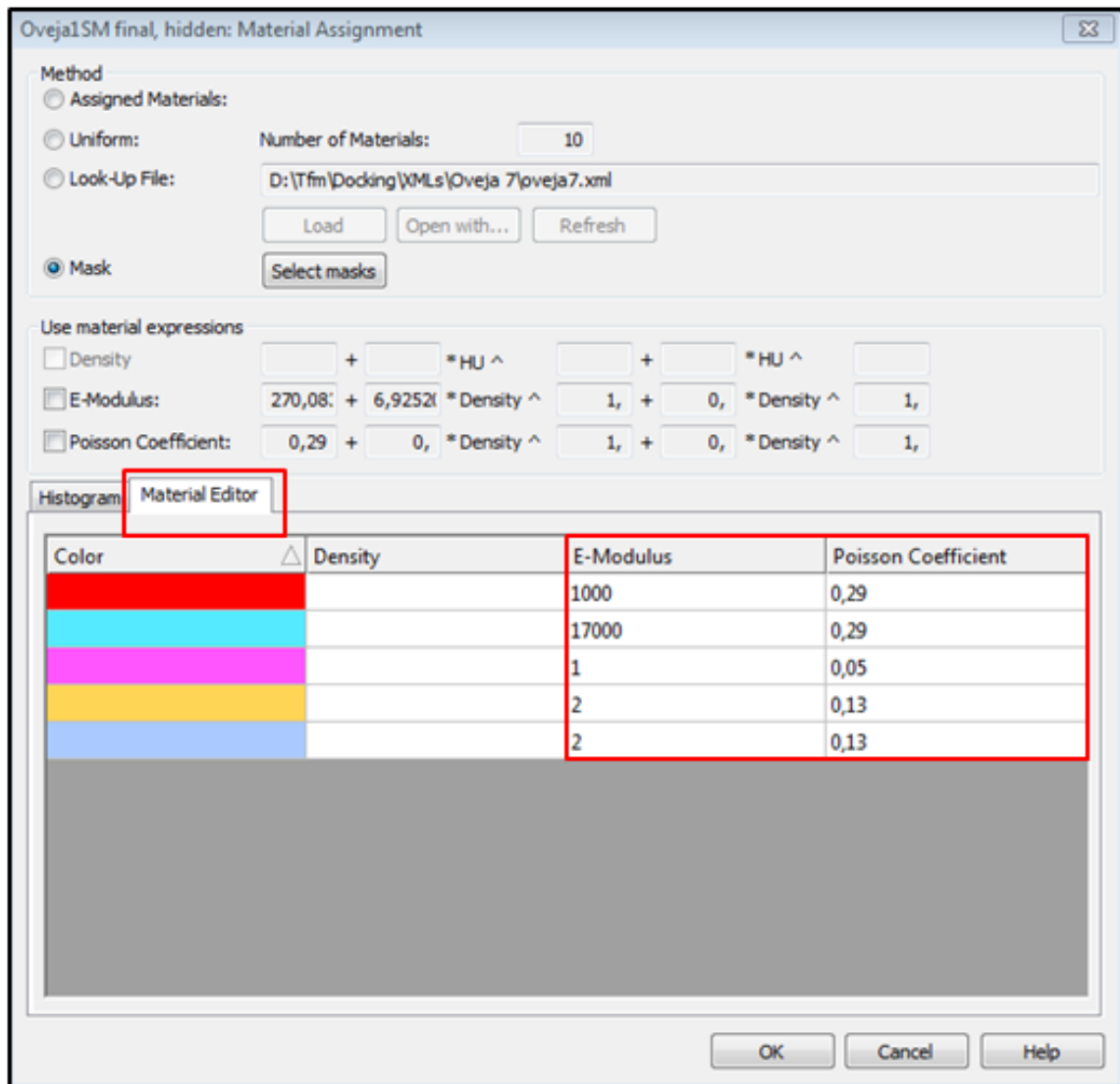


Figura 3-22: Editor de propiedades mecánicas.

Los valores de las propiedades mecánicas de cada uno de los tejidos se han seleccionado de la bibliografía. En la tabla 3-5 se describen las propiedades para cada tipo de tejido. Siguiendo esta guía se ha determinado el tejido blando como tejido fibroso y la médula como tejido de granulación. En la Tabla 3-6 se presentan las propiedades definitivas asignadas a cada tejido.

Tabla 3-5: Propiedades materiales de los tejidos.

	E(MPa)	v
Cortical	17000 <sup>a</sup>	0.3
Tejido óseo inmaduro	1000 <sup>b</sup>	0.29
Cartílago	5 <sup>c,d,e</sup>	0.1
Cartílago calcificado	57 <sup>b</sup>	0.11
Tejido fibroso	2 <sup>f</sup>	0.13
Tejido de Granulación	1 <sup>g</sup>	0.05

*a Mechanical properties of biological materials; b Reina-Romo (2009) ; c Charlebois et al. (2004); d Huang et al. (2001); e Akizuki et al. (1986); f Hori & Lewis (1982); g Leong & Morgan (2008).*

Tabla 3-6: Propiedades asignadas a los tejidos.

	E(MPa)	$\nu$
Cortical	17000	0.3
Tejido óseo inmaduro	1000	0.29
Tejido blando	2	0.13
Médula ósea	1	0.05

Por último se exportaron las mallas modificadas como archivos compatibles con Abaqus® .inp para su posterior simulación.

### 3.4.2 Hounsfield Units

La asignación de propiedades por Hounsfield Units también se realizará utilizando el programa Mimics®. En este caso se partirá de la misma malla con todos los elementos unificados utilizada en el apartado anterior.

En primer lugar será necesario describir el modelo que se va a seguir para aplicar las propiedades. En la bibliografía se observa como Shefelbine et al. (2005) diferencia entre tres tipos de tejidos: un hueso altamente mineralizado, uno recién mineralizado con un contenido en mineral más bajo y finalmente un tejido blando. Estos tejidos se corresponden en este trabajo con el hueso cortical, el tejido óseo inmaduro y el tejido blando y la médula respectivamente.

Según Shefelbine et al. (2005) (Figura 3-23.1) la zona de tejido blando debe tener un módulo elástico constante de 50 MPa. Por otro lado los tejidos óseos, siguen una relación lineal entre sus Hounsfield Units y el módulo elástico comenzando en 5000 MPa para el valor de tejido óseo con HU más bajo y terminando en 15000 MPa para el tejido con HU más alto. En todos los casos el coeficiente de Poisson debe ser de 0.3 y se supone que todos los materiales son elásticos lineales e isótropos.

Extrapolando esta información al trabajo se ha determinado que el tejido blando, es decir todo el tejido con menos de 133 HU, debe tener un módulo elástico constante de 50 MPa. Las propiedades de los elementos con HU superiores a 133 HU seguirán una relación lineal entre el módulo elástico y las HU que comenzará en 5000 MPa para 134 HU y terminará en 15000 MPa para el máximo de HU (Figura 3-23.2). El coeficiente de Poisson será constante y de valor 0.3 en todos los casos.

Como se especificó durante el modelado cada oveja tiene un rango de HU diferente (Tabla 3-2) y por tanto los rangos deberán ser normalizados. Por ello, y siguiendo la relación que se ha descrito anteriormente y propuesta por Shefelbine et al. (2005) se han definido tres rangos de asignación de propiedades en función del porcentaje de escala de grises. Para valores de escala de grises inferiores al 30% del valor máximo se asignó un módulo elástico constante de 50 MPa. A valores de escala de grises entre el 30 y el 95% del máximo se le asignó un módulo elástico lineal que variaba entre 5000 y 15000 MPa y finalmente para aquellos valores de HU superiores al 95% del máximo se asignó un valor constante de 15000 MPa (Figura 3-24). En todos los tramos el coeficiente de Poisson fue constante y de valor 0.3.

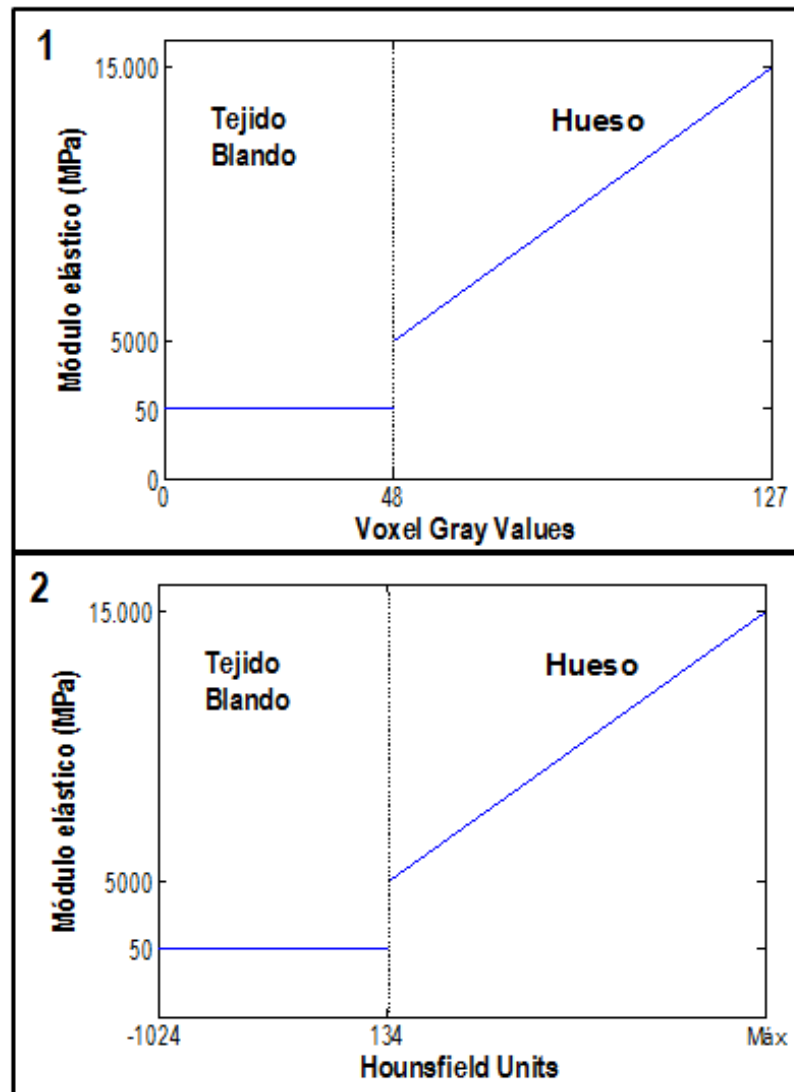


Figura 3-23: Relación entre escala de grises y módulo elástico y adaptación a Hounsfield Units.

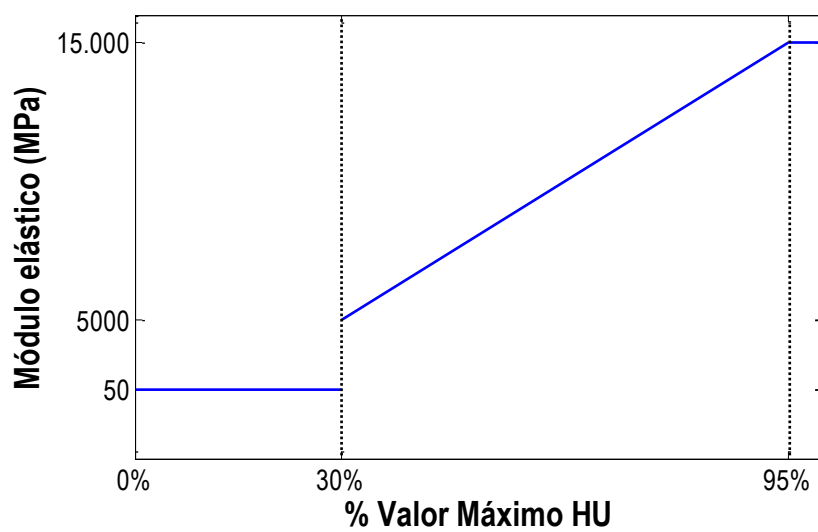


Figura 3-24: Relación final entre Hounsfield Units y módulo elástico.

Siguiendo la proporción que se propone en la Figura 3-24 se procedió a segmentar las mallas. En este caso el método más adecuado dentro de las posibilidades que propone Mimics® resulta la asignación mediante un archivo externo. Por ello se crearon un total de 15 archivos .xml correspondientes con cada malla en los que se puede asignar un valor de densidad a un rango definido de HU. En este caso se creó un intervalo que se corresponde con los valores del 0 al 30% que formará el set de elementos del tejido blando. Por otro lado desde el 30 al 95% se crearon intervalos de 100 en 100 HU para simular la evolución lineal del módulo elástico y finalmente un intervalo para los elementos con un valor de HU superior al 95% del máximo. Para asignar el valor de HU se ha igualado este valor a la densidad de cada conjunto de elementos. De esta forma, un grupo de elementos con valores de HU entre 500 HU y 600 HU tendrá asignada una densidad de 500 kg/m<sup>3</sup>. Una vez cargado el archivo .xml se puede observar en la pestaña “Histogram” los grupos de elementos (Figura 3-25).

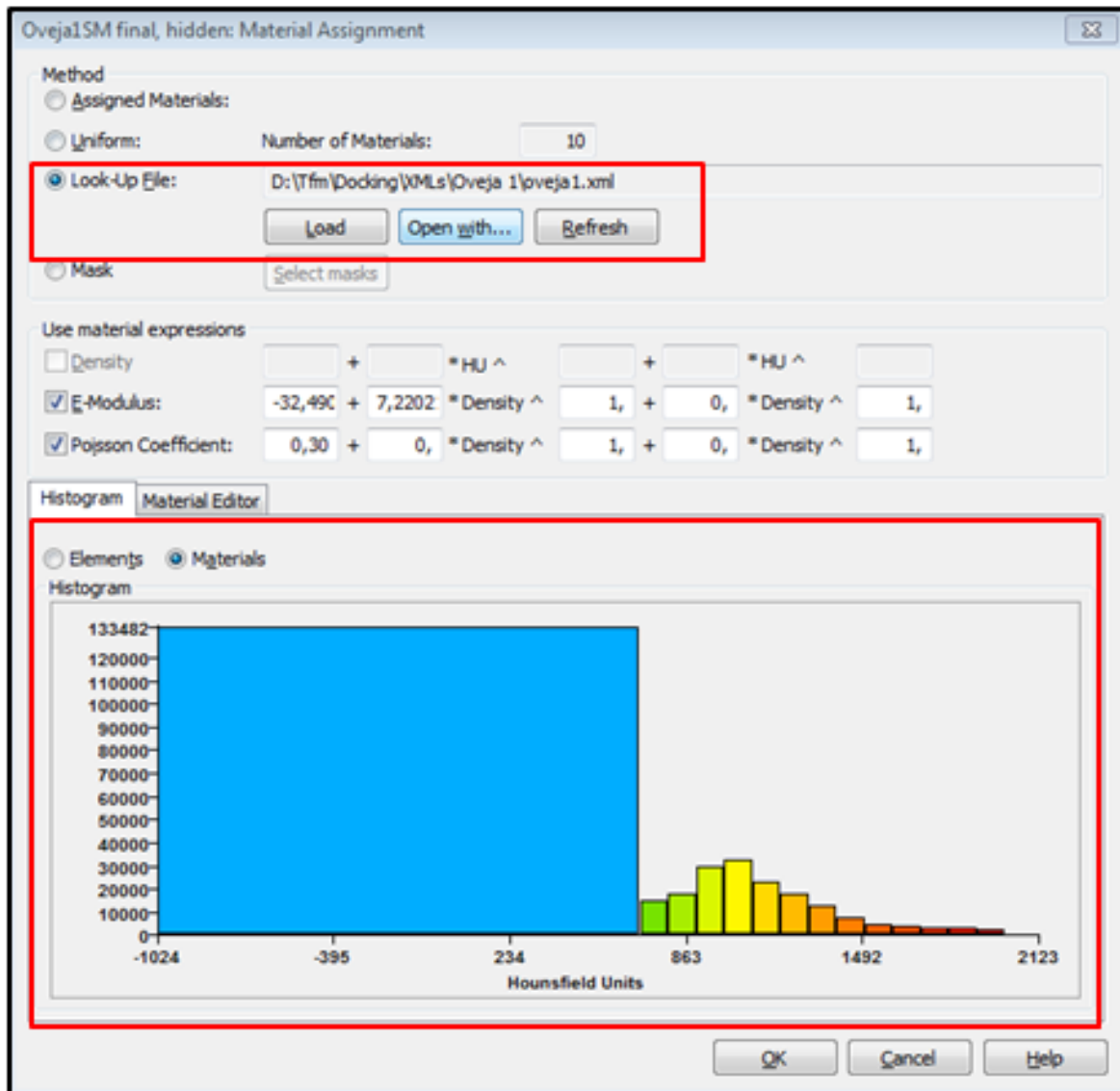


Figura 3-25: Intervalos creados según rangos de Hounsfield Units.

En este punto el programa puede tomar los valores de densidad asignados a cada intervalo y operar con ellos para obtener un valor de módulo elástico y de coeficiente de Poisson. Por tanto será necesario establecer una relación entre densidad y módulo elástico, dado que el coeficiente de Poisson será constante. Esta relación variará según el rango de escala de grises de cada oveja y se ha establecido como lineal (Tabla 3-7).

Tabla 3-7: Relación módulo elástico-densidad personalizada.

$E [MPa] = A + B \cdot \rho$		
Oveja (Días tras la cirugía)	A	B
17	486,555698	6,40204866
22	270,083102	6,92520776
29	506,125081	6,44745326
35	653,710247	7,06713781
37	518,590998	6,52315721
51	216,234198	6,65335995
79	299,085151	7,03729768
98	-32,4909747	7,22021661
137	713,245997	7,27802038
161	518,590998	6,52315721
205	628,908965	6,94927033
277	653,710247	7,06713781
311	328,519856	7,22021661
379	881,570193	6,65335995
471	713,245997	7,27802038

A continuación se introdujeron los valores obtenidos de la relación módulo elástico-densidad en la ventana de asignación de propiedades de Mimics® mostrando la pestaña “*Material Editor*” las propiedades de cada intervalo (Figura 3-26). Cabe destacar que las propiedades del primer grupo de elementos no siguen la proporción lineal descrita en la tabla 3-6 por lo que su valor de módulo elástico deberá ser asignado de forma manual.

Tras aplicar las propiedades materiales a la malla y de vuelta a la ventana de los modelos 3D de Mimics® se puede observar cómo en la malla aparecen los colores asociados a cada grupo de elementos y por consiguiente, a unas propiedades mecánicas (Figura 3-27).

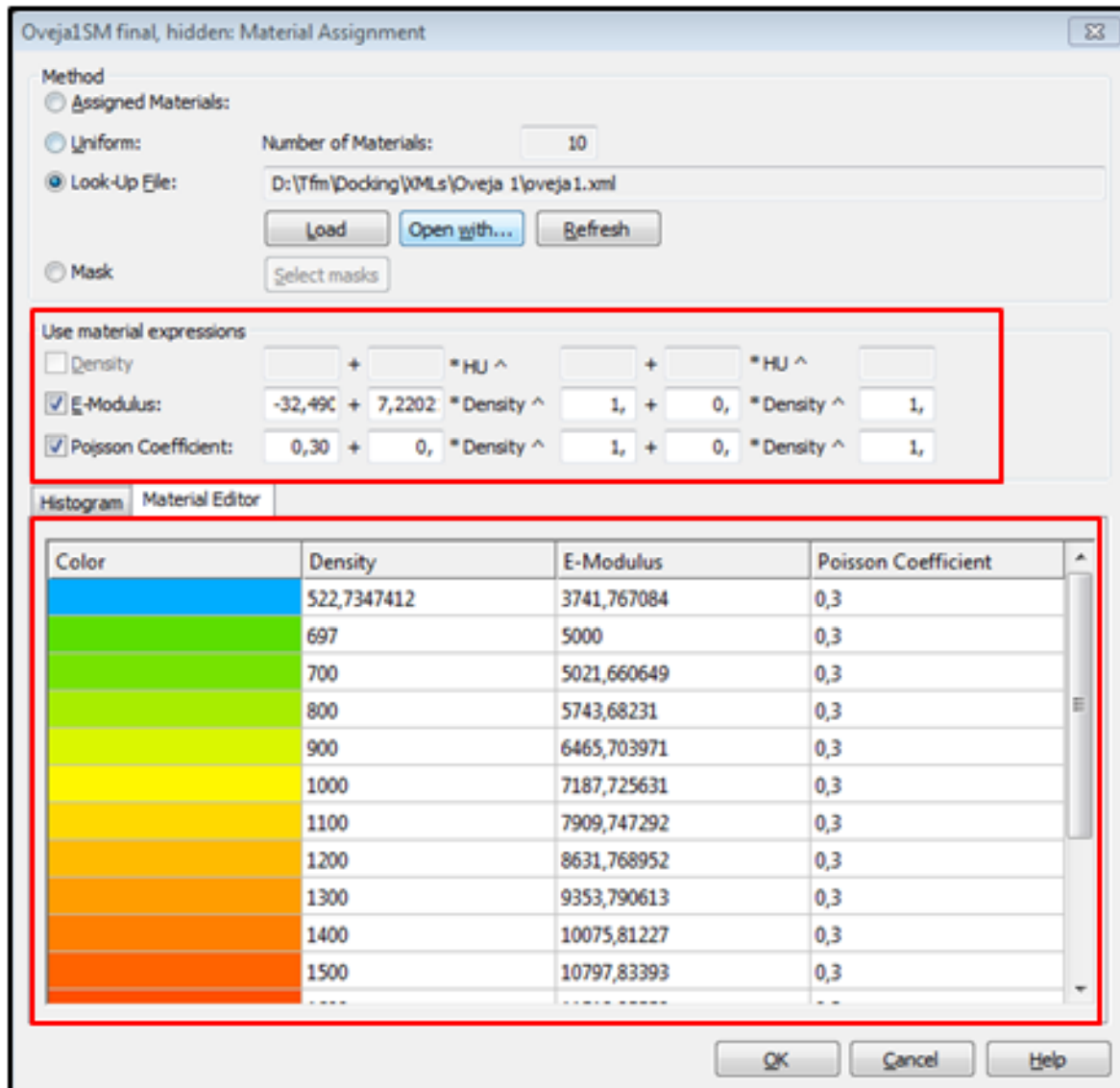


Figura 3-26: Propiedades mecánicas de cada intervalo creado.

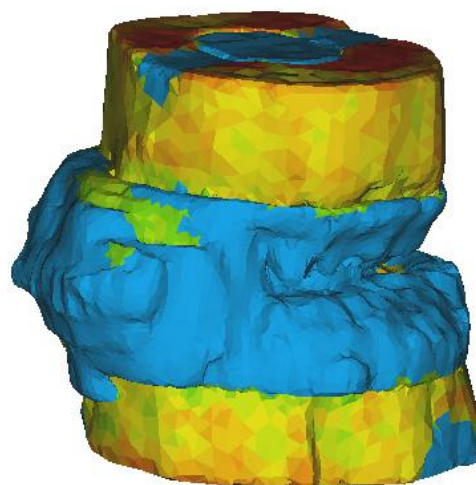


Figura 3-27: Malla de oveja con propiedades según Hounsfield Units.



### 3.5 Aplicación de las condiciones de contorno y carga

La aplicación de condiciones de contorno y de carga se realiza dentro del programa de elementos finitos con el que se resolverán las simulaciones, y que en este caso será Abaqus®.

En el caso de las condiciones de contorno se ha aplicado un empotramiento en el extremo distal de cada uno de los segmentos de estudio (Figura 3-28).

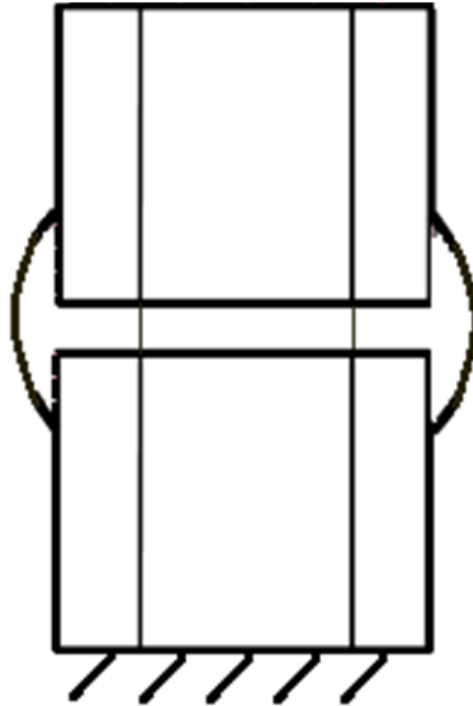


Figura 3-28: Esquema de las condiciones de contorno.

Dado que se ha supuesto que el modelo es elástico lineal la carga a aplicar no debería tener ninguna influencia en el resultado. No obstante, los callos con pocos días de duración deberían tener una resistencia baja y por tanto, al aplicar una carga alta podrían aparecer grandes desplazamientos y abandonar la hipótesis del modelo elástico lineal. Es por esto que se aplicaron unas cargas que variaban en función de los días de curación. Dichas cargas se aplicaron en el extremo proximal del segmento de hueso y eran uniformemente distribuidas (Figura 3-29). La expresión de la aplicación de la carga se determinó de los trabajos experimentales previos (Mora-Macías et al, 2015). A continuación se representa la ecuación para poder determinar la carga aplicada sobre cada callo relativa al peso de la oveja en cuestión.

$$CF = \frac{0.5 \cdot \bar{F}}{1 + e^{a_{xx}(t+b_{xx})}} + \frac{0.5 \cdot \bar{F}}{1 + e^{c_{xx}(t+d_{xx})}} \quad (3-1)$$

$$F = CF \cdot BW \quad (3-2)$$

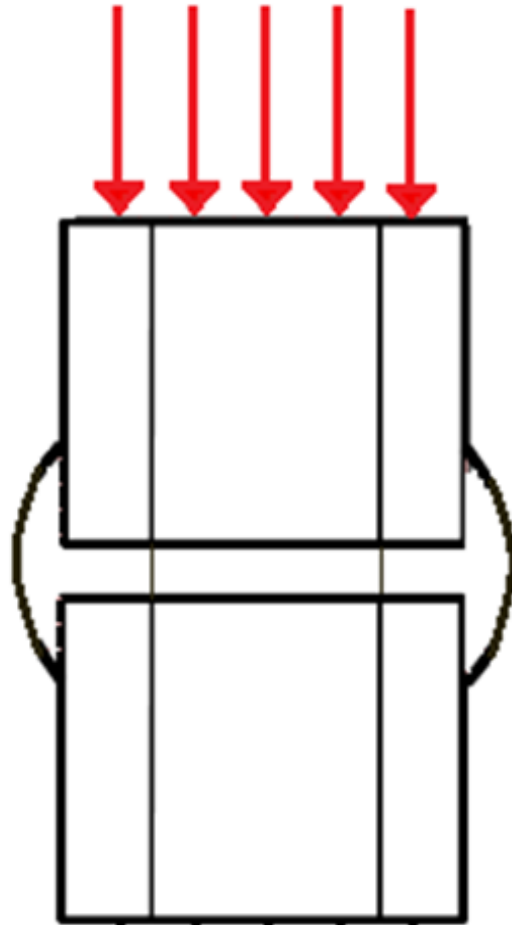


Figura 3-29: Esquema de las condiciones de carga.

Siendo  $CF$  la fuerza que se aplica sobre el callo en función del peso,  $\bar{IF}$  el valor medio de la fuerza interna medida durante el proceso,  $a_{xx}$ ,  $b_{xx}$ ,  $c_{xx}$  y  $d_{xx}$  coeficientes de ajuste,  $t$  el tiempo en días desde la operación,  $F$  la fuerza total aplicada sobre el callo y  $BW$  el peso de la oveja (Mora-Macías et al., 2015). Tanto los valores de los coeficientes (Tabla 3-8) como la relación entre los pesos y los días tras la cirugía (Tabla 3-9) se presentan a continuación:

Tabla 3-8: Valores de los coeficientes.

Coeficiente	Valor
$\bar{IF}$	1.257
$a_{xx}$	-0.170
$b_{xx}$	-28.987
$c_{xx}$	-0.062
$d_{xx}$	-68.704

Tabla 3–8. Tiempo tras la cirugía y peso

Oveja (días tras la cirugía)	Peso (kg)
17	49
22	61
29	56.7
35	45.3
37	60
51	66
79	47
98	60
137	50
161	56.5
205	50
277	37
311	50
379	37
471	37



# 4 RESULTADOS

En este apartado se presentarán todos los resultados de las simulaciones realizadas sobre las mallas 3D que se obtuvieron en el apartado anterior. Inicialmente, se describirá el esquema utilizado para realizar las simulaciones. A continuación, se presentarán los resultados. Rigidez, rigidez normalizada con el volumen y módulo elástico medio del docking site serán representados para los dos casos a estudiar, la segmentación manual y por Hounsfield Units.

## 4.1 Procedimiento de resolución

El programa de cálculo de elementos finitos elegido para llevar a cabo las distintas simulaciones será Abaqus®. No obstante, para agilizar y unificar la resolución de cada uno de los modelos el cálculo ha estado gestionado por un programa externo, que funcionando en bucle ha sido capaz de realizar las simulaciones de forma continua. Este programa ha sido Matlab®.

Siguiendo un esquema común de forma cíclica se ha conseguido que Matlab® resuelva cada una de las mallas, registre sus resultados y una vez finalizada la simulación, represente todos los resultados.

El esquema utilizado es el que sigue (Figura 4-1). En primer lugar una función madre lee y copia cada uno de los archivos .inp que contienen las mallas. Dentro del archivo copiado se añaden nuevas líneas de código, correspondientes con los sets de nodos a los que aplicar las cargas y las condiciones de contorno, respectivamente, así como el step de carga.

A continuación, a través de un código para PHYTON se arranca Abaqus®, y se simula la malla ya modificada. Este mismo programa recoge los valores de los desplazamientos necesarios para presentar los resultados, cierra de nuevo Abaqus® y vuelve al programa madre que ejecuta la siguiente malla.

Una vez simuladas todas las mallas (Figura 4-2) se grafican los valores de rigidez del docking site para cada día tras la cirugía.

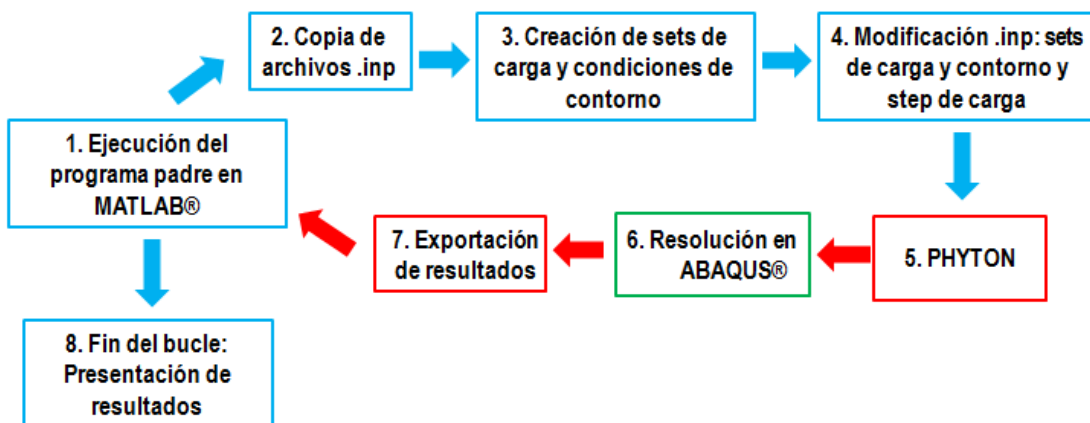


Figura 4-1: Esquema de resolución.

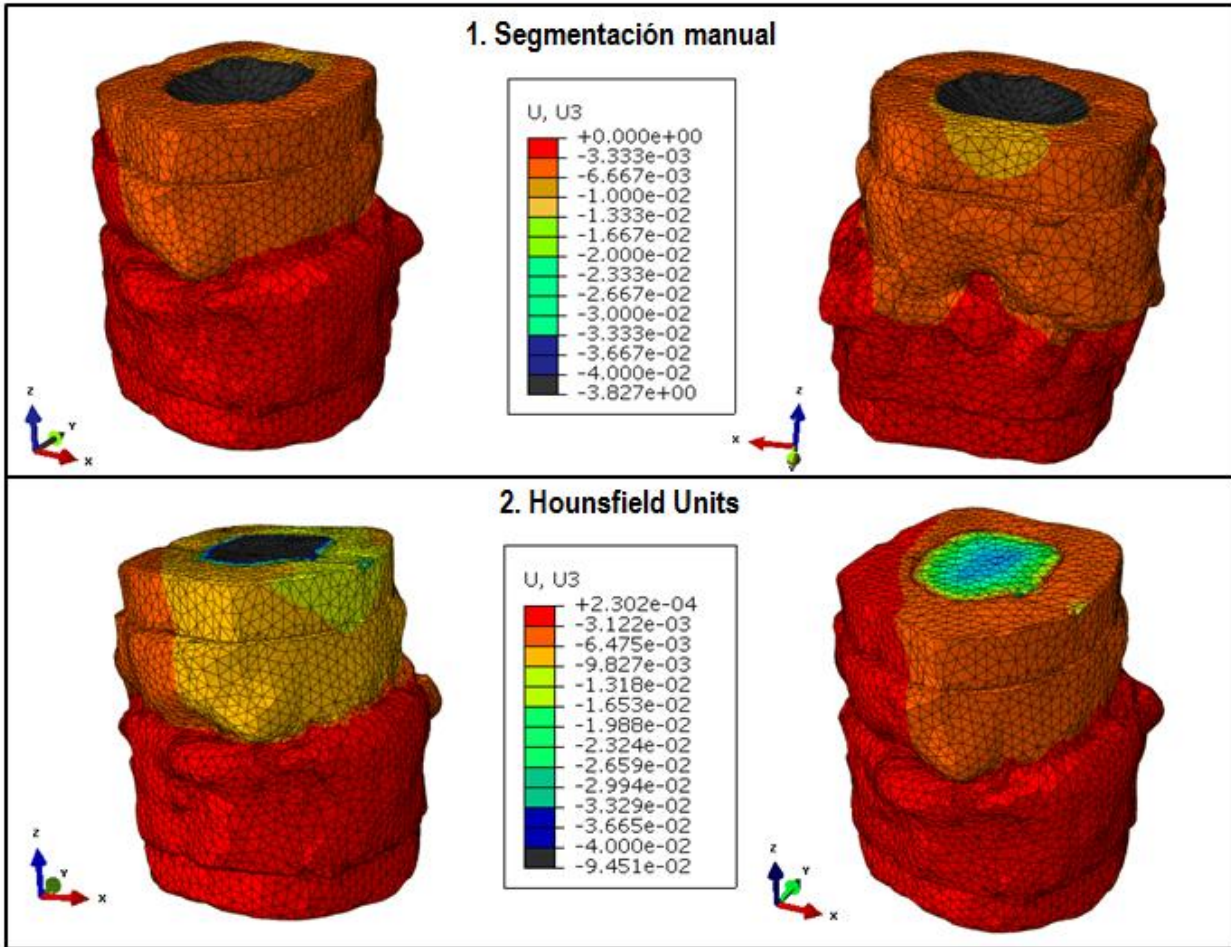


Figura 4-2: Desplazamientos en el eje vertical dependiendo de la metodología (Oveja 11)

La exportación de los resultados se corresponde con los desplazamientos verticales de todos los nodos de la malla. A partir de estos valores, y conociendo la fuerza aplicada, se determinará la rigidez de cada docking site.

Con los desplazamientos verticales se ha determinado el desplazamiento medio en el docking site restando los desplazamientos medios de dos secciones de elementos equidistantes del centro de la pieza a estudiar (4-1) (Figura 4-3), lugar donde se sitúa la discontinuidad.

$$u = \overline{dz_2} - \overline{dz_1} \quad (4-1)$$

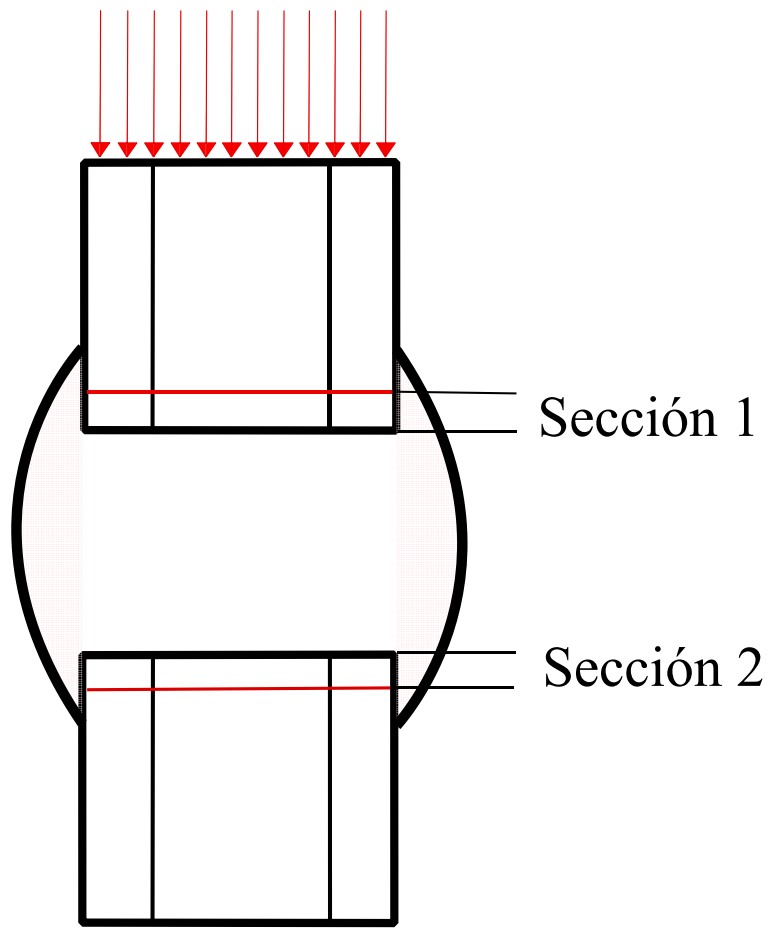


Figura 4-3: Esquema de las secciones de toma de desplazamientos medios.

Con el valor del desplazamiento medio, y conociendo la fuerza aplicada, se pueden representar los resultados.

## 4.2 Rigidez del docking site

La rigidez de docking site se calculará como el cociente entre la fuerza aplicada y el desplazamiento medio (4-2), siendo K la rigidez del callo en kN/mm.

$$K = \frac{F}{u} \quad (4-2)$$

En los siguientes subapartados se representará la citada rigidez frente a los días transcurridos desde la cirugía diferenciando los dos casos de estudio, en primer lugar la asignación de propiedades a los tejidos mediante segmentación manual y a continuación asignando las propiedades en función de la escala de Hounsfield Units de los tejidos.

#### 4.2.1 Segmentación manual

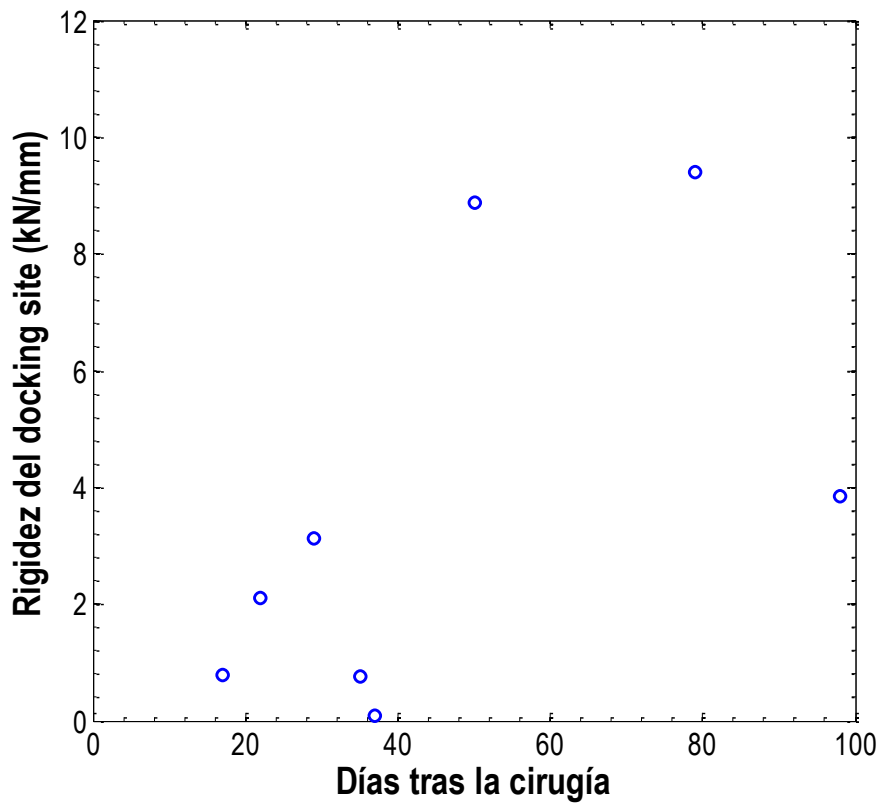


Figura 4-4: Rigidez del docking site por segmentación manual durante los primeros 100 días.

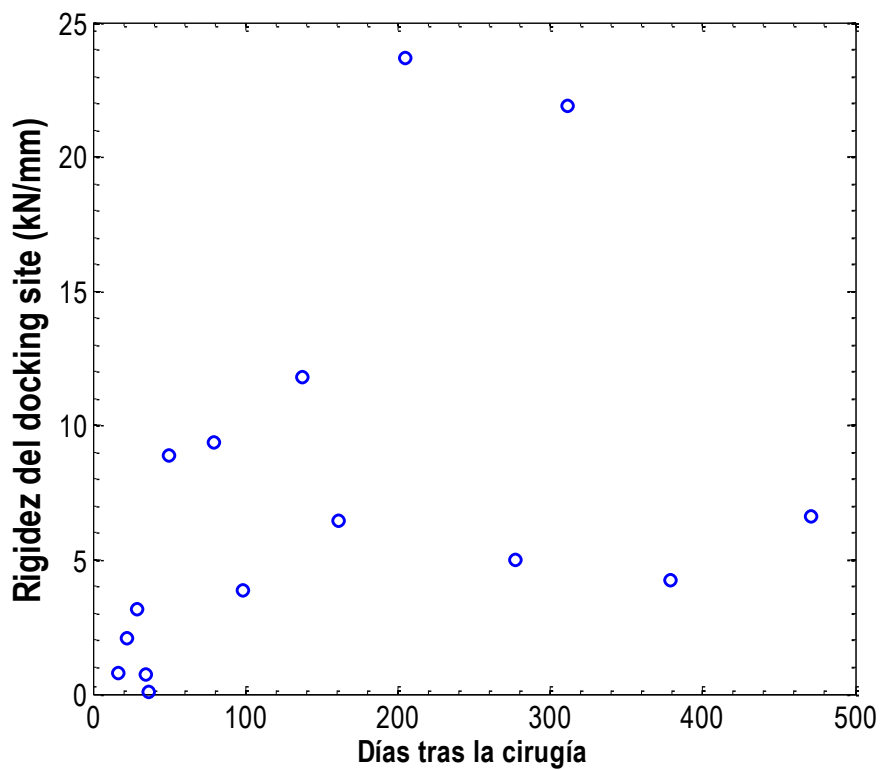


Figura 4-5: Rigidez del docking site por segmentación manual.



Según la figura 4-4, la rigidez del docking site durante los primeros días aumenta desde un valor inferior a 1 kN/mm hasta algo menos de 4 kN/mm, los especímenes de los días 35 y 37 rompen esta tendencia creciente que continúa hasta los 89 días desde la cirugía, donde se alcanza un valor de rigidez en torno a los 10 kN/mm.

A continuación, según la figura 4-5, se puede observar la tendencia general de los resultados. Si bien se observa un crecimiento hasta los 25 kN/mm, que luego decrece sensiblemente. Entre estos valores se intercalan especímenes con una rigidez inferior, cuyos valores de rigidez se encuentran entre los 5 y los 10 kN/mm.

#### 4.2.2 Hounsfield Units

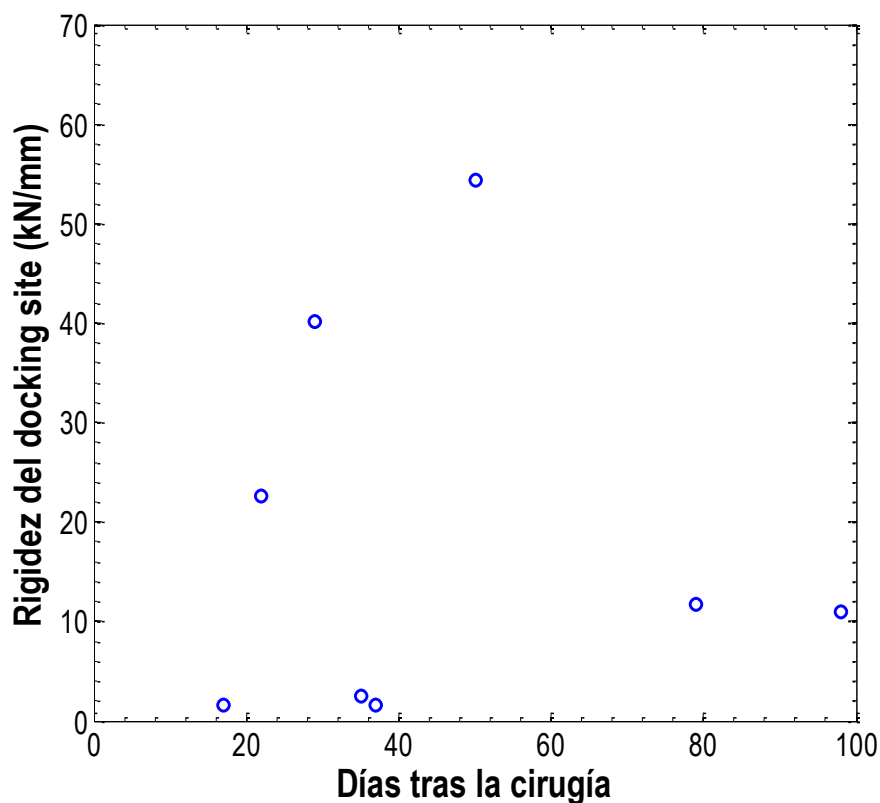


Figura 4-6: Rigidez del docking site por Hounsfield Units durante los primeros 100 días.

En el caso de la asignación de propiedades en función de las Hounsfield Units la rigidez durante los primeros días (Figura 4-6) tiene una tendencia creciente hasta los 51 días donde se alcanza una rigidez de aproximadamente 55 kN/mm. A partir de este punto la rigidez vuelve a caer manteniéndose en los siguientes especímenes en torno a los 12 kN/mm. La rigidez en el caso de las ovejas correspondientes con los días 35 y 37 está fuera de la tendencia del resto de valores y alcanza unos valores muy bajos, similares a los 17 días tras la cirugía, alrededor de 2 kN/mm.

Observando la rigidez de todos los especímenes (Figura 4-7) se observa que los valores de rigidez tienden a crecer para alcanzar un valor superior de 60 kN/mm en todos los especímenes a partir de 137 días, con un máximo superior a 90 kN/mm.

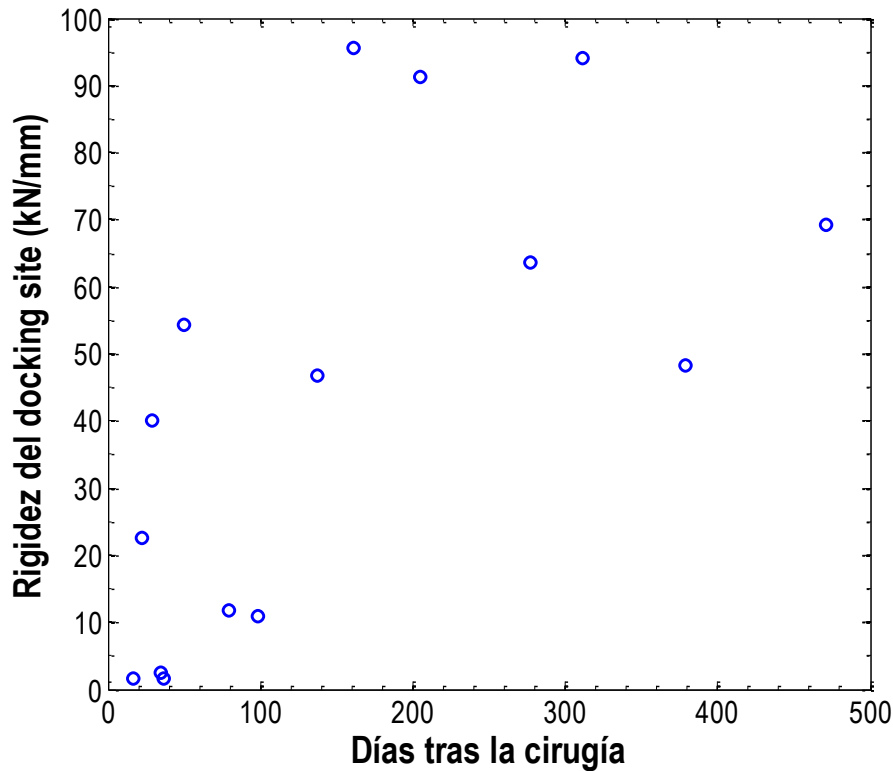


Figura 4-7: Rigidez del docking site por Hounsfield Units.

### 4.3 Rigidez del docking site relativa al volumen

En este apartado se representarán los datos normalizados con respecto al volumen del docking site de cada oveja. En la siguiente tabla se presenta el volumen de cada uno de los tejidos de las ovejas, diferenciando entre tejidos blandos, haciendo referencia a la suma del tejido blando y la médula, tejido óseo inmaduro y hueso cortical. También se presenta el volumen total (Tabla 4-1).

#### 4.3.1 Segmentación manual

Observando la rigidez normalizada con respecto al volumen durante los primeros días (Figura 4-8) se puede extraer que en el caso de la asignación de propiedades mediante segmentación manual la rigidez crece casi linealmente hasta alcanzar un valor cercano a  $3 \text{ kN/mm}^4$  a los 79 días tras la cirugía. Quedarían descartados de esta tendencia los especímenes correspondientes a los días 35, 37 (rigidez inferior a  $0.3 \text{ kN/mm}^4$  en ambos casos) y 98 días ( $1 \text{ kN/mm}^4$ ).

En la figura 4-9 los valores de rigidez tras el crecimiento inicial se estabilizan y varían en una franja que pasa de  $1 \text{ kN/mm}^4$  hasta los  $3 \text{ kN/mm}^4$ .

Tabla 4-1: Volumen en mm<sup>3</sup> por tejido de cada oveja.

Oveja (días tras la cirugía)	Tejidos blandos	Tejido óseo inmaduro	Cortical	Total
17	1259,231	676,635	1377,713	3313,579
22	754,006	683,286	2610,36	4047,652
29	504,4184	354,872	2070,34	2929,6304
35	807,225	797,327	1470,71	3075,262
37	1203,316	622,912	2057,38	3883,608
51	1189,986	819,25	2534,38	4543,616
79	719,998	596,549	1999,29	3315,837
98	562,978	984,903	2518,29	4066,171
137	1058,822	2159,18	5278,15	8496,152
161	962,169	2942,5	2337,83	6242,499
205	1396,233	2119,051	5803,54	9318,824
277	766,476	257,872	3010,01	4034,358
311	1416,401	1705,52	5345,8	8467,721
379	883,588	196,124	2999,77	4079,482
471	883,507	237,784	2856,05	3977,341

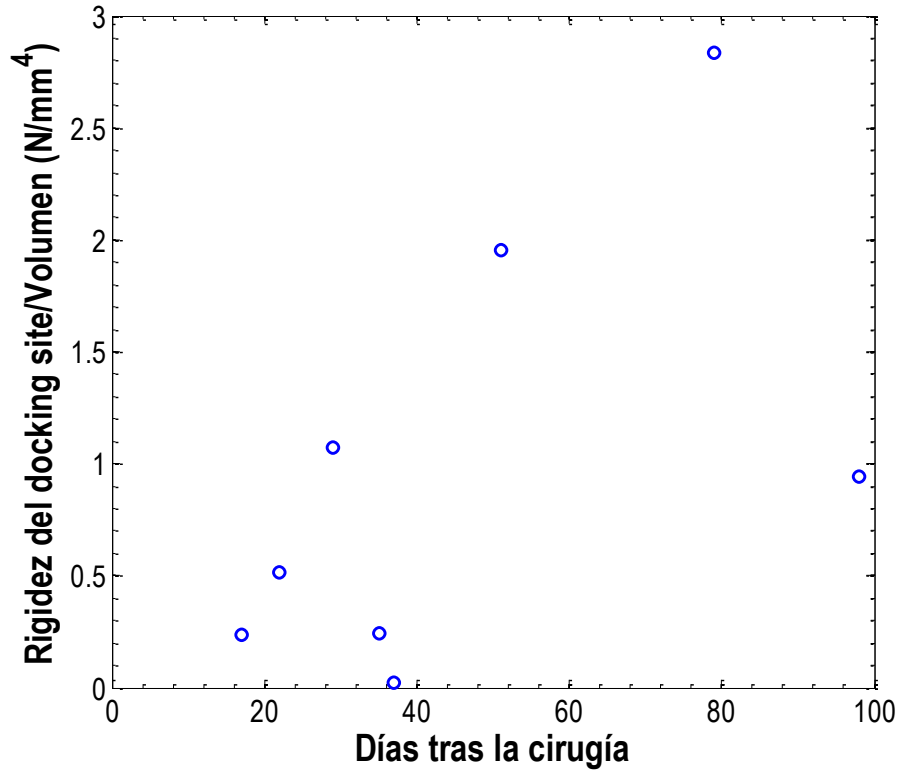


Figura 4-8: Rigidez normalizada con respecto al volumen en segmentación manual durante los primeros 100 días.

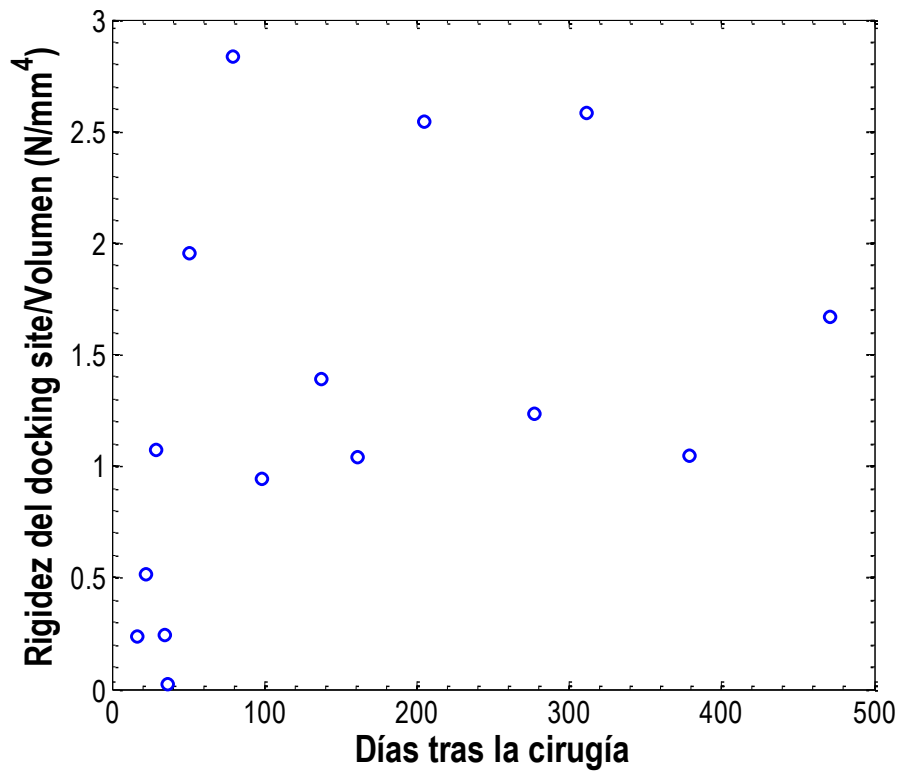


Figura 4-9: Rigidez normalizada con respecto al volumen en segmentación manual.

### 4.3.2 Hounsfield Units

La rigidez normalizada respecto al volumen de cada uno de los especímenes durante los primeros 100 días (Figura 4-10) se corresponde con una campana cuyo máximo se alcanza en el día 29 con un valor cercano a 14  $\text{kN/mm}^4$ . En este caso los valores para 35 y 37 días también se escapan de la tendencia general y quedan con una rigidez baja, similar al día 17 y en torno a 0.8  $\text{kN/mm}^4$ .

En la figura 4-11 se observa que los valores de rigidez tienden a crecer en función de los días, alcanzándose un máximo el último día de ensayo superior a 17  $\text{kN/mm}^4$ .

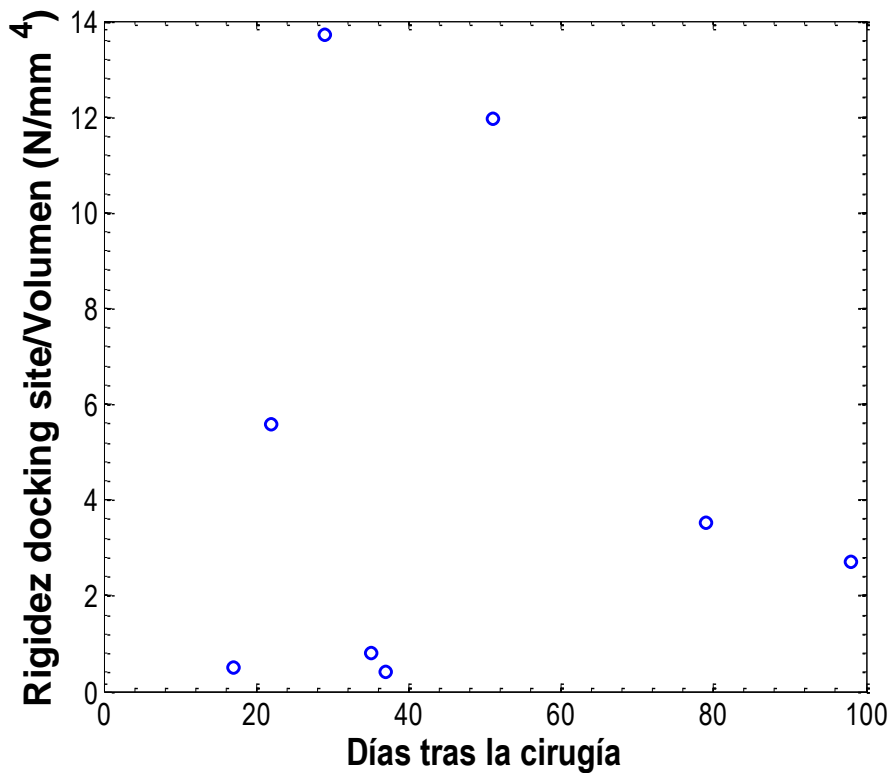


Figura 4-10: Rigidez normalizada con respecto al volumen con HU para los primeros 100 días.

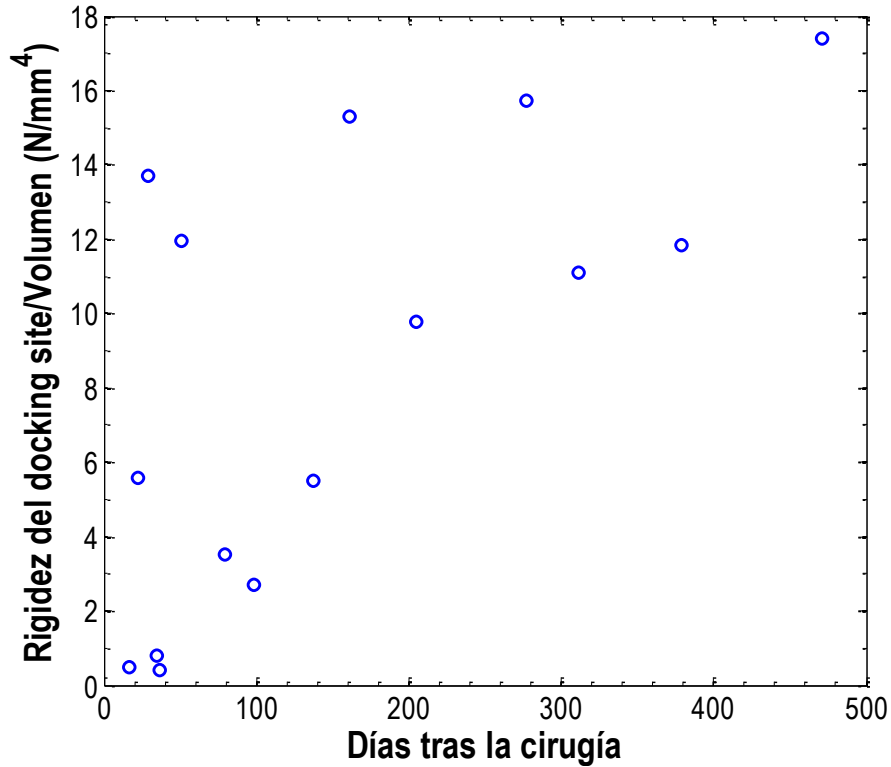


Figura 4-11: Rigidez normalizada con respecto al volumen con HU.

#### 4.4 Módulo elástico medio del docking site

El módulo elástico medio del callo se ha obtenido de la división de la fuerza aplicada entre un área media, que se ha determinado en  $296.9\text{mm}^2$  y el desplazamiento medio entre la longitud de distracción (15 mm).

$$E_{\text{medio}} = \frac{\frac{F}{A_{\text{media}}}}{l_{\text{distracción}}} \quad (4-3)$$

##### 4.4.1 Segmentación manual

La distribución del módulo elástico medio sigue la misma tendencia que en el caso de la rigidez (Figura 4-5). El módulo elástico crece hasta alcanzar valores de aproximadamente 1200 MPa a los 205 días y seguidamente decrece hasta finalizar con 500 MPa.

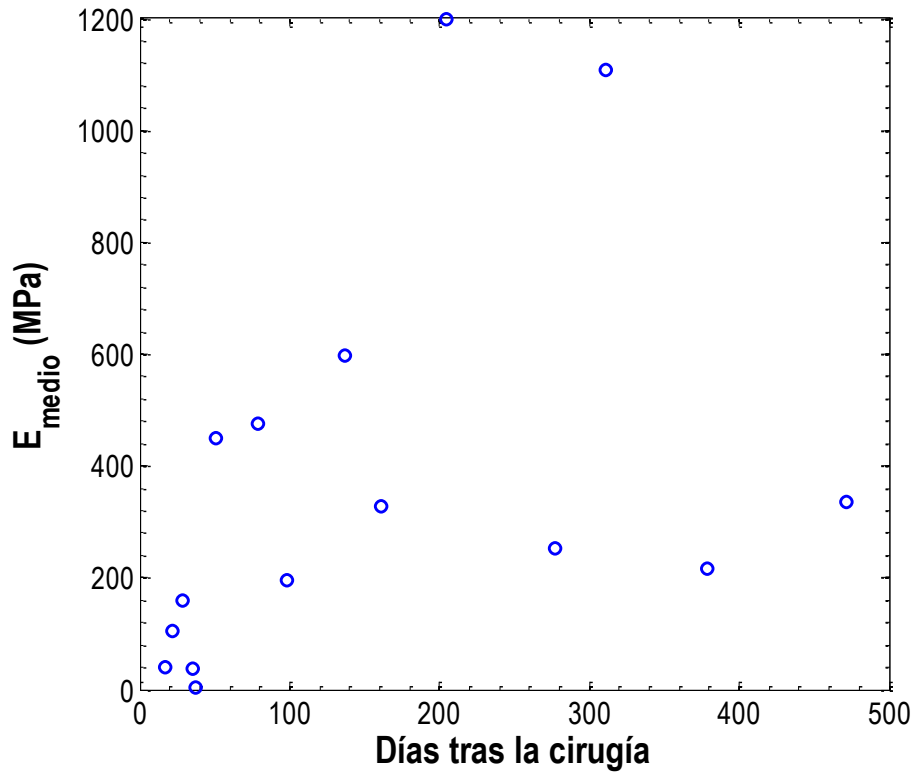


Figura 4-12: Módulo elástico medio asignando propiedades por segmentación manual.

#### 4.4.2 Hounsfield Units

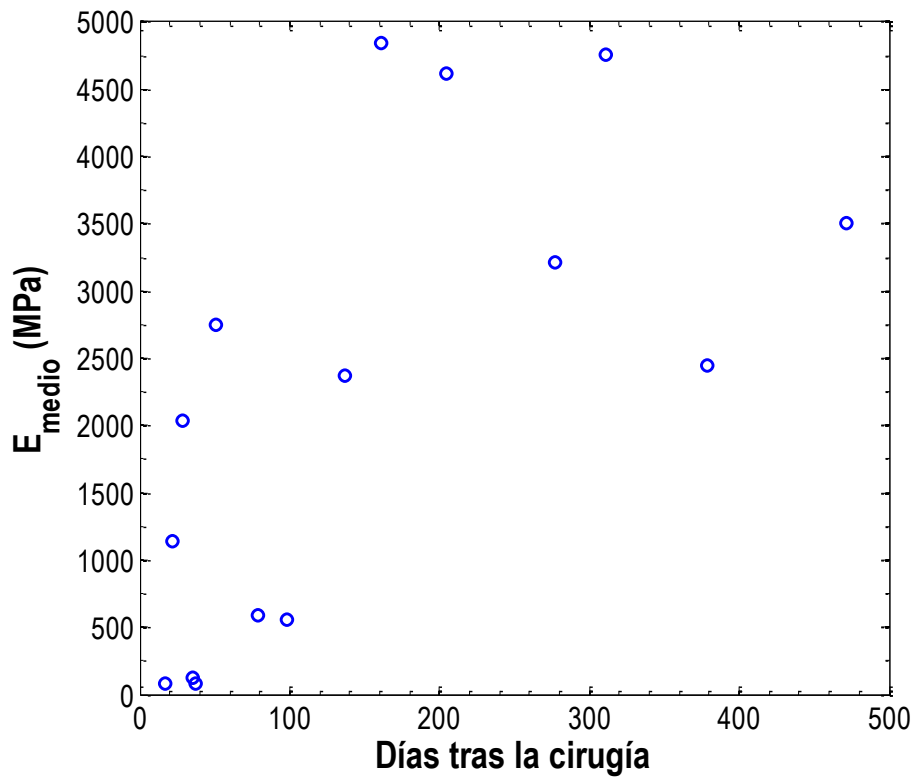


Figura 4-13: Módulo elástico medio con Hounsfield Units.

El módulo elástico medio obtenido mediante asignación de propiedades según Hounsfield Units crece desde 100MPa hasta alcanzar un máximo constante superior a 4500 MPa. En este punto el módulo elástico vuelve a decrecer para quedarse en valores superiores a 2500 MPa en sucesivos especímenes.



# 5 DISCUSIÓN

En este capítulo se buscará comparar los valores obtenidos por cada uno de los métodos, estableciendo las posibles diferencias entre ambos. También se presentarán los resultados frente a otros resultados de estudios anteriores y frente a modificaciones a partir de experimentos previos. Fruto de las comparaciones se establecerán unas conclusiones finales acerca de los resultados obtenidos. A continuación se expondrán las posibles limitaciones que se han encontrado en el proyecto y finalmente se presentarán los pasos futuros que puede tomar la investigación.

## 5.1 Análisis de los resultados

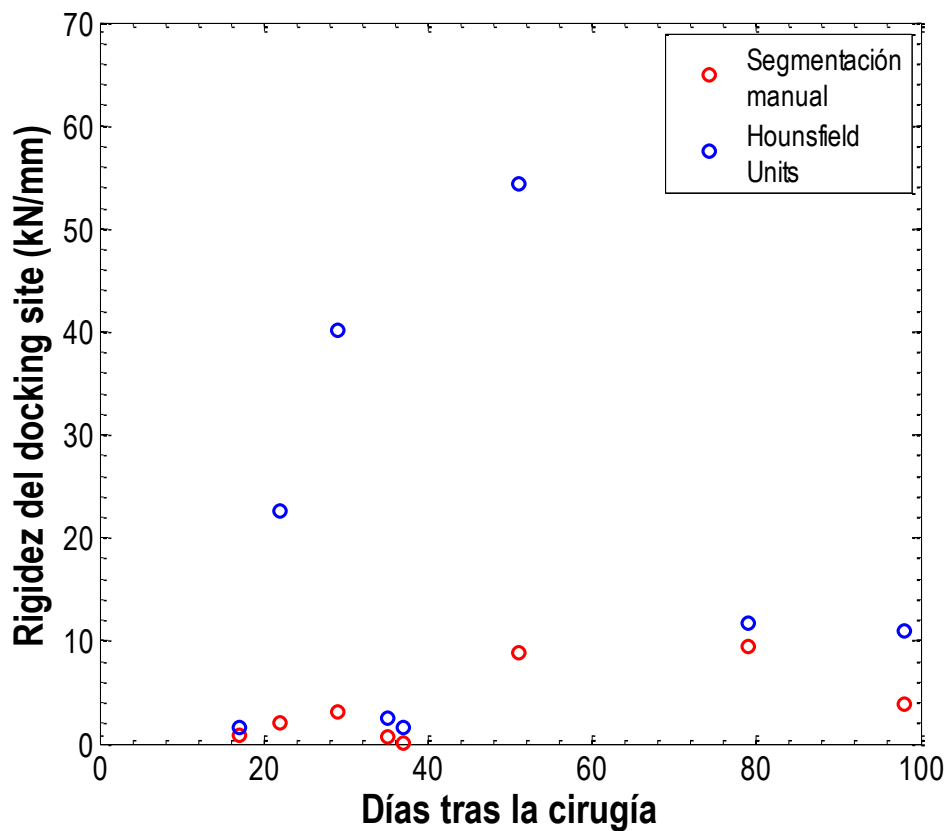


Figura 5-1: Rigidez del docking site durante los primeros 100 días con propiedades por segmentación manual y por HU.

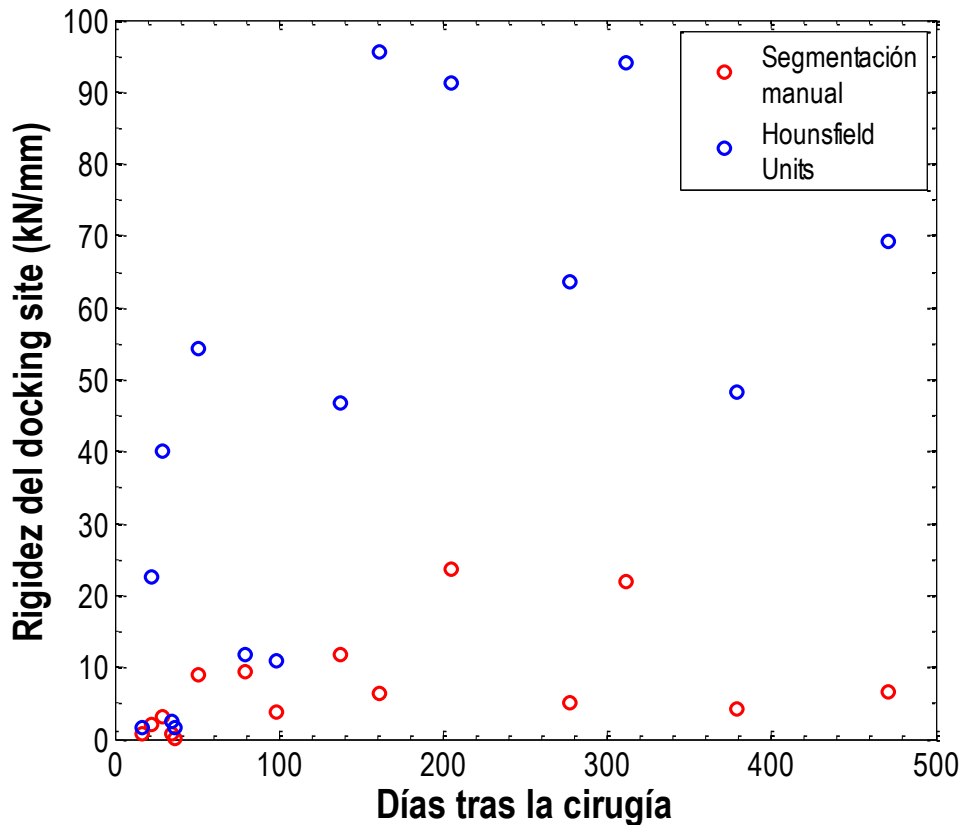


Figura 5-2: Rigidez del docking site con propiedades por segmentación manual y por HU.

En primer lugar se presentarán las diferencias entre los resultados obtenidos por cada una de las metodologías de asignación de propiedades. En los primeros días (Figura 5-1) ya se puede advertir que la metodología de asignación por Hounsfield Units resulta en una rigidez mucho más alta que en la segmentación manual.

De la representación de todos los especímenes (Figura 5-2) se observa que, si bien las tendencias son similares, el caso Hounsfield Units reporta valores de rigidez de en torno al triple que la segmentación manual.

Una posible razón de esta diferencia entre metodologías radica en la asignación de propiedades. Para el caso de la segmentación manual se ha determinado el tejido óseo inmaduro con 1000 MPa de módulo elástico en todos los especímenes. La asignación de propiedades constantes a los tejidos en un proceso de remodelación son inexactas. Los tejidos van evolucionando con el tiempo. Por ejemplo el tejido óseo inmaduro se va mineralizando, ganando rigidez al igual que el tejido blando, cuyas fibras de colágeno se orientan en función de la carga a la que estén sometidas (Mora-Macías et al., 2017). El aumento de rigidez con el tiempo si se puede simular en el caso Hounsfield Units, dado que la escala de grises será superior en los especímenes con más tiempo. Es por esto que a medida que aumenta el tiempo tras la cirugía aumentan las diferencias entre los resultados.

De un experimento previo (Mora-Macías et al., 2017), se ha podido determinar mediante nanoindentación la rigidez de los tejidos óseos inmaduros de cada uno de los especímenes. Asignando estas propiedades al caso de segmentación manual se han obtenido unos resultados (Figura 5-3) que comparados con las metodologías estudiadas muestran durante los primeros días valores ligeramente superiores al caso de segmentación manual. La evolución en todo el experimento (Figura 5-4) muestra que la diferencia entre las dos metodologías no se consigue solucionar con el aumento del módulo elástico del tejido óseo inmaduro.

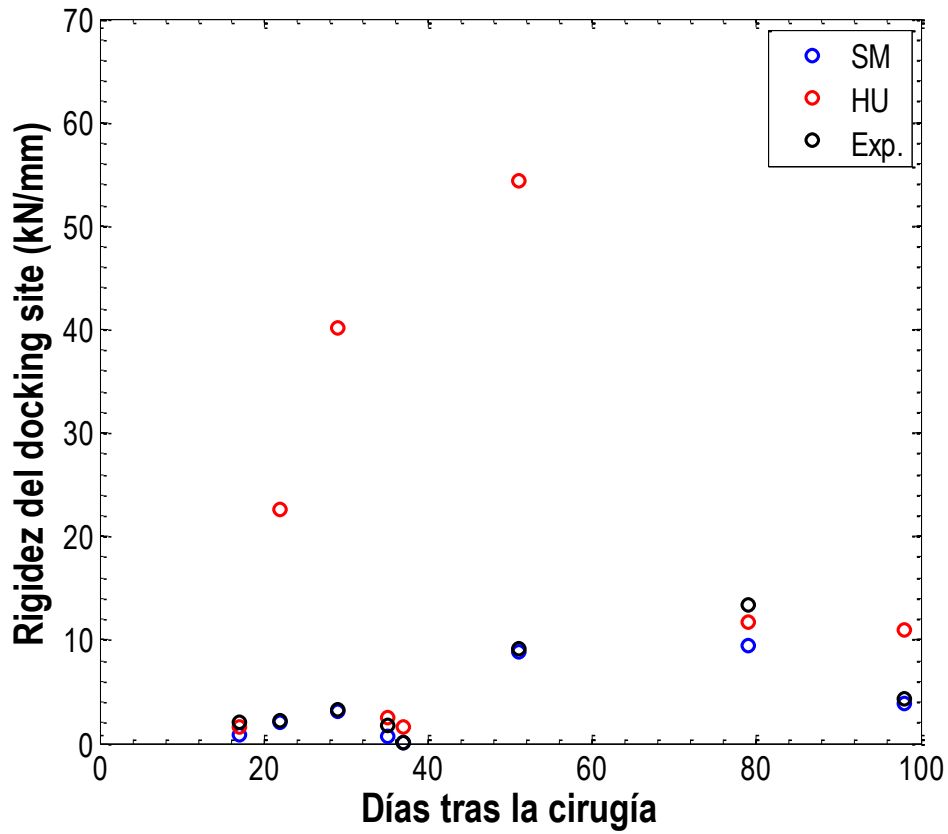


Figura 5-3: Rigidez del docking site durante los primeros 100 días incluyendo propiedades del tejido óseo inmaduro obtenidas experimentalmente.

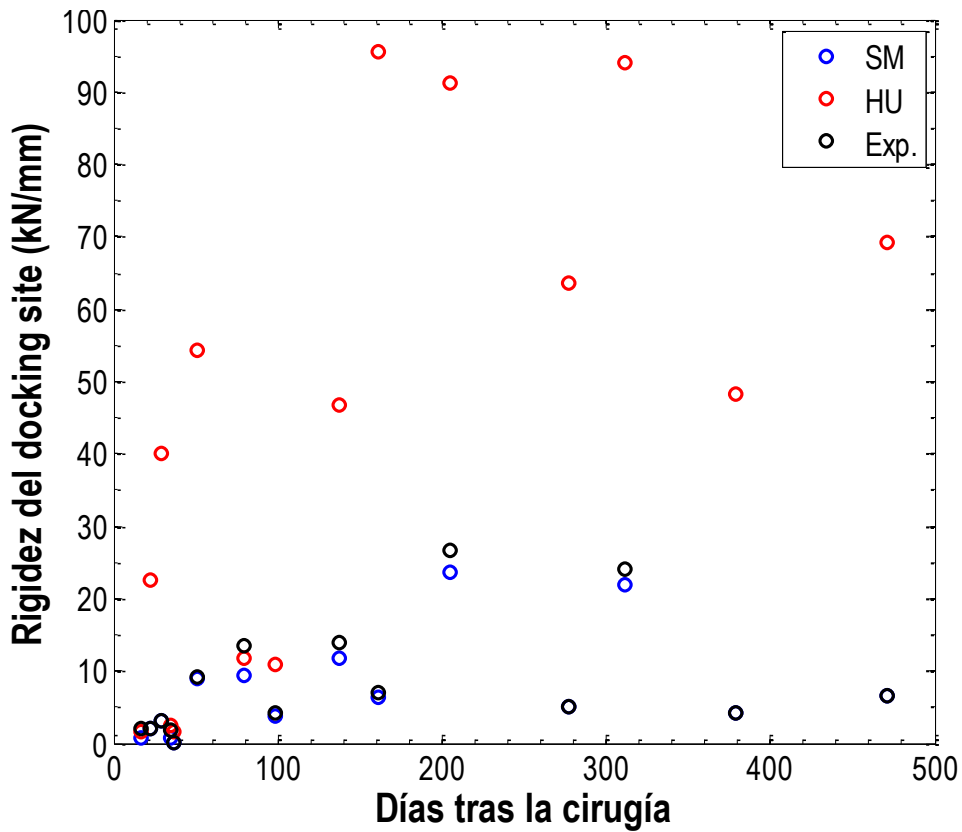


Figura 5-4: Rigidez del docking site incluyendo propiedades del tejido óseo inmaduro obtenidas experimentalmente.

Llegado este punto será necesario aplicar una visión simplificada al problema para tratar de encontrar la solución a dichas diferencias. El problema podría simplificarse como una serie de elementos elásticos colocados en serie. La suma de éstos elementos elásticos en serie hace que el elemento más débil sea quien tiene mayor influencia en el resultado. En este caso los tejidos blandos tendrían la mayor influencia en el resultado. Existe una diferencia bastante elevada entre las propiedades que se asignan a los tejidos blandos en el caso de la segmentación manual (1-2 MPa) y por Hounsfield Units (50 MPa). Es por esto que exista una diferencia tan alta entre los resultados.

Por otro lado, en ambas metodologías se observa un patrón similar. Las propiedades más altas se alcanza en los días 137, 205 y 311 (Figura 5-1). Los días 277, 379 y 471 deberían alcanzar unos valores de rigidez superiores o al menos similares, no obstante, la rigidez cae en estos casos. En el caso de los días 137, 205 y 311 corresponde a la oveja número 10 mientras que los días 277, 379 y 471 hacen referencia a la oveja número 5. En este caso se puede comprobar que el volumen del espécimen influye en las propiedades de éste. En la Tabla 5-1 se muestran los volúmenes de las ovejas 5 y 10 en cada uno de los días. Las diferencias de volumen entre especímenes son superiores al doble. Si se elimina la influencia del volumen normalizando la rigidez según éste se puede comprobar que la diferencia entre los valores disminuye notablemente (Figura 5-5).

Tabla 5-1: Volumen de los tejidos (mm<sup>3</sup>).

Oveja	Días tras la cirugía	Tejidos blandos	Tejido óseo inmaduro	Cortical	Volumen total
10	137	1058,822	2159,18	5278,15	8496,152
	205	1396,233	2119,051	5803,54	9318,824
	311	1416,401	1705,52	5345,8	8467,721
5	277	766,476	257,872	3010,01	4034,358
	379	883,588	196,124	2999,77	4079,482
	471	883,507	237,784	2856,05	3977,341

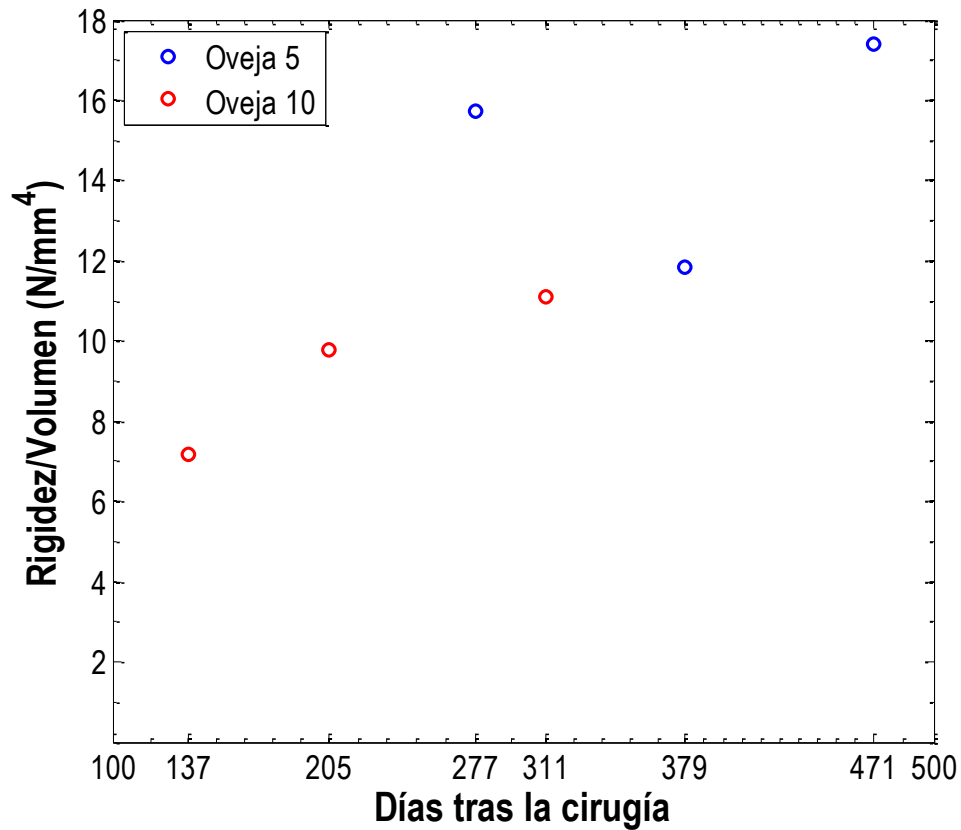


Figura 5-5: Rigidez del docking site normalizada respecto al volumen para las ovejas 5 y 10 (Caso HU).

De la descripción de los resultados se puede extraer otra conclusión clara. Sea cual sea la metodología empleada la rigidez en los días 35 y 37 no sigue las tendencias y resulta muy baja en comparación con el resto de días. Una posible respuesta se puede extraer del análisis de las radiografías en estos dos días (Figura 5-6)

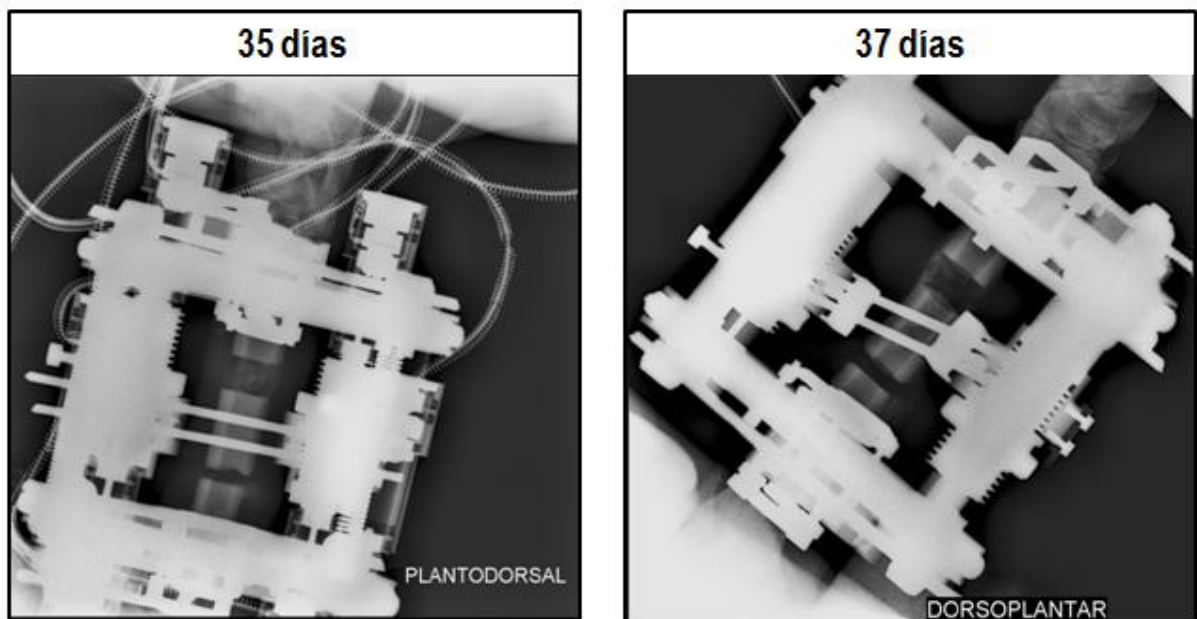


Figura 5-6: Radiografías de las ovejas correspondientes con los días 35 y 37 tras la cirugía.

Los dos segmentos de hueso cortical se encuentran muy separados. En el resto de ovejas esta distancia resulta menor (Figura 5-7). En estos casos, con poco tiempo tras la cirugía, el espacio entre ambos se llena de tejido blando y lentamente de tejido óseo inmaduro. En otras ovejas en las que la distancia entre los segmentos de hueso cortical es menor el tejido blando no absorbe toda la tensión como en este caso.

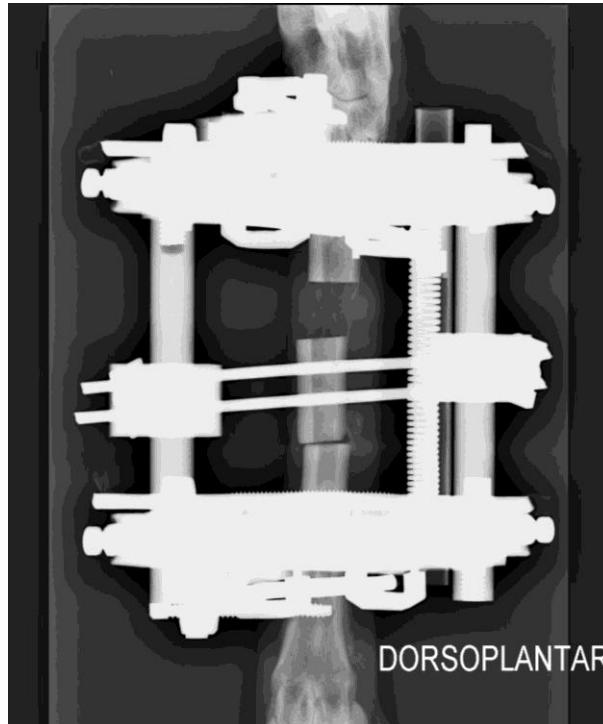


Figura 5-7: Radiografía del día 29 tras la cirugía.

En este punto, habría que estudiar la influencia de la distancia entre los segmentos. En algunos casos llegan casi a tocarse. En estos casos se han separado de forma manual como se detalló en el apartado 3. Sin embargo, en la asignación de HU no es posible.

## 5.2 Estudio de sensibilidad

Será necesario validar los resultados obtenidos de las simulaciones variando el número de elementos de las mallas. De esta forma se podrá comprobar que el número de elementos empleado no resulta influyente en los resultados. Para esto se mostrará la rigidez de uno de los especímenes en 3 configuraciones de mallado diferentes (Figura 5-8). En la tabla 5-2 aparece el número de elementos de cada una de las configuraciones. Según la figura 5-8 la configuración empleada en la simulación, con el menor número de elementos reporta un valor de rigidez medio entre las otras dos. La diferencia entre los resultados de cada una de ellas resulta inferior al 20% por lo que podríamos considerar que el mallado no tiene influencia.

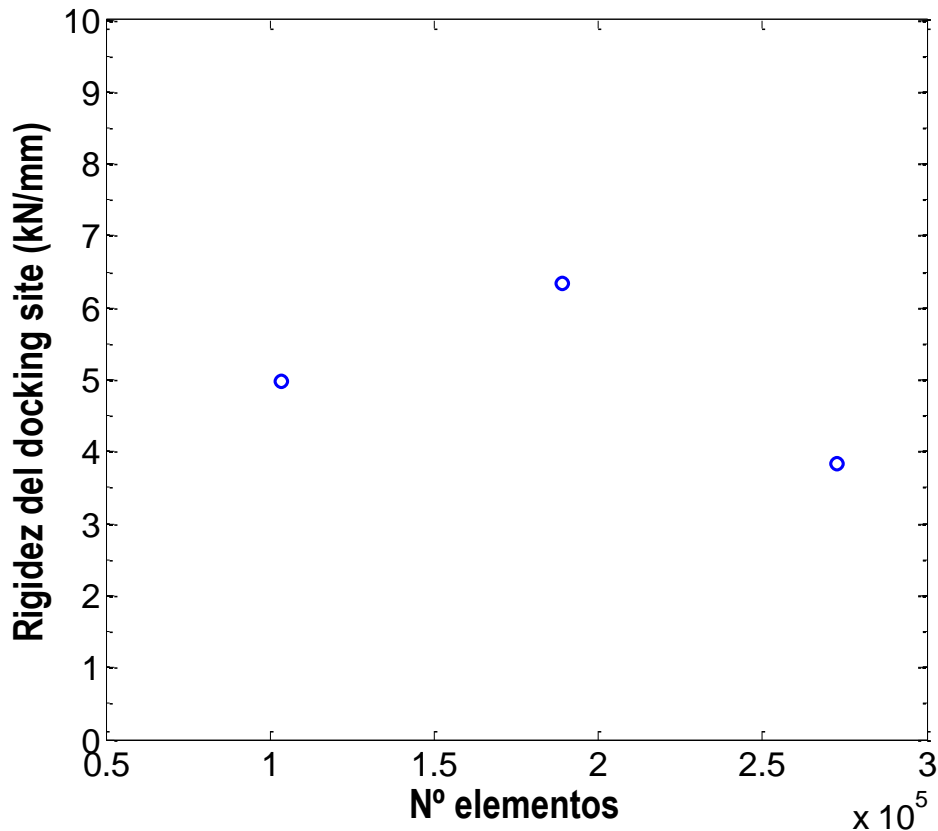


Figura 5-8: Estudio de sensibilidad en el espécimen 277 días tras la cirugía.

### 5.3 Comparación con estudios previos

Como ya se ha comentado anteriormente, este proyecto llama a completar el estudio y simulación por elementos finitos de la rigidez de los segmentos que aparecen en el fenómeno del transporte óseo. En otras investigaciones se determinó la rigidez del callo de distracción de los mismos especímenes por lo que podría ser interesante comparar la rigidez obtenida en cada uno de las simulaciones.

En la segmentación manual (Figura 5-9) se puede concluir que la rigidez del docking site comienza siendo similar al callo de distracción, pero una vez que avanza el tiempo tras la cirugía la rigidez del callo crece más que en el docking site. En el caso Hounsfield Units (Figura 5-10) la rigidez durante los primeros días en el caso de docking site crece de una forma mucho más acelerada que en el callo de distracción. A partir de este punto la tendencia es similar que en el caso de la segmentación manual, la rigidez del callo continua creciendo hasta alcanzar valores de aproximadamente el doble que en el docking site.

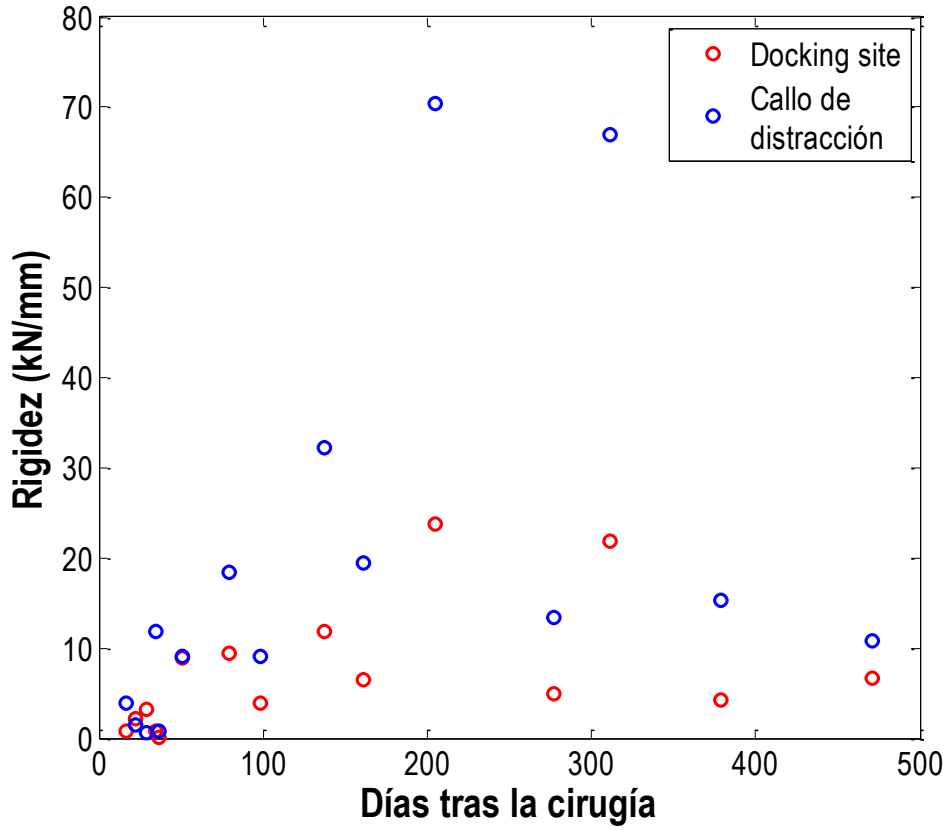


Figura 5-9: Rigidez del callo y del docking site por segmentación manual.

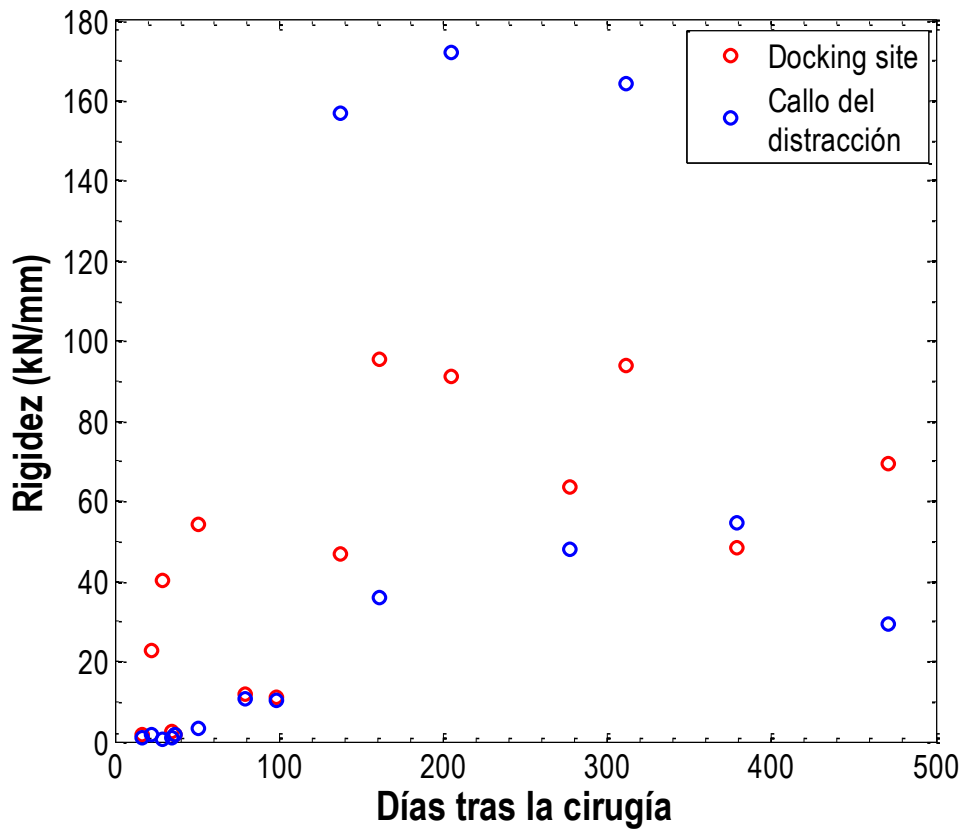


Figura 5-10: Rigidez del callo y del docking site por Hounsfield Units.



## 5.4 Conclusiones

Las conclusiones que se extraen de la discusión de los resultados son las siguientes:

- La asignación de propiedades a los tejidos mediante la relación entre escala de grises (Hounsfield Units) y módulo elástico según Shefelbine et al. (2005) reporta una rigidez superior que asignando propiedades constantes a los tejidos segmentados de forma manual.
- El volumen del segmento en el docking site influye de forma significativa en el resultado. Normalizando los resultados de la rigidez con el volumen se observa una tendencia creciente de la rigidez en función del tiempo transcurrido tras la cirugía.
- Del análisis de las radiografías de los días 35 y 37 se puede extraer que en el caso del docking site la distancia resultante entre fragmentos de hueso cortical resulta influyente en la rigidez, especialmente en los primeros días tras la cirugía.
- Relacionado con la distancia entre los segmentos, y comparando los resultados del callo de distracción obtenidos anteriormente (López-Montero, 2015) la asignación de escala de grises a segmentos muy próximo pero físicamente separados puede perturbar los resultados, simulando un tejido continuo cuando se tratan de dos fragmentos claramente separados.

## 5.5 Limitaciones del proyecto

A lo largo del proyecto se han realizado una serie de hipótesis que sería recomendable recordar:

- En primer lugar se han diferenciado cuatro tipos de tejidos son los que aparecen en cada uno de los modelos: el tejido blando, el tejido óseo inmaduro, el hueso cortical y la médula ósea.
- La distancia entre imágenes es variable en función del espécimen y varía entre 0.6 y 1 mm. Los resultados de la asignación de Hounsfield Units pueden verse influidos debido a la baja resolución.
- No se han considerado relaciones de contacto entre segmentos de hueso cortical en los que existía contacto sin haber comenzado la fusión de los fragmentos.
- No se ha considerado la porosidad de los tejidos en la segmentación manual.
- Se supuso que todos los materiales eran elásticos lineales e isotropos.
- La rigidez de cada docking site se determinó bajo la hipótesis de pequeños desplazamientos.

## 5.6 Líneas de futuro

Este proyecto, como se ha mencionado anteriormente, cierra la línea de determinación de propiedades por métodos numéricos en el proceso del transporte óseo. No obstante, sería muy interesante simular este mismo problema como un problema de contacto en los casos en los que los fragmentos de hueso cortical llegan a tocarse, sin haber comenzado su unión.

Otro punto de investigación, ya aplicado al callo de distracción, sería la asignación de porosidad a los modelos de segmentación manual. De esta forma se podría simular la heterogeneidad de los tejidos. La porosidad disminuye con el tiempo tras la curación, al igual que aumenta la rigidez del tejido óseo inmaduro. Asignando una porosidad aleatoria y propiedades a los tejidos de forma que el valor de módulo elástico medio sea similar a los resultados medidos por nanoindentación (Mora-Macías et al., 2017) se puede determinar la rigidez del docking site de una forma más veraz que con la asignación de propiedades constantes a los tejidos.

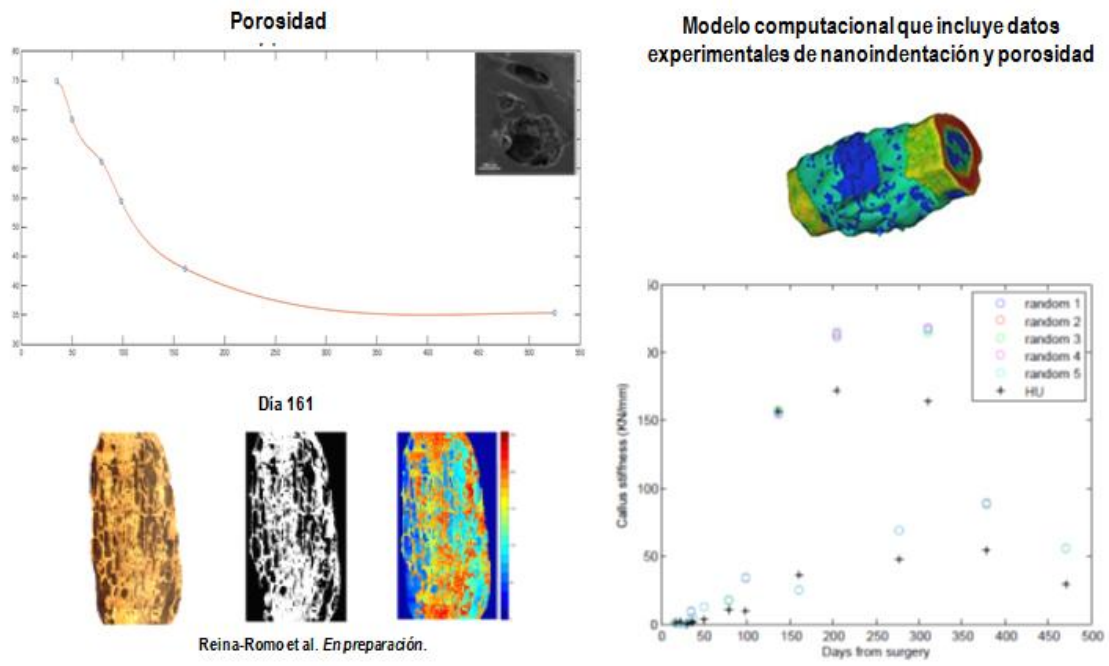


Figura 5-11: Esquema de investigaciones futuras utilizando la porosidad asignada de forma aleatoria.

# REFERENCIAS

---

- Aarnes, T., Steen, H., Ludvigsen, P., Waanders, N.A., Huiskes, R., and Goldstein, S.A. (2005). In vivo assessment of regenerate axial stiffness in distraction osteogenesis. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*, 23(2):494–498.
- Abbott, L. C. (1927). The operative lengthening of the tibia and fibula. *J Bone Joint Surg.* 9, 128-152.
- Adams, M. A., Burton, K., Bogduk, N. & Dolan, P. (2006). *The Biomechanics of Back Pain*. Elsevier Health Sciences, ISBN 0443100683.
- al Ruhaimi, K. A. (2001). Comparison of different distraction rates in the mandible: an experimental investigation. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 30, 220-227.
- Amanata, N., Hong He, L., Swain, M. V., and Little, D. A. (2008) The effect of zoledronic acid on the intrinsic material properties of healing bone: an indentation study. *Medical engineering & physics*, 30(7):843–7.
- Aronson, J. (1993). Temporal and spatial increases in blood flow during distraction osteogenesis. *Clin Orthop Relat Res.* 301, 124-131.
- Aronson, J. (1994). Experimental and clinical experience with distraction osteogenesis. *Cleft Palate Craniofac J.* 31, 473-81.
- Aronson, J., Harrison, B. H., Stewart, C. L., and Harp Jr., J. A. (1989). The histology of distraction osteogenesis using different external fixators. *Clinical orthopaedics and related research*, (241)(241):106–116.
- Aronson, J. & Shen, X. (1994). Experimental healing of distraction osteogenesis comparing metaphyseal and diaphyseal sites. *Clin Orthop Rel Res.* 301, 25-30.
- Aronson, J., Shen, X. C., Skinner, R. A., Hogue, W. R., Badger, T. M., and Lumpkin Jr., C. K. (1997). Rat model of distraction osteogenesis. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*, 15(2):221–226.
- Augat, P., Merk, J., Genant, H. K., and Claes, L. (1997) Quantitative assessment of experimental fracture repair by peripheral computed tomography. *Calcified tissue international*, 60(2):194–9.
- Bonnard, C., Favard, L., Sollogoub, I. & Glorion, B. (1993). Limb lengthening in children using the Ilizarov method. *Clin Orthop Relat Res.* 293, 83-8.
- Burger, E. H. (2001). Experiments on cell mechanosensitivity: bone cells as mechanical engineers. *Bone Mechanics Handbook*, chapter 28. CRC Press Boca Raton.
- Cattaneo, P. M., Dalstra, M., and Frich, L. H. (2001). A three-dimensional finite element model from computed tomography data: a semi-automated method. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers. Part H, Journal of engineering in medicine*, 215(2):203–13.

Claes, L., Augat, P., Schorlemmer, S., Konrads, C., Ignatius, A., and Ehrnthaller, C. (2008). Temporary distraction and compression of a diaphyseal osteotomy accelerates bone healing. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*, 26(6):772–7.

Claes, L., Veesser, A., Göckelmann, M., Horvath, D., Dürselen, L., Ignatius, A. (2010). A novel method for lateral callus distraction and its importance for the mechano-biology of bone formation. *Bone*, 47:712-7

Codivilla, A. (1905). On the means of lengthening, in the lower limbs, the muscles and tissues which are shortened through deformity. *Am J Orthop Surg*. 2, 353.

Cowin, S. C. (1999). Structural changes in living tissues. *Meccanica*. 34, 379-98.

Cowin, S. C., Moss-Salentijn, L. & Moss, M. L. (1991). Candidates for the mechanosensory system in bone. *J Biomech Eng*. 113, 191-7.

Choi, I. H., Shim, J. S., Seong, S. C., Lee, M. C., Song, K. Y., Park, S. C., Chung, C. Y., Cho, T. J. & Lee, D. Y. (1997). Effect of the distraction rate on the activity of the osteoblast lineage in distraction osteogenesis of rat's tibia. Immunostaining study of the proliferating cell nuclear antigen, osteocalcin, and transglutaminase C. *Bull Hosp Jt Dis*. 56, 34-40.

Dahl, M. T. & Fischer, D. A. (1991). Lower extremity lengthening by Wagner's method and by callus distraction. *Orthop Clin North Am*. 22, 643-9.

de la Huerta, F. (1994). Correction of the neglected clubfoot by the Ilizarov method. *Clin Orthop Relat Res*. 301, 89-93.

de Pablos Jr., J., and Canadell, J. (1990). Experimental physal distraction in immature sheep. *Clinical orthopaedics and related research*, (250)(250):73–80.

Delloye, C., Delefortrie, G., Coutelier, L. & Vincent, A. (1990). Bone regenerate formation in cortical bone during distraction lengthening: an experimental study. *Clin Orthop*. 250, 34-42.

Dwyer, J. S., Owen, P. J., Evans, G. A., Kuiper, J. H., and Richardson, J. B. (1996). Stiffness measurements to assess healing during leg lengthening. A preliminary report. *The Journal of bone and joint surgery. British volume*, 78(2):286–289.

Farhadieh, R. H., Gianoutsos, M. P., Dickinson, R. & Walsh, W. R. (2000). Effect of distraction rate on biomechanical, mineralization, and histologic properties of an ovine mandible model. *Plast Reconstr Surg*. 105, 889-895.

Fink, B., Pollnau, C., Vogel, M., Skripitz, R., Enderle, A. (2003). Histomorphometry of Distraction Osteogenesis During Experimental Tibial Lengthening. *Journal of Orthopaedic Trauma*, 17(2):133-8.

Fischgrund, J., Paley, D. & Suter, C. (1994). Variables affecting time to bone healing during limb lengthening. *Clin Orthop Relat Res*. 301, 31-7.

Gil-Albarova, J., de Pablos, J., Franzeb, M. & Canadell, J. (1992). Delayed distraction in bone lengthening. Improved healing in lambs. *Acta Orthop Scand*. 63, 604-6.

Grant, A. D., Atar, D. & Lehman, W. B. (1992). The Ilizarov technique in correction of complex foot deformities. *Clin Orthop Relat Res*. 280, 94-103.

Green, S. A. (1991). The Ilizarov method: Rancho technique. *Orthop Clin North Am*. 22, 677-88.

Green, S. A., Harris, N. L., Wall, D. M., Ishkanian, J. & Marinow, H. (1992). The Rancho mounting technique for the Ilizarov method. A preliminary report. *Clin Orthop Relat Res.* 280, 104-16.

Floerkemeier, T., Aljuneidi, W., Reifenrath, J., Angrisani, N., Rittershaus, D., Gottschalk, D., Besdo, S., Meyer-Lindenberg, A., Windhagen, H., and Thorey, T. (2011). Telemetric in vivo measurement of compressive forces during consolidation in a rabbit model. *Technology and health care : official journal of the European Society for Engineering and Medicine*, 19(3):173–183.

Floerkemeier, T., Thorey, F., Hurschler, C., Wellmann, M., Witte, F., and Windhagen, H. (2010). Stiffness of callus tissue during distraction osteogenesis. *Orthopaedics & traumatology, surgery & research : OTSR*, 96(2):155–160.

Forriol, F., Denaro, L., Longo, U. G., Taira, H., Maffulli, N., and Denaro, V. (2010). Bone lengthening osteogenesis, a combination of intramembranous and endochondral ossification: an experimental study in sheep. *Strategies in trauma and limb reconstruction (Online)*, 5(2):71–78.

Gupta, S., van der Helm, F. C. T., Sterk, J. C., van Keulen, F., and Kaptein, B. L. (2004). Development and experimental validation of a three-dimensional finite element model of the human scapula. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers. Part H, Journal of engineering in medicine*, 218(2):127–42.

Harp, J. H., Aronson, J., and Hollis, M. (1994). Noninvasive determination of bone stiffness for distraction osteogenesis by quantitative computed tomography scans. *Clinical orthopaedics and related research*, (301):42–8.

Holbein, O., Neidlinger-Wilke, C., Suger, G., Kinzl, L. & Claes, L. (1995). Ilizarov callus distraction produces systemic bone cell mitogens. *J Orthop Res.* 13, 629-38.

Ilizarov, G. A. (1971). Basic principles of transosseous compression and distraction osteosynthesis. *Ortop Travmatol Protez.* 32, 7-15.

Ilizarov, G. A. (1988). The principles of the Ilizarov method. *Bull Hosp Jt Dis Orthop Inst.* 48, 1.

Ilizarov, G. A. (1989a). The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues. Part I: the influence of stability of fixation and soft-tissue preservation. *Clin Orthop.* 238, 249-81.

Ilizarov, G. A. (1989b). The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues. Part II: the influence of the rate and frequency of distraction. *Clin Orthop.* 239, 263-85.

Ilizarov, G. A. (1990). Clinical application of the tension-stress effect for limb lengthening. *Clin Orthop Relat Res.* 250, 8-26.

Ilizarov, G. A. & Gracheva, V. I. (1971). Bloodless treatment of congenital pseudoarthrosis of the crus with simultaneous elimination of shortening using dosed distraction. *Orthop Traumatol Protez.* 32, 42-6.

Kallio, T. J., Vauhkonen, M. V., Peltonen, J. I. & Karaharju, E. O. (1994). Early bone matrix formation during distraction. A biochemical study in sheep. *Acta Orthop Scand.* 65, 467{71.

Kaplan, F. S., Hayes, W. C., Keaveny, T. M., A., B., Einhorn, T. A. & Iannotti, J. P. (1994). Form and function of bone, in *Orthopaedic Basic Science*". American Academy of Orthopaedic Surgeons, Columbus, Ohio.

Kenwright, J. & White, S. H. (1993). A historical review of limb lengthening and bone transport. *Injury.* 24, S9-19.

- Khaleel, A. & Pool, R. D. (2003). (i) Congenital pseudoarthrosis and lengthening. *Curr Orthop.* 17, 411-417.
- King, N. S., Liu, Z. J., Wang, L. L., Chiu, I. Y., Whelan, M. F. & Huang, G. J. (2003). Effect of distraction rate and consolidation period on bone density following mandibular osteodistraction in rats. *Arch Oral Biol.* 48, 299-308.
- Kojimoto, H., Yasui, N., Goto, T., Matsuda, S., and Shimomura, Y.(1988). Bone lengthening in rabbits by callus distraction. The role of periosteum and endosteum. *The Journal of bone and joint surgery.* British volume, 70(4):543–549.
- Krawczyk, A., Kuryszko, J., Wall, A., Dragan, S., Kulej, M. (2007). Experimental studies on the effect of osteotomy technique on the bone regeneration in distraction osteogénesis. *Bone,* (40):11.
- Jazrawi, LM., Majeska, RJ., Klein, ML., Kagel, E. (1998). Bone and cartilage formation in an experimental model of distraction osteogenesis. *Journal of Orthopaedic Trauma,* 12(2):111-6.
- Lanyon, L. E. (1987). Functional strain in bone tissue as an objective, and controlling stimulus for adaptive bone remodelling. *J Biomech.* 20, 1083-93.
- Lanyon, L. E. (1993). Osteocytes, strain detection, bone modeling and remodeling. *Calcif Tissue Int.* 53, S102-6.
- Leong, P. L., and Morgan, E. F. (2008). Measurement of fracture callus material properties via nanoindentation. *Acta biomaterialia,* 4(5):1569–1575.
- P L Leong and E F Morgan. Correlations between indentation modulus and mineral density in bone-fracture calluses. *Integrative and comparative biology,* 49(1):59–68, July 2009.
- Li, G., Simpson, AHRW., Kenwright, J., Triffit, JT. (1999) Effect of lengthening rate on angiogenesis during distraction osteogenesis. *Journal of Orthopaedic Research,* 17(3):362-7.
- Liu, X. S., Zhang, X. H., Rajapakse, C. S., Wald, M. J., Magland, J., Sekhon, K. K., Adam, M. F., Sajda, P., Wehrli, F. W., and Guo, X. E. (2010). Accuracy of high-resolution in vivo micro magnetic resonance imaging for measurements of microstructural and mechanical properties of human distal tibial bone. *Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research,* 25(9):2039–2050.
- López-Pliego EM, Giráldez-Sánchez MÁ, Mora-Macías J., Reina-Romo E., Domínguez J. (2016). Histological evolution of the regenerate during bone transport and experimental study in sheep. *Injury;* 47 Supple 3: S7-S14. doi: 10.1016/S0020-1383(16)306000-3, September 2016.
- Lucchini, R., Carnelli, D., Ponzoni, M., Bertarelli, E., Gastaldi, D., and Vena, P. (2011). Role of damage mechanics in nanoindentation of lamellar bone at multiple sizes: experiments and numerical modeling. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials,* 4(8):1852–63.
- Manjubala, I., Liu, Y., Epari, D. R., Roschger, P., Schell, H., Fratzl, P., and Duda, G. N. (2009). Spatial and temporal variations of mechanical properties and mineral content of the external callus during bone healing. *Bone,* 45(2):185–192.
- Marieb, E. N. (2004). *Bone and skeletal tissues Part A. Human anatomy and physiology.* Sixth edition. Power point lecture slide presentation by Vicen Austin. University of Kentucky. Pearson Education Inc, publishing as Benjamin Cummings.

Marieb, E. N. & Hoehn, K. (2007). Human anatomy & physiology. Pearson Education, ISBN 0321372948.

Mizuta, H., Nakamura, E., Mizumoto, Y., Kudo, S., Takagi, K. (2003). Effect of distraction frequency on bone formation during bone lengthening. A study in chickens. *Acta Orthopædica Scandinava*, 74(6):709-13.

Mora-Macías, J., Reina-Romo, E and Domínguez, J. (2015a). Distraction device to estimate the axial stiffness of the callus in vivo. *Medical engineering & physics*, page (Bajo revisión).

Mora-Macías, J., Reina-Romo, E., López-Pliego, M., Giráldez-Sánchez, M. A., and Domínguez, J. (2015b). In Vivo Mechanical Characterization of the Distraction Callus During Bone Consolidation. *Annals of biomedical engineering*.

Mora-Macías, J., Reina-Romo, E., Morgaz, J., and Domínguez, J. (2015c). In vivo gait analysis during bone transport. *Annals of Biomedical Engineering*, Feb(4):(DOI: 10.1007/s10439-015-1262-2).

Mora-Macías, J., Pajares, A., Miranda, P., Domínguez, J., Reina-Romo, E. (2017). Mechanical characterization via nanoindentation of woven bone developed during bone transport. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 74, 236-244.

Mosheiff, R., Cordey, J., Rahn, B. A., Perren, S. M. & Stein, H. (1996). The vascular supply to bone in distraction osteoneogenesis: an experimental study. *J Bone Joint Surg Br.* 78, 497-508.

Mulder, M., Small, N., Botma, Y., MacKenzie, J. & Ziady, L. (2002). Basic Principles of Wound Care. Pearson South Africa, ISBN 1868911365.

Müller, R., and Rügsegger, P. (1995). Three-dimensional finite element modelling of non-invasively assessed trabecular bone structures. *Medical engineering & physics*, 17(2):126-33.

Murray, J. H. (1996). Distraction histogenesis: principles and indications. *J Am Acad Orthop Surg.* 4, 317-327.

Newitt, D. C., Majumdar, S., van Rietbergen, B., von Ingersleben, G., Harris, S. T., Genant, H. K., Chesnut, C., Garnero, P., and MacDonald, B. (2002). In vivo assessment of architecture and micro-finite element analysis derived indices of mechanical properties of trabecular bone in the radius. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 13(1):6-17.

Ohyama, M., Miyasaka, Y., Sakurai, M., Yokobori Jr, A. M., and Sasaki, S. (1994). The mechanical behavior and morphological structure of callus in experimental callotaxis. *Bio-medical materials and engineering*, 4(4):273-281.

Okazaki, H., Kurokawa, T., Nakamura, K., Matsushita, T., Mamada, K., and Kawaguchi, H. (1999). Stimulation of bone formation by recombinant fibroblast growth factor-2 in callotaxis bone lengthening of rabbits. *Calcified tissue international*, 64(6):542-546.

Oliver, W.C., and Pharr, G.M. (2011). An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *Journal of Materials Research*, 7(06):1564-1583.

Paley, D. (1990). Problems, obstacles, and complications of limb lengthening by the Ilizarov technique. *Clin Orthop Relat Res.* 250, 81-104.

Paley, D. (1993). The correction of complex foot deformities using Ilizarov's distraction osteotomies. *Clin Orthop Relat Res.* 293, 97-111.

Paley, D., Catagni, M., Argnani, F., Prevot, J., Bell, D. & Armstrong, P. (1992). Treatment of congenital pseudoarthrosis of the tibia using the Ilizarov technique. *Clin Orthop Relat Res.* 280, 81-93.

Panjabi, M. M., Lindsey, R. W., Walter, S. D. and White 3rd., A. A. (1989). The clinician's ability to evaluate the strength of healing fractures from plain radiographs. *Journal of orthopaedic trauma*, 3(1):29–32.

Panjabi, M. M., Walter, S. D., Karuda, M., White, A. A. and Lawson, J. P. (1985). Correlations of radiographic analysis of healing fractures with strength: a statistical analysis of experimental osteotomies. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*, 3(2):212–218.

Pietrzak, W. S. (2008). *Musculoskeletal Tissue Regeneration: Biological Materials and Methods*. Humana Press, ISBN 1588299090.

Price, C. T. & Mann, J. W. (1991). Experience with the Orthofix device for limb lengthening. *Orthop Clin North Am.* 22, 651-61.

Putti, V. (1934). Operative lengthening of the femur. *Surg Gynecol Obstet.* 58, 318.

Putti, V. (1990). The operative lengthening of the femur. 1921. *Clin Orthop Relat Res*, 250, 4-7.

Reina-Romo, E. (2009). Distraction osteogenesis: mechanobiological modeling and numerical applications.

Raum, K., Leguerney, I., Chandelier, F., Bossy, E., Talmant, M., Saied, A., Peyrin, F. and Laugier, P. (2005). Bone microstructure and elastic tissue properties are reflected in QUS axial transmission measurements. *Ultrasound in medicine & biology*, 31(9):1225–1235.

Riddle, R. C. & Donahue, H. J. (2009). From streaming-potentials to shear stress: 25 years of bone cell mechanotransduction. *J Orthop Res.* 27, 143-9.

Robling, A. G., Castillo, A. B. & Turner, C. H. (2006). Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling. *Annu Rev Biomed Eng.* 8, 455-98.

Richards, M., Goulet, J. A., Schaffler, M. B., and Goldstein, S. A. (1999). Temporal and spatial characterization of regenerate bone in the lengthened rabbit tibia. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 14(11):1978–1986.

Rodriguez-Florez, N., Oyen, M. L. and Shefelbine, S. J. (2013). Insight into differences in nanoindentation properties of bone. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 18:90–99.

Rodriguez-Florez, N., Garcia-Tunon, E., Mukadam, Q., Saiz, E., Oldknow, K. J., Farquharson, C., Millán, J. L., Boyde, A. and Shefelbine, S. J. (2014). An investigation of the mineral in ductile and brittle cortical mouse bone. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*.

Rodriguez-Florez, N., Oyen, M. L. and Shefelbine, S. J. (2014). Age-related changes in mouse bone permeability. *Journal of biomechanics*, 47(5):1110–6.

Rozbruch, S. R. & Ilizarov, S. (2006). *Limb Lengthening and Reconstruction Surgery*. CRC Press, ISBN 0849340519, 9780849340512.



Samchukov, M. L., Cope, J. B. & Cherkashin Mosby, A. M. (2001). *Craniofacial Distraction Osteogenesis*. Heidelberg: Springer-Verlag. Inc. St. Louis. 22-23.

Sencimen, M., Auydintug, YS., Ortakoglu, K., Karslioglu, Y., Gunhan, O., Gunaydin, Y. (2007). Histomorphometrical analysis of new bone obtained by distraction osteogenesis and osteogenesis by periosteal distraction in rabbits. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 36:235-42.

Shelfelbine, S. J., Simon, U., Claes, L., Gold, A., Gabet, A., Bab, I., Müller, R. and Augat, P. (2005). Prediction of fracture callus mechanical properties using micro-CT images and voxel-based finite element analysis. *Bone*, 36(3):480-8.

Taddei, F., Viceconti, M., Manfrini, M. and Toni, A. (2003). Mechanical strength of a femoral reconstruction in paediatric oncology: a finite element study. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers. Part H, Journal of engineering in medicine*, 217(2):111-9.

Kuangshin Tai, Ming Dao, Suresh, S., Palazoglu, A., and Ortiz, C. (2007). Nanoscale heterogeneity promotes energy dissipation in bone. *Nature materials*, 6(6):454-62.

Kuangshin Tai, Ulm, F.J., and Ortiz, C. (2006). Nanogranular origins of the strength of bone. *Nano letters*, 6(11):2520-5.

Tracqui, P., Broisat, A., Toczek, J., Mesnier, N., Ohayon, J., and Riou, L. (2011). Mapping elasticity moduli of atherosclerotic plaque in situ via atomic force microscopy. *Journal of structural biology*, 174(1):115-23.

Trueta, J. & Trias, A. (1961). The vascular contribution to osteogenesis. IV. The effect of pressure upon the epiphysial cartilage of the rabbit. *J Bone Joint Surg Br.* 43-B, 800-13.

van Rietbergen, B., Weinans, H., Huiskes, R., and Odgaard, A. (1995). A new method to determine trabecular bone elastic properties and loading using micromechanical finite-element models. *Journal of biomechanics*, 28(1):69-81.

White, S. H. & Kenwright, J. (1991). The importance of delay in distraction of osteotomies. *Orthop Clin North Am.* 22, 569-79.

Webb, J., Herling, G., Gardner, T., Kenwright, J., and Simpson, A. H. (1996). Manual assessment of fracture stiffness. *Injury*, 27(5):319-320.

Yasui, N., Kojimoto, H., Shimizu, H. & Shimomura, Y. (1991). The effect of distraction upon bone, muscle and periosteum. *Orthop Clin North Am.* 22, 563-567.

Yasui, N., Kojimoto, H. Sasaki, K., Kitada, A., Shimizu, H. & Shimomura, Y. (1993). Factors affecting callus distraction in limb lengthening. *Clin Orthop Relat Res.* 293, 55-60.

Ying, J. Y. (2001). *Nanostructured Materials: Applications to Sensors, Electronics, and Passivation Coatings*. Academic Press, ISBN 0127444513.

Yuya, P. A., Amborn, E. K., Beatty, M. W., and Turner, J. A. (2010) Evaluating anisotropic properties in the porcine temporomandibular joint disc using nanoindentation. *Annals of biomedical engineering*, 38(7):2428-37.