

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Ingeniería Industrial

Implementación de Modelos de Remodelación Ósea Basados en Poblaciones Celulares en un Código de Elementos Finitos

Autor: Laura Bordons Carriazo

Tutor: Javier Martínez Reina

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

Sevilla, 2018



Trabajo Fin de Máster
Máster Universitario en Ingeniería Industrial

Implementación de Modelos de Remodelación Ósea Basados en Poblaciones Celulares en un Código de Elementos Finitos

Autor:

Laura Bordons Carriazo

Tutor:

Javier Martínez Reina

Profesor Contratado Doctor

Dpto. Ingeniería Mecánica y Fabricación

Escuela Técnica Superior de Ingeniería

Universidad de Sevilla

Sevilla, 2018

Trabajo Fin de Máster: Implementación de Modelos de Remodelación Ósea Basados en Poblaciones Celulares en un Código de Elementos Finitos

Autor: Laura Bordons Carriazo

Tutor: Javier Martínez Reina

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

Presidente:

Vocales:

Secretario:

Acuerdan otorgarle la calificación de:

Sevilla, 2018

El Secretario del Tribunal

A mi familia

A mis maestros

A mis amigos

ÍNDICE

1	Introducción	1
1.1	<i>Motivación</i>	1
1.2	<i>Objetivos</i>	2
1.3	<i>Estructura del documento</i>	2
2	Biología ósea	5
2.1	<i>Tipos de hueso</i>	5
2.1.1	Huesos largos	6
2.1.2	Huesos cortos	7
2.1.3	Huesos planos	7
2.1.4	Huesos irregulares	7
2.1.5	Huesos sesamoideos	7
2.2	<i>Tejido óseo</i>	8
2.2.1	Matriz ósea	8
2.2.2	Células óseas	8
2.3	<i>Tipos de tejido óseo</i>	11
2.3.1	Tejido óseo cortical	11
2.3.2	Tejido óseo trabecular	12
2.4	<i>Comportamiento mecánico del hueso</i>	12
2.4.1	Hueso cortical	12
2.4.2	Hueso trabecular	13
2.5	<i>Remodelación ósea</i>	14
2.5.1	Fisiología del proceso de ROI	15
2.5.2	Etapas de la ROI	16
3	Modelo	19
3.1	<i>Modelo de partida</i>	19
3.1.1	Ecuaciones principales del modelo de partida	20
3.1.2	Mecanismo de regulación bioquímica	23
3.1.3	Mecanismo de regulación geométrica	26
3.1.4	Mecanismo de regulación biomecánica	27
3.1.5	Cálculo de la porosidad	30
3.1.6	Proceso de mineralización	30
3.1.7	Comparación resultados del modelo de partida	33
3.2	<i>Modificaciones sobre el modelo de partida</i>	34
3.2.1	Convergencia en la población de OBp	35
3.2.2	Densidad de energía de deformación constante	36
3.2.3	Inclusión del daño	38
3.3	<i>Modelo con PMO</i>	42

3.4	<i>Implementación en Abaqus</i>	43
4	Resultados	45
4.1	<i>Modelo con SED como constante del material</i>	45
4.2	<i>Modelo con SED constante solo para hueso cortical</i>	47
4.2.1	Caso de sobrecarga	53
4.2.2	Caso de desuso	56
4.3	<i>Modelo con daño</i>	61
4.3.1	Caso de sobrecarga con daño	64
4.3.2	Caso de desuso con daño	67
4.4	<i>Modelo con PMO</i>	69
5	Conclusiones y trabajos futuros	77
5.1	<i>Conclusiones</i>	77
5.2	<i>Trabajos futuros</i>	78
	Bibliografía	79
	Anexo A: Parámetros empleados	83
	Anexo B: Subrutina UMAT	85
	Anexo C: Subrutinas y funciones	91

1 INTRODUCCIÓN

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

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

1.1 Motivación

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

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

Los modelos matemáticos proporcionan una herramienta poderosa para reducir la ambigüedad y comprender las causas y los efectos de sistemas complejos, nos permiten probar hipótesis experimentales y teóricas, hipótesis que serían difíciles o imposibles de comprobar *in vivo* o *in vitro*. A pesar de esto, existen relativamente pocos modelos matemáticos que estudien el efecto de las interacciones conocidas entre las células óseas, entre ellos se

encuentran el modelo propuesto por Kamarova et al. [3], el modelo de Lemaire et al. [4] o el modelo de Pivonka et al. [2]. Los dos primeros modelos permiten realizar investigaciones cuantitativas de varios aspectos de la remodelación ósea, incluyendo la eficacia de terapias actuales y la verificación de hipótesis. Sin embargo, el modelo de Pivonka et al. es el primero en considerar las interacciones células a célula que tienen lugar durante la remodelación, de manera teórica.

A raíz de esto, motivados por el interés en conocer mejor todo el proceso de remodelación ósea y de ser capaces de implementarlo en un modelo 3D, se decide “traducir” las ecuaciones del modelo de Pivonka et al. a un código de elementos finitos que permita obtener resultados coherentes.

1.2 Objetivos

El modelo propuesto por Pivonka et al. [5], junto con algunas modificaciones como las propuestas por Buenzli et al. [6] y Martínez-Reina et al. [1], ha sido implementado previamente en Matlab y sus resultados han sido corroborados experimentalmente, en la medida de lo posible. Sin embargo, los resultados de Matlab sólo nos dan información sobre la eficacia del modelo en un único punto de observación. Es por ello que el interés y objetivo principal de este trabajo es testar las ecuaciones del modelo sobre una malla de elementos finitos (desarrollada en Abaqus) que nos permita simular el proceso de remodelación, no en un único punto del espacio, si no en toda una estructura ósea. De esta manera se podrá ver cómo influye la evolución de cada punto de la malla en los puntos colindantes y tendremos una visión más realista del proceso de remodelación.

Una vez creado el modelo y testado su correcto funcionamiento, nos propondremos someterlo a distintas situaciones para comprobar que los resultados coinciden con lo que se espera según la literatura. Para ello, se simulará un caso de sobrecarga en la malla y un caso de desuso y se comprobará que la evolución de los elementos del modelo cuadra con lo esperado.

Además, se añadirá un nuevo parámetro que no estaba contemplado en el modelo en Matlab de Pivonka et al., este parámetro es el daño, cuyo efecto en la remodelación ósea e implementación matemática se ha realizado teniendo en cuenta lo propuesto por Martínez- Reina et al. [1]. De esta forma, nos encontramos con un segundo objetivo: implementar el efecto del daño en el modelo inicial de elementos finitos de manera que se obtengan resultados coherentes.

Por último, se tratará de implementar en el modelo un caso de osteoporosis, en concreto, de osteoporosis postmenopáusica (PMO). Esta enfermedad es muy común en mujeres tras la aparición de la menopausia y en personas mayores. Por ello, resulta de especial interés crear un modelo capaz de simular el desarrollo de la PMO, con el objetivo de emplearlo para buscar tratamientos a esta enfermedad en trabajos futuros.

1.3 Estructura del documento

En primer lugar, a lo largo del Capítulo 2 vamos a desarrollar varias nociones sobre biología ósea de importante

relevancia para la mejor comprensión de este documento. Entre ellas, se tratará de explicar la composición del hueso, los tipos de huesos y tejidos óseos y, por supuesto, el proceso de remodelación ósea, cuya comprensión es crucial para entender la importancia de este trabajo.

En segundo lugar, en el Capítulo 3, explicaremos el modelo de remodelación ósea implementado a raíz del Modelo de Poblaciones Celulares de Pivonka et al. 2008 [2], pasando por modelos posteriores como el de Buenzli et. al 2012 [6], el de Pivonka et al. 2013 [5] y el de Martínez-Reina et al. 2008 [1]. Este último, nos proporciona las ecuaciones necesarias para la inclusión del proceso de mineralización y la consideración del daño en nuestro modelo, lo que aporta un matiz muy interesante al mismo.

En este Capítulo se explicará también cómo se ha llevado a cabo la implementación de la PMO en nuestro modelo, en base a lo propuesto por Scheiner et al. [7]. Y se terminará explicando brevemente la malla y condiciones de contorno utilizadas en el modelo de elementos finitos.

El Capítulo 4 es el cuerpo central de este documento, en él se exponen los resultados obtenidos tras la aplicación del modelo de elementos finitos en los distintos casos considerados y se discute la coherencia de los mismos.

Finalmente, en el Capítulo 5 se exponen las conclusiones obtenidas tras el análisis de los resultados.

2 BIOLOGÍA ÓSEA

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

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

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

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

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

2.1 Tipos de hueso

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

2.1.1 Huesos largos

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

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

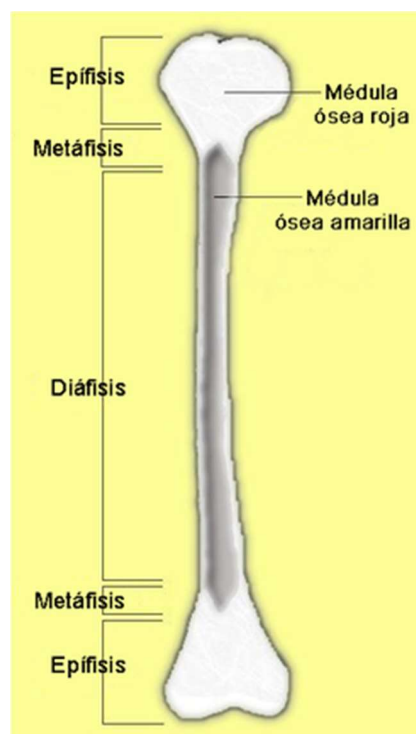


Figura 2.1. Partes del hueso largo. Tomado de [9].

2.1.2 Huesos cortos

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

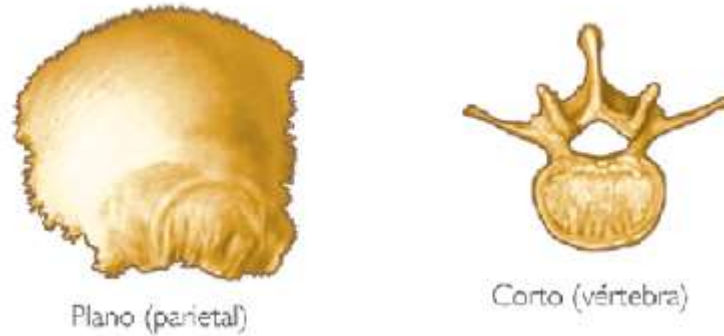


Figura 2.2. Hueso plano y hueso corto. Adaptado de [10].

2.1.3 Huesos planos

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

2.1.4 Huesos irregulares

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

2.1.5 Huesos sesamoideos

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

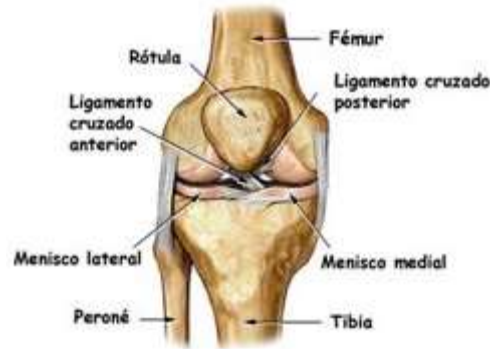


Figura 2.3. Hueso sesamoideo: rótula. Tomado de [11].

2.2 Tejido óseo

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

2.2.1 Matriz ósea

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

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

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

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

2.2.2 Células óseas

El tejido óseo está formado por varios tipos de células óseas, cada una de las cuales desarrolla un papel bien definido en el proceso de remodelación ósea. Los cuatro tipos de células más destacables son: osteoclastos,

osteoblastos, osteocitos y células de borde. Tanto los osteoclastos como los osteoblastos sufren diferenciaciones durante la remodelación ósea desarrollando funciones diferentes según la etapa de maduración en la que se encuentren. Los osteocitos y las células de borde son resultado de la diferenciación final de osteoblastos.

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

2.2.2.1 Osteoclastos

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

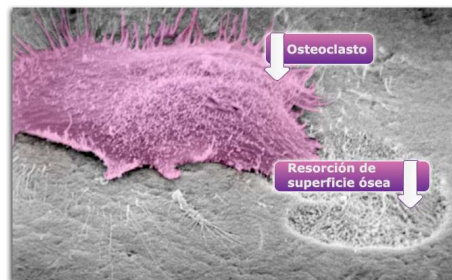


Figura 2.4. Osteoclasto reabsorbiendo superficie ósea. [12].

2.2.2.2 Osteoblastos

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

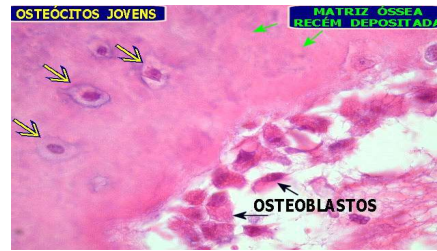


Figura 2.5. Osteoblastos. Adaptado de [13].

2.2.2.3 Osteocitos

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

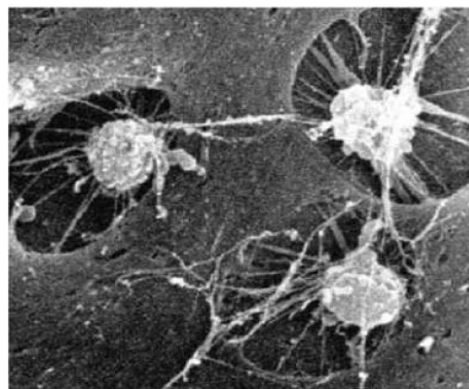


Figura 2.6. Osteocitos conectados mediante sus prolongaciones, ubicados en las lagunas osteocíticas. Tomado de [14].

2.2.2.4 Células de borde

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

que pueden iniciar la remodelación si es necesario. Cuando se inicia la remodelación ósea deben retirarse de la superficie para que los osteoclastos actúen disolviendo la matriz, para lo cual forman un conducto con los vasos cercanos.

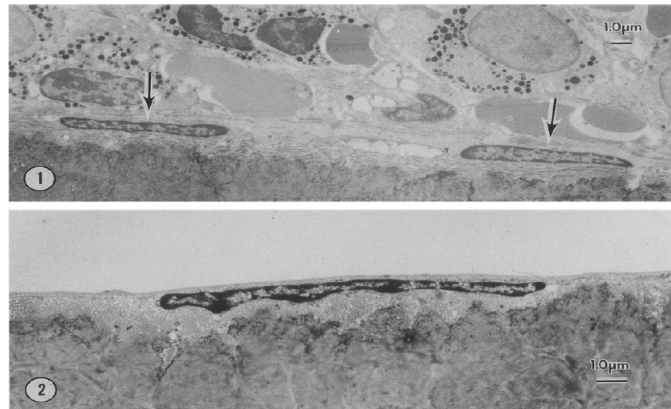


Figura 2.7. Células de borde.

2.3 Tipos de tejido óseo

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

2.3.1 Tejido óseo cortical

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

En la microestructura de este tejido encontramos:

- Canales de Havers. Son conductos que contienen los nervios y capilares que nutren al hueso. Están orientados según la dirección longitudinal al eje del hueso. Los canales de Havers están rodeados de lamelas concéntricas que dan solidez al tejido cortical.
- Canales de Volkman. Son más cortos y se disponen transversalmente uniendo los canales de Havers entre sí y con la capa exterior del hueso, el periostio. Por ellos también circulan vasos sanguíneos.
- Cavidades de reabsorción. Son huecos temporales creados por los osteoclastos durante la fase de reabsorción.
- Osteonas. Es el conjunto formado por los canales de Havers y las lamelas que los rodean. La osteona es la unidad estructural del hueso compacto y se van originando como resultado de la remodelación ósea. Ver **Figura 2.8**.

2.3.2 Tejido óseo trabecular

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

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

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

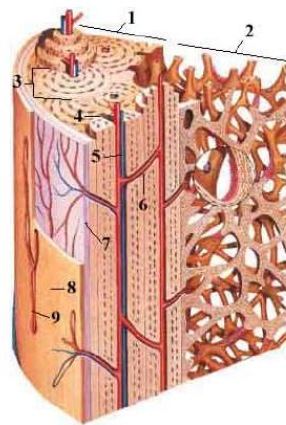


Figura 2.8. Sección de un hueso largo. Adaptado de [15].

2.4 Comportamiento mecánico del hueso

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

2.4.1 Hueso cortical

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

hueso, la hidroxiapatita, tiene una gran resistencia a compresión. Con lo cual, este tipo de tejido óseo es bueno para resistir tensiones preferentemente axiales, aquellas a las que están sometidos los huesos largos.

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

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

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

2.4.2 Hueso trabecular

El comportamiento mecánico del hueso trabecular va a depender de su densidad. En este tejido se distingue entre densidad tisular y densidad aparente. La densidad tisular es la densidad de la matriz ósea, depende del contenido de mineral y suele ser relativamente constante: $\rho_{tis} = \frac{m}{V_b}$, donde V_b es el volumen de hueso sin contar los poros, este parámetro no varía mucho a lo largo de la vida del individuo, por lo que no influye mucho en las propiedades del hueso. La densidad aparente (o porosidad) es la masa respecto al volumen total: $\rho_{ap} = \frac{m}{V_t}$, varía mucho en el hueso trabecular y tiene una gran influencia en sus propiedades mecánicas.

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

$$E = \begin{cases} 2014\rho_{ap}^{2.5} & \text{si } \rho_{ap} \leq 1.2 \text{ g / cm}^3 \\ 1763\rho_{ap}^{3.2} & \text{si } \rho_{ap} > 1.2 \text{ g / cm}^3 \end{cases} \quad (2.1)$$

$$v = \begin{cases} 0.2 & \text{si } \rho_{ap} \leq 1.2 \text{ g / cm}^3 \\ 0.32 & \text{si } \rho_{ap} > 1.2 \text{ g / cm}^3 \end{cases} \quad (2.2)$$

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

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

2.5 Remodelación ósea

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

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

Además de esto, el hueso puede repararse cuando se fractura, realizando dicha acción mediante un proceso diferente, la consolidación ósea, que no es objeto de este trabajo.

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

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

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

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

2.5.1 Fisiología del proceso de ROI

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

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

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

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

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

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

Todo esto ocurre gracias a los osteocitos, que actúan como células mecanosensibles. Estas células están en contacto constante con un flujo de fluido que circula a través del sistema lacuno-canalicular, compuesto por las lagunas de los osteocitos y una serie de canales (canalículos) que conectan a los osteocitos entre sí y con las células de borde. Según la teoría inhibitoria de Martin [19], las células de borde siempre están controladas por una señal inhibitoria y solo cuando ésta deja de actuar provocan la activación de la remodelación. Cuando el hueso está bajo condiciones de carga normales, esta señal inhibitoria está activada y las células de borde no activan las BMUs. Sin embargo, cuando hay desuso, el flujo de fluido que circula por el sistema lacuno-canalicular disminuye, con lo que la señal inhibitoria se hace más débil. Esto provoca la activación de las células de borde que accionan el proceso de remodelación. En el caso de una sobrecarga, pueden aparecer daños microestructurales que interrumpen la conexión entre los osteocitos y las células de borde. Con lo que la señal inhibitoria desaparece por completo, provocando de nuevo la activación de las BMU. Como vemos, la remodelación ósea se incrementa cuando la carga mecánica es muy baja, es decir, en un estado de desuso, y

cuando es excesivamente alta, provocando un daño sustancial por fatiga. Esto se corresponde con el comportamiento de las BMUs descrito antes para los casos de desuso y sobrecarga.

2.5.2 Etapas de la ROI

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

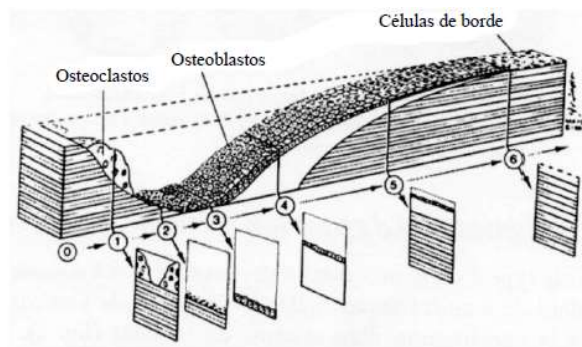


Figura 2.9. Fases de la actividad de una BMU de hueso trabecular: (0) Activación, (1) Reabsorción, (2) Inversión, (3) Comienzo de la formación, (4) Formación de osteoide, (5) Mineralización, (6) Fin de la adaptación. Adaptado de Fridez [21].

2.5.2.1 Activación

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

2.5.2.2 Reabsorción

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

osteoclastos sufren apoptosis. El lapso de tiempo que tardan los osteoclastos en abrir la cavidad en la matriz ósea se denomina período de reabsorción.

2.5.2.3 Inversión

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

2.5.2.4 Formación

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

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

2.5.2.5 Mineralización

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

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

2.5.2.6 Fin de la adaptación

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

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

3 MODELO

Como bien definimos en la introducción de este documento, nuestro objetivo principal es crear un modelo de elementos finitos a partir del modelo de remodelación ósea basado en poblaciones celulares propuesto por Pivonka et al. 2008 [2]. Para ello se dispone de un código implementado en Matlab en el que nos basaremos para crear una subrutina de usuario UMAT en Abaqus. Las subrutinas UMAT nos permiten definir la matriz de comportamiento de un material creado por el usuario empleando elementos de Abaqus. En nuestro caso, la subrutina va a definir el material tipo hueso, cuya rigidez va cambiando temporalmente de acuerdo a las ecuaciones que aproximan el comportamiento de las poblaciones celulares óseas. Con objeto de facilitar la comprensión de la subrutina, expondremos en primer lugar las ecuaciones principales que gobiernan el modelo de remodelación ósea y luego iremos detallando cada uno de sus términos de manera independiente.

Ya que disponemos de una versión en Matlab del modelo, uno de nuestros objetivos es también comprobar que los resultados obtenidos en el modelo de elementos finitos desarrollado en Abaqus, inicialmente para una malla de un solo elemento, coinciden con aquellos que se obtienen en Matlab. Esto nos permitirá asegurarnos de que el modelo de elementos finitos ha sido elaborado correctamente.

Tras la explicación del modelo, que en adelante llamaremos “modelo de partida”, se procederá a añadir una serie de modificaciones que luego serán implementadas en el modelo de elementos finitos sobre una malla cilíndrica cuyas dimensiones y características fisiológicas se aproximan a las de un radio humano.

3.1 Modelo de partida

El modelo del que partimos fue presentado por Pivonka et al. en 2008 [2] y ha ido sufriendo ligeras modificaciones gracias a los avances publicados en artículos posteriores como el de Pivonka et al. 2010 [22], el de Buenzli et al. 2012 [6], el de Pivonka et al. 2013 [5] o el de Martínez-Reina et al. 2008 [1].

En este modelo se describen los cambios temporales en las poblaciones celulares óseas durante el proceso de remodelación, promediados para un volumen de hueso lo suficientemente grande como para que el promedio de lugar a resultados coherentes. De manera que el modelo no se refiere a una sola BMU, sino a todas las BMUs que están contenidas en el volumen considerado, que serán muchas.

El interés de este modelo es que, partiendo de un estado de equilibrio en las poblaciones celulares, nos permite observar la respuesta que presenta a diferentes perturbaciones. De esta forma, podemos ver de qué manera afecta la estructura del modelo al balance/equilibrio del hueso, es decir, a la diferencia entre la cantidad de hueso reabsorbido y la cantidad de hueso formado. Gracias a los resultados del modelo es posible estimar la sensibilidad del proceso de remodelación (o de las BMUs) a cambios en el microambiente del hueso asociados

a cambios en las características de las células.

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

3.1.1 Ecuaciones principales del modelo de partida

Para facilitar la comprensión de las ecuaciones empleadas en el modelo que nos ocupa conviene explicar brevemente los mecanismos bioquímicos que están detrás de la diferenciación de las principales células óseas que se mencionaron en el Capítulo 2 de este documento.

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

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

Por tanto, el modelo en cuestión considera cinco variables de estado:

1. La población de OB_p .

2. La población de OB_a .
3. La población de OC_p .
4. La población de OC_a .
5. La fracción de volumen de matriz ósea: f_{bm} .

Con lo cual, se incluyen tres etapas en el ciclo de vida de los osteoblastos: OB_u , OB_p y OB_a , y otras tres etapas en el desarrollo de los osteoclastos: OC_u , OC_p y OC_a . En la **Figura 3.1** se representan esquemáticamente estos tipos de células óseas junto con sus reguladores bioquímicos, biomecánicos y geométricos.

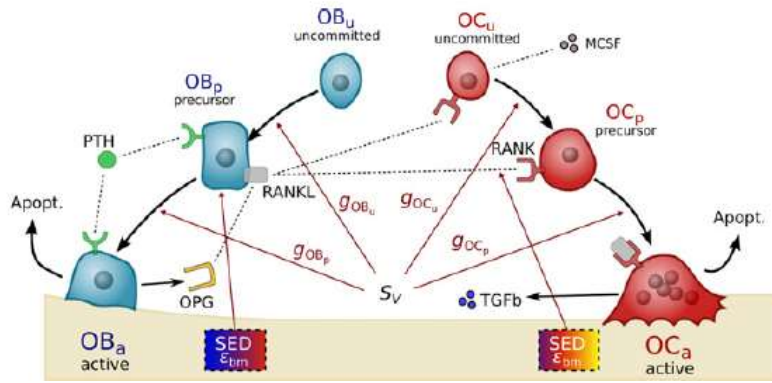


Figura 3.1. Tipos de células óseas y sus reguladores bioquímicos, biomecánicos y geométricos. Tomado de [5].

En este modelo las poblaciones de osteoblastos no comprometidos, OB_u , y de osteoclastos no comprometidos, OC_u , se asumen constantes y no son variables de estado. Teniendo en cuenta mecanismos de regulación bioquímicos, biomecánicos y geométricos las ecuaciones de balance celular que gobiernan el modelo se expresan de la siguiente forma:

Equation	Chapter	(Next)	Section	1
----------	---------	--------	---------	---

$$\frac{d}{dt}OB_p = \left\{ D_{OB_u} \cdot \pi_{act,OB_u}^{TGF-\beta} \right\} OB_u + \left\{ P_{OB_p} \cdot \Pi_{act,OB_p}^{V_{bm}} \right\} OB_p + P_{OB_p} - \left\{ g_{OB_p}(S_v) \cdot D_{OB_p} \cdot \pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta} \right\} OB_p \quad (3.1)$$

$$\frac{d}{dt}OB_a = \left\{ g_{OB_p}(S_v) \cdot D_{OB_p} \cdot \pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta} \right\} OB_p + P_{OB_a} - \left\{ D_{OB_a} + A_{OB_a} \right\} OB_a \quad (3.2)$$

$$\frac{d}{dt}OC_p = \left\{ g_{OC_u}(S_v) \cdot D_{OC_u} \cdot \pi_{act,OC_u}^{RANKL} \cdot \pi_{act,OC_u}^{MCSF} \right\} OC_u + P_{OC_p} - \left\{ g_{OC_p}(S_v) \cdot D_{OC_p} \cdot \pi_{act,OC_p}^{RANKL} \right\} OC_p \quad (3.3)$$

$$\frac{d}{dt}OC_a = \left\{ g_{OC_p}(S_v) \cdot D_{OC_p} \cdot \pi_{act,OC_p}^{RANKL} \right\} OC_p + p_{OC_a} - \left\{ A_{OC_a} \cdot \pi_{act,OC_a}^{TGF-\beta} \right\} OC_a \quad (3.4)$$

Los términos de diferenciación (D_X) y apoptosis (A_X) toman sus valores de acuerdo a la velocidad de transformación entre los distintos tipos de células cuyas velocidades de reacción de primer orden tienen en cuenta el efecto del tamaño de las poblaciones celulares. Los parámetros D_{OB_u} , D_{OB_p} , D_{OC_u} , D_{OC_p} y D_{OB_a} representan la velocidad de diferenciación de osteoblastos no comprometidos, osteoblastos precursores, osteoclastos no comprometidos, osteoclastos precursores y osteoblastos activos respectivamente, estos últimos se diferenciarán en células de borde u osteocitos en caso de que no sufran muerte celular. Los términos p_{OB_p} , p_{OB_a} , p_{OC_p} y p_{OC_a} hacen referencia a la producción externa de cada una de las poblaciones celulares y se incluyen como parámetros del modelo. A_{OB_a} y A_{OC_a} son las velocidades de apoptosis de osteoblastos activos y osteoclastos activos respectivamente.

Cabe destacar el término P_{OB_p} que indica la velocidad de proliferación de osteoblastos precursores. Este término fue incluido por Buenzli et al. [6] para tener en cuenta el estado transitorio de amplificación (proliferación) que sufren los osteoblastos. La velocidad de proliferación, P_{OB_p} , está relacionada con el periodo medio del ciclo celular de los osteoblastos precursores, $\tau_{OB_p}^{mitosis}$, de manera que $P_{OB_p}(t) = \ln(2) / \tau_{OB_p}^{mitosis}(t)$. La velocidad de proliferación está controlada por un mecanismo de realimentación y, por tanto, depende del tiempo.

La diferenciación desde el sistema de células madre mesenquimales, MSCS (Mesenchymal Stem Cell System), y la proliferación de los osteoblastos precursores son dos mecanismos biológicos diferentes que permiten que la población de osteoblastos alcance el tamaño necesario en una BMU para una remodelación funcional. La proliferación es un mecanismo que incrementa exponencialmente cualquier desviación en el tamaño original de la población. De manera que, un pequeño cambio en la velocidad de proliferación puede conducir a un gran cambio en la población de OB_p . Por otro lado, la diferenciación desde el MSCS es un mecanismo que tan solo influye en la población inicial de OB_p . Esto proporciona un mecanismo más estable para controlar la población de OB_p , pero tiene una desventaja potencial: es necesario el reclutamiento y mantenimiento de un gran número de MSCS. Claramente, si la diferenciación es grande, entonces la proliferación necesita estar limitada para alcanzar el mismo tamaño de población.

Por estas razones, es muy útil introducir en el modelo la proporción relativa de diferenciación de OB_u y de proliferación de OB_p como un parámetro. Incluimos entonces una fracción v tal que la generación de OB_p en el estado de equilibrio se alcanza con una fracción v por proliferación de OB_p y con una fracción $1-v$ por diferenciación de OB_u . Denotando los valores en el estado de equilibrio con una línea superior, la velocidad total de generación de OB_p en el estado de equilibrio viene dada por

$\overline{\sigma}_{OB_p} = \overline{D_{OB_u}} \cdot \overline{\pi_{act,OB_u}^{TGF-\beta}} \cdot \overline{OB_u} + \overline{P_{OB_p}} \cdot \overline{\Pi_{act,OB_p}^{\Psi_{bm}}} \cdot \overline{OB_p}$. El primer término representa la contribución de la diferenciación de OB_u y debe contar como una fracción $1-\nu$ de $\overline{\sigma}_{OB_p}$. El segundo término representa la contribución de la proliferación de OB_p y, por tanto, debe contar como una fracción ν de $\overline{\sigma}_{OB_p}$. Para determinar los valores de P_{OB_p} y D_{OB_u} que satisfacen lo anterior, imponemos:

$$\overline{P_{OB_p}} \cdot \overline{\Pi_{act,OB_p}^{\Psi_{bm}}} \cdot \overline{OB_p} = \nu \overline{\sigma}_{OB_p}, \quad \overline{D_{OB_u}} \cdot \overline{\pi_{act,OB_u}^{TGF-\beta}} \cdot \overline{OB_u} = (1-\nu) \overline{\sigma}_{OB_p} \quad (3.5)$$

Y teniendo en cuenta que en el estado de equilibrio se cumple que $\overline{\sigma}_{OB_p} = \overline{g_{OB_p}(S_v)} \cdot \overline{D_{OB_p}} \cdot \overline{\pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta}} \cdot \overline{OB_p}$, siendo $p_{OB_p} = 0$, para que la ecuación de balance celular de los OB_p tenga una variación nula. Las expresiones de P_{OB_p} y D_{OB_u} quedan de la siguiente forma:

$$P_{OB_p}(\nu) = \nu \cdot \overline{g_{OB_p}(S_v)} \cdot \overline{D_{OB_p}} \cdot \overline{\pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta}} \cdot \left(\overline{\Pi_{act,OB_p}^{\Psi_{bm}}} \right)^{-1} \quad (3.6)$$

$$D_{OB_u}(\nu) = (1-\nu) \cdot \overline{g_{OB_p}(S_v)} \cdot \overline{D_{OB_p}} \cdot \overline{\pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta}} \cdot \left(\overline{\pi_{act,OB_u}^{TGF-\beta}} \right)^{-1} \cdot \frac{\overline{OB_p}}{\overline{OB_u}} \quad (3.7)$$

De esta forma, dado que $P_{OB_p} = P_{OB_p}(\nu)$ y $D_{OB_u} = D_{OB_u}(\nu)$ en las ecuaciones (3.6) y (3.7), el sistema alcanza, para cualquier valor de ν , un estado de equilibrio caracterizado por las mismas densidades celulares de $\overline{OB_p}$, $\overline{OB_a}$ y $\overline{OC_a}$, así como de concentraciones de los factores de regulación $\overline{TGF-\beta}$, \overline{RANKL} , etc. tal y como en [2].

Con esto, la ecuación (3.1) puede reescribirse como sigue, y de esta forma será implementada en el modelo, tanto en Matlab como en Abaqus, para un valor de $\nu = 0.1$.

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} OB_p = & \left\{ (1-\nu) \cdot \overline{g_{OB_p}(S_v)} \cdot \overline{D_{OB_p}} \cdot \overline{\pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta}} \cdot \left(\overline{\pi_{act,OB_u}^{TGF-\beta}} \right)^{-1} \cdot \frac{\overline{OB_p}}{\overline{OB_u}} \cdot \overline{\pi_{act,OB_u}^{TGF-\beta}} \right\} OB_u + \\ & + \left\{ \nu \cdot \overline{g_{OB_p}(S_v)} \cdot \overline{D_{OB_p}} \cdot \overline{\pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta}} \cdot \left(\overline{\Pi_{act,OB_p}^{\Psi_{bm}}} \right)^{-1} \cdot \overline{\Pi_{act,OB_p}^{\Psi_{bm}}} \right\} OB_p + p_{OB_p} - \left\{ \overline{g_{OB_p}(S_v)} \cdot \overline{D_{OB_p}} \cdot \overline{\pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta}} \right\} OB_p \quad (3.8) \end{aligned}$$

3.1.2 Mecanismo de regulación bioquímica

La regulación bioquímica del desarrollo de las células óseas se tiene en cuenta mediante las llamadas funciones de activación y represión de las moléculas de señalización bioquímicas TGF- β , MCSF y RANKL que determinan la respuesta de una célula a la señal mediada por un ligando.

En las ecuaciones (3.1)-(3.4) podemos distinguir las funciones $\pi_{act,OB_u}^{TGF-\beta}$, $\pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta}$ y $\pi_{act,OC_a}^{TGF-\beta}$ que regulan la diferenciación de osteoblastos y la apoptosis de osteoclastos basándose en la concentración de TGF- β . La función π_{act,OC_u}^{MCSF} es una función de activación que regula la diferenciación de OC_u en OC_p en base a la concentración del factor de estimulación de colonias de macrófagos (MCSF). Las funciones π_{act,OC_u}^{RANKL} y π_{act,OC_p}^{RANKL} son funciones de activación que regulan la diferenciación de osteoclastos en base a la concentración de RANKL. Para simplificar, se asume que $\pi_{act,OC_u}^{RANKL} = \pi_{act,OC_p}^{RANKL}$. Las ecuaciones que gobiernan la evolución de las moléculas de señalización bioquímicas TGF- β , MCSF, RANKL, RANK, OPG y PTH, y la forma de las funciones de activación y represión se mostrarán más adelante en este apartado.

Como bien se describe en las referencias [23], [2], [22], y [24], la concentración de las moléculas de señalización bioquímicas está gobernada por ecuaciones de balance basadas en la cinética de acción de masas. Las reacciones de unión ligando-receptor ocurren a una escala temporal mucho más rápida que los tiempos característicos de respuesta celular (como la diferenciación o la apoptosis). Por ello, las ecuaciones de balance para las moléculas de señalización bioquímicas pueden ser consideradas en su estado de equilibrio (ver referencias [2] y [24]), lo que nos lleva a:

$$TGF - \beta(t) = \frac{\alpha \cdot k_{res} \cdot OC_a(t)}{\tilde{D}_{TGF-\beta}} \quad (3.9)$$

$$RANK(t) = N_{OC_p}^{RANK} \cdot OC_p(t) \quad (3.10)$$

$$OPG(t) = \frac{\beta_{OB_a}^{OPG} \cdot OB_a(t) \cdot \pi_{rep,OB}^{PTH} + P_{OPG}}{\tilde{D}_{OPG} + \frac{\beta_{OB_a}^{OPG} \cdot OB_a(t) \cdot \pi_{rep,OB}^{PTH}}{OPG_{max}}} \quad (3.11)$$

$$RANKL(t) = \frac{RANKL_{eff} \left(\frac{\beta_{RANKL} + P_{RANKL}^{W_{bm}} + P_{RANKL}}{\beta_{RANKL} + \tilde{D}_{RANKL} \cdot RANKL_{eff}} \right)}{1 + K_{[RANKL-OPG]} \cdot OPG + K_{[RANKL-RANK]} \cdot RANK} \quad (3.12)$$

$$PTH(t) = \frac{P_{PTH}(t) + \beta_{PTH}}{\tilde{D}_{PTH}} \quad (3.13)$$

En donde α es el porcentaje de TGF- β almacenado en la matriz ósea; k_{res} es el volumen diario de matriz ósea

reabsorbido por osteoclasto; $\tilde{D}_{TGF-\beta}$ es la velocidad de degradación del TGF- β ; $N_{OC_p}^{RANK}$ es el número de receptores de RANK por OC_p ; $\beta_{OB_a}^{OPG}$ es la velocidad de producción endógena de OPG por OB_a ; P_{OPG} es la producción externa de OPG; \tilde{D}_{OPG} es la velocidad de degradación de OPG; OPG_{max} es la densidad de OPG a la que se detiene la producción endógena; β_{RANKL} es la velocidad de producción endógena de RANKL; P_{RANKL} es la producción externa de RANKL; $P_{RANKL}^{W_{bm}}$ es la producción externa de RANKL debida al desuso; \tilde{D}_{RANKL} es la velocidad de degradación de RANKL; $K_{[RANKL-OPG]}$ es la constante de asociación entre RANKL y OPG; $K_{[RANKL-RANK]}$ es la constante de asociación entre RANKL y RANK; P_{PTH} es la administración externa de PTH; β_{PTH} es la velocidad de producción de PTH sistémico; y \tilde{D}_{PTH} es la velocidad de degradación de PTH.

En la ecuación (3.12), $RANKL_{eff}$ es la concentración máxima de RANKL (también definida como capacidad efectiva de carga), la cual está regulada por la hormona paratiroidea PTH:

$$RANKL_{eff} = N_{OB_p}^{RANKL} \cdot OB_p \cdot \pi_{act,OB}^{PTH} \quad (3.14)$$

Donde $N_{OB_p}^{RANKL}$ es el número máximo de moléculas de RANKL ligadas a la membrana que pueden ser expresadas en un solo OB_p (ver referencias [2] y [22] para más detalles).

La concentración de MCSF, y por tanto el valor de π_{act,OC_u}^{MCSF} , se asume constante.

La regulación del comportamiento de las células óseas (como la diferenciación, la apoptosis o la velocidad de expresión de un ligando) se realiza mediante las funciones de activación, $\pi_{act,A}^L$, y represión, $\pi_{rep,A}^L$, que ya vimos al inicio de este apartado. Donde L indica la molécula de señalización (ligando) y A la célula señalada. Estas funciones representan la intensidad de la respuesta de la célula a la señal mediada por el ligando y toman la siguiente forma:

$$\pi_{act,A}^L = \frac{L}{L + k_A^L} \quad (3.15)$$

$$\pi_{rep,A}^L = 1 - \pi_{act,A}^L = \frac{1}{L + k_A^L} \quad (3.16)$$

Donde k_A^L es la constante de disociación entre el ligando y su receptor en la célula. La cantidad $\pi_{act,A}^L$ representa la fracción de receptores en la célula A que están unidos al ligando L (ver referencias [2] y [4] para más detalles). En el caso de la molécula de RANKL, cabe destacar que sus funciones de activación se definen considerando que solo el RANKL unido al RANK es el que afecta a la diferenciación de OC_u y OC_p . De manera que las funciones quedan de la siguiente forma:

$$RANKL_RANK(t) = K_{[RANKL-RANK]} \cdot RANKL(t) \cdot RANK(t) \quad (3.17)$$

$$\pi_{act,OC_u}^{RANKL} = \pi_{act,OC_p}^{RANKL} = \frac{RANKL_RANK(t)}{RANKL_RANK(t) + k_{OC}^{RANKL}} \quad (3.18)$$

Donde k_{OC}^{RANKL} es la constante de disociación entre el RANKL y su receptor RANK en los OC_u y los OC_p .

3.1.3 Mecanismo de regulación geométrica

El mecanismo de regulación geométrico es incluido en el modelo en cada una de las etapas del desarrollo de los osteoblastos y los osteoclastos mediante unas funciones que dependen de la superficie específica: $g_{OB_u}(S_v)$, $g_{OB_p}(S_v)$, $g_{OC_u}(S_v)$ y $g_{OC_p}(S_v)$ (ver **Figura 3.1**). Estas funciones consideran una realimentación geométrica en las distintas etapas del desarrollo de osteoblastos y osteoclastos. De esta manera, podemos distinguir dos tipos de acción geométrica: la regulación del inicio de nuevos eventos de remodelación (creación de BMUs) y la regulación de la reabsorción y formación dentro de las BMUs ya existentes.

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

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

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

$$g_i(S_v) = \left(\frac{S_v}{S_v(t_0)} \right)^{k_i}, \text{ con } k_i \geq 0, i = OB_u, OB_p, OC_u, OC_p \quad (3.19)$$

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

Para poder determinar el valor de estas funciones de regulación geométrica es necesario disponer de una expresión que nos permita calcular la superficie específica. La superficie específica de un material poroso como el hueso se puede definir como el área de superficie intersticial de los poros, S_p , por volumen de tejido, S_T :

$$S_v = \frac{S_p}{S_T} \quad (3.20)$$

Sus dimensiones son $[\text{mm}^2/\text{mm}^3]$.

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

$$S_v(f_{vas}) = a \cdot f_{vas} + b \cdot f_{vas}^2 + c \cdot f_{vas}^3 + d \cdot f_{vas}^4 + e \cdot f_{vas}^5 \quad (3.21)$$

Donde los coeficientes del polinomio son estimados como $a = 32.3$, $b = -93.9$, $c = 134$, $d = -101$ y $e = 28.8$ (en $[\text{mm}^{-1}]$), esta ecuación se implementa en el modelo a través de la función *SPECIFIC_SURFACE(VB)* que se puede encontrar al inicio del Anexo C: **Subrutinas y funciones** del presente documento.

3.1.4 Mecanismo de regulación biomecánica

Como bien sabemos, el hueso es un tejido vivo que va adaptando su densidad en función de las sollicitaciones mecánicas a las que se ve sometido. En este modelo, la respuesta de las células óseas al estímulo mecánico se tiene en cuenta a través de un aumento en la proliferación de OB_p , $\Pi_{act,OB_p}^{V_{bm}}$, que provocará un incremento en las células encargadas de la formación de hueso (OB_a) cuando el estímulo sea alto y a través de un aumento en la producción externa de RANKL, $P_{RANKL}^{V_{bm}}$, que incrementará la osteoclastogénesis cuando el estímulo mecánico sea bajo.

En ambos casos, el valor de estos parámetros va a depender de la densidad de energía de deformación (SED) presente en esa zona del hueso en cada momento, Ψ_{bm} . Según Scheiner et al. [23], podemos estimar la SED a la microescala donde los osteocitos sienten las señales mecánicas y las traducen a una respuesta bioquímica. La densidad microscópica de energía de deformación en la matriz ósea, Ψ_{bm} , depende intrínsecamente del tensor de tensiones macroscópico, σ , del tensor de rigidez de la matriz ósea, c_{bm} , y de la porosidad vascular, f_{vas} :

$$\Psi_{bm} = \Psi_{bm}(\sigma, c_{bm}, f_{vas}) \quad (3.22)$$

En nuestro modelo, el tensor de tensiones macroscópico, σ , será un parámetro que dependerá de las cargas que apliquemos en la malla. Podremos calcularlo como $\sigma = c_{bm}\epsilon$, donde ϵ será el valor de las deformaciones en ese punto de la malla.

El tensor de rigidez, c_{bm} , se calculará considerando que el material es isotrópico y que su módulo de Young puede expresarse según Hernandez et al. [26] como sigue:

$$E(MPa) = 84370v_b^{2.58}\alpha^{2.74} \quad (3.23)$$

Donde v_b es la fracción volumétrica de matriz ósea, $v_b = f_{bm} = 1 - f_{vas}$, y α es la fracción de ceniza.

La fracción de ceniza caracteriza el grado de mineralización del hueso y se define como el cociente entre la masa de mineral, m_m , también conocida como masa de ceniza, y la masa seca (suma de la masa mineral y la masa orgánica):

$$\alpha = \frac{m_m}{m_m + m_o} = \frac{\rho_m V_m}{\rho_m V_m + \rho_o V_o} \quad (3.24)$$

La densidad del mineral y de la fase orgánica son conocidas y toman los valores $\rho_m = 3.2kg/cm^3$ y $\rho_o = 1.1kg/cm^3$ (Currey, 2004 [27]).

En un volumen de hueso de referencia, V_t , podemos distinguir entre volumen de matriz ósea, V_b , y volumen de poros vasculares, V_v . La matriz ósea está compuesta por una fase inorgánica (mineral), V_m , una fase orgánica (principalmente colágeno), V_o , y agua, V_w . De manera que $V_t = V_b + V_v = V_m + V_o + V_w + V_v$. Definiendo los volúmenes específicos de la fase orgánica, $v_o = V_o/V_b$, la fase mineral, $v_m = V_m/V_b$, y el agua, $v_w = V_w/V_b$, tenemos que $v_o + v_w + v_m = 1$, siendo v_o un valor constante, en torno a 3/7 (Martin, 1984 [25]). De esta forma, la ecuación (3.24) puede expresarse en función de los volúmenes específicos, simplemente dividiendo por V_b , de la siguiente forma:

$$\alpha = \frac{\rho_m v_m}{\rho_m v_m + \rho_o v_o} \quad (3.25)$$

En donde todos los parámetros son conocidos menos el volumen específico de la fase mineral, que será calculado en nuestro modelo siguiendo un procedimiento que se detallará más adelante.

Con todo esto, la densidad de energía de deformación puede calcularse de la siguiente forma:

$$\psi_{bm} = \frac{1}{2} \sigma \varepsilon \quad (3.26)$$

Como bien empezamos diciendo al inicio de este subapartado, la proliferación de OB_p está regulada positivamente por la ψ_{bm} (ver referencia [5]), de forma que a mayor estímulo, mayor formación de hueso, es decir, mayor proliferación de OB_p con el consecuente aumento en la población de OB_a sintetizadores de matriz ósea. La proliferación de OB_p está modulada por la influencia del estímulo mecánico mediante una función de activación que se define de la siguiente forma:

$$\Pi_{act,OB_p}^{\psi_{bm}} = \begin{cases} \frac{1}{2} & \psi_{bm} \leq \psi_{bm}(t_0) \\ \frac{1}{2} + \frac{\lambda}{2} \left(\frac{\psi_{bm}}{\psi_{bm}(t_0)} - 1 \right), & \psi_{bm}(t_0) < \psi_{bm} < \psi_{bm}^* \\ 1 & \psi_{bm}^* \leq \psi_{bm} \end{cases} \quad (3.27)$$

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

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

$$P_{RANKL}^{\psi_{bm}} = \begin{cases} \kappa \left(1 - \frac{\psi_{bm}}{\psi_{bm}(t_0)} \right), & \psi_{bm} < \psi_{bm}(t_0) \\ 0, & \psi_{bm} \geq \psi_{bm}(t_0) \end{cases} \quad (3.28)$$

Donde κ es un parámetro constante que cuantifica la influencia de la transducción biomecánica en el caso de desuso mecánico. Ya vimos que este parámetro $P_{RANKL}^{\psi_{bm}}$ aparecía en la ecuación del RANKL formando parte del término de producción externa de dicha molécula.

Todos estos cálculos se incluyen en la subrutina UMAT (ver Anexo B: **Subrutina UMAT**), implementando las ecuaciones (3.27) y (3.28) a través de la subrutina *SUB_PI_EPS* que puede consultarse en el Anexo C: **Subrutinas y funciones** de este documento.

3.1.5 Cálculo de la porosidad

Para poder reflejar el resultado del sistema de ecuaciones (3.1)-(3.4) en un cambio en la densidad del hueso, debemos definir la relación entre las poblaciones celulares y la porosidad del hueso.

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

$$\frac{d}{dt} f_{vas} = -\frac{d}{dt} f_{bm} = -k_{form} OB_a + k_{res} OC_a \quad (3.29)$$

Donde k_{form} es la velocidad de deposición de nueva matriz ósea por un osteoblasto (en volumen por unidad de tiempo) y k_{res} es la velocidad de reabsorción de matriz ósea por un osteoclasto (en volumen por unidad de tiempo).

El valor de la fracción volumétrica de matriz ósea, f_{bm} , obtenido mediante la ecuación anterior será el que emplearemos para calcular el módulo de Young de nuestro material hueso en cada punto de la malla empleando la ecuación (3.23).

3.1.6 Proceso de mineralización

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

Sabemos que el osteoide nuevo depositado por los osteoblastos activos está compuesto inicialmente de colágeno y agua. Parte de esta agua será posteriormente reemplazada por cristales de hidroxapatita durante el proceso de mineralización. Dicho proceso consta de tres fases: una fase inicial, llamada tiempo de retraso de la mineralización, que tarda entre 6 y 22 días, durante la cual no ocurre deposición de mineral; una fase primaria,

muy rápida (tarda pocos días en alcanzar el 70% del contenido máximo de mineral [26]); y una fase secundaria, en la que el mineral se va añadiendo a una velocidad exponencial decreciente, conforme el tejido se va saturando de mineral [20]. Existe un límite en el contenido de mineral que vendrá determinado por el volumen de agua presente en el osteoide inicialmente. La fase secundaria se define como el período entre el final de la fase primaria y el instante en el que se alcanza el 95% del contenido teóricamente máximo de mineral [26]. Desde este punto de vista, en un determinado volumen de hueso V_b , el volumen ocupado por la fase orgánica, V_o , permanece constante después de su formación, mientras que el volumen de agua, V_w , se convierte en volumen de mineral, V_m , durante la mineralización ($\Delta V_m = -\Delta V_w$).

Habiendo definido los volúmenes específicos de la fase orgánica, v_o , la fase mineral, v_m , y el agua, v_w , en los apartados anteriores, la fracción de ceniza se puede expresar como veíamos en la ecuación (3.25).

Dado que el agua es reemplazada por mineral durante el proceso de mineralización, v_m aumenta a corde con la siguiente ley propuesta por Martínez-Reina et al. [1], en la cual se distinguen el tiempo de retraso de la mineralización; la fase primaria, con un aumento lineal y la fase secundaria, que sigue un comportamiento exponencial decreciente:

$$v_m(t) = \begin{cases} 0 & \text{si } t \leq t_{mlt} \\ v_{prim} \frac{t - t_{mlt}}{t_{prim}} & \text{si } t_{mlt} < t \leq t_{prim} + t_{mlt} \\ v_{max} - (v_{max} - v_{prim}) e^{-\kappa(t - t_{prim} - t_{mlt})} & \text{si } t_{prim} + t_{mlt} < t \end{cases} \quad (3.30)$$

Donde κ es un parámetro que mide la velocidad de deposición del mineral en la fase secundaria; t_{mlt} y t_{prim} representan la duración del tiempo de retraso de la mineralización y de la fase primaria respectivamente; $v_{prim} = 0.121$ es el volumen específico de mineral al final de la fase primaria, correspondiente a $\alpha = 0.45$ [26]; $v_{max} = 0.442$ es el volumen específico de mineral correspondiente al contenido máximo de Calcio, 300 mg/g [27].

La ecuación (3.30) se ha implementado en el modelo a través de la función $CALMINERAL(T)$, que se puede consultar en el Anexo C: **Subrutinas y funciones** del presente documento.

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

$$v_m(t + \Delta t) = \frac{v_m(t)V_b(t) - v_m(t)\Delta V_r(t) + \Delta V_{\min}(t + \Delta t)}{V_b(t + \Delta t)} \quad (3.31)$$

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

$$\Delta V_{\min}(t + \Delta t) = \int_0^\infty \bar{V}_f(t, \tau) \frac{dv_m(\tau)}{d\tau} d\tau = \int_0^{t_R} \bar{V}_f(t, \tau) \frac{dv_m(\tau)}{d\tau} d\tau \quad (3.32)$$

Donde $\bar{V}_f(t, \tau)$ es el volumen de tejido formado hace τ días y que todavía está presente en el instante de tiempo t . El tejido se mineraliza a una velocidad variable que puede evaluarse según la ecuación (3.30). La integral debe incluir la mineralización de todo el tejido previamente formado. Sin embargo, como el hueso sufre remodelación continuamente, el tejido formado hace tiempo puede haber sido ya reabsorbido ($\bar{V}_f(t, \tau) \rightarrow 0$ conforme $\tau \rightarrow \infty$), ese tejido ya no será mineralizado y no permanecerá en el integrando. Por lo tanto, los límites de integración pueden reducirse a los últimos t_R días, tiempo de residencia del tejido en la matriz ósea.

Analizando la ecuación (3.31) podemos comprobar un hecho evidente: cuanto mayor sea la cantidad de tejido reabsorbido diariamente, menor será la fracción de ceniza. Es decir, un hueso con una intensa actividad de remodelación tiene menor contenido de mineral que un hueso más *estático*, pues el tejido no tendrá tiempo de mineralizarse antes de ser reabsorbido.

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

$$\Delta V_{\min}(t + \Delta t) \approx \sum_{i=0}^{t_R} \bar{V}_f(t, i) [v_m(i) - v_m(i-1)] \quad (3.33)$$

Con el objetivo de estimar el valor de $\bar{V}_f(t, i)$ se asume que el volumen de tejido formado en los días previos se ha distribuido uniformemente en el volumen de hueso. De esta forma, el volumen reabsorbido de un determinado $\bar{V}_f(t, i)$ es proporcional a $\bar{V}_f(t, i) / V_b(t)$, y, por supuesto, al volumen reabsorbido, $\Delta V_r(t)$. Por lo tanto:

$$\bar{V}_f(t+1, i+1) = \bar{V}_f(t, i) - \Delta V_r(t) \frac{\bar{V}_f(t, i)}{V_b(t)} \quad (3.34)$$

El algoritmo empleado para calcular $\bar{V}_f(t+1, i+1)$ se muestra de forma esquematizada en la **Figura 3.2**.

El tiempo de residencia, t_R , es variable y depende, en este modelo propuesto por Martínez-Reina et al. [1], tanto

de ΔV_r como de ΔV_f , que deben ser iguales en el estado de equilibrio de la remodelación. Para reducir el coste computacional, la cola de la **Figura 3.2** se trunca en el día $i = t_c$ ($t_c < t_R$). Se asume que el volumen de tejido formado al cabo de t_c días mineraliza instantáneamente llegando al contenido de mineral máximo. Esto es una aproximación, pero si t_c es lo suficientemente grande, la cantidad de tejido implicada es tan pequeña que el efecto de esta aproximación es despreciable.

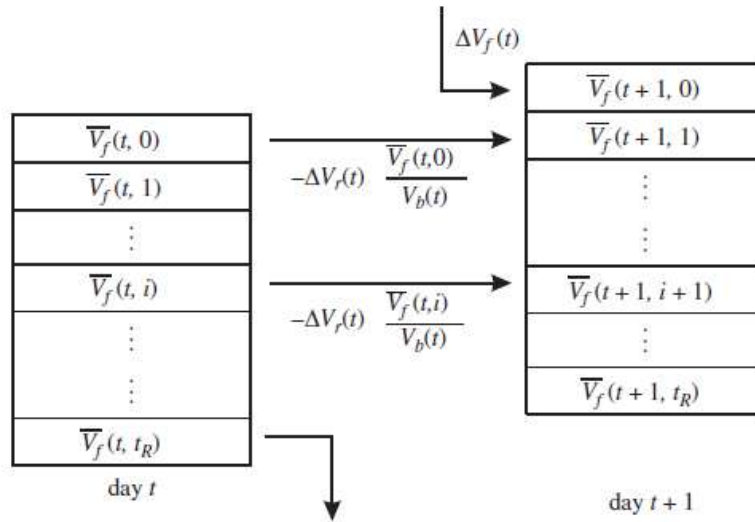


Figura 3.2. Algoritmo empleado para calcular $\bar{V}_f(t + 1, i + 1)$. Se usa una cola (FIFO) con la ley de recurrencia expresada en la ecuación (3.34). Tomado de [1].

Este proceso de mineralización se implementa en el modelo a través de la subrutina UMAT (ver Anexo B: **Subrutina UMAT**) con ayuda de la subrutina `UPDATE_VFPREV(LABEL)` que se puede encontrar en el Anexo C: **Subrutinas y funciones** del presente documento.

3.1.7 Comparación resultados del modelo de partida

Una vez expuestas las ecuaciones que gobiernan el modelo objeto de estudio, que se corresponde con el presentado en el Anexo B: **Subrutina UMAT**, se procede a comparar los resultados que proporciona el modelo en Abaqus con aquellos que se obtienen del modelo en Matlab del que se disponía inicialmente.

Como bien dijimos al inicio de este capítulo, el modelo en Abaqus se ha implementado a través de una subrutina de usuario UMAT que define el material *hueso* de acuerdo con las ecuaciones presentadas hasta ahora en este documento.

Para poder comparar el modelo en Matlab con el modelo en Abaqus comenzamos simulando una malla de un solo elemento de dimensiones 1x1x1, empleando el elemento tipo C3D8R (hexaedro lineal de ocho nodos con integración reducida y control de hourglass). Este elemento solo tiene un punto de integración, lo que nos permite

comparar los resultados con aquellos obtenidos en Matlab, ya que las soluciones que proporciona este último son para un solo punto de integración.

El modelo se aplica a un elemento con condiciones de contorno tales que permiten un estado de cargas uniaxial, tal y como se considera en el modelo en Matlab. Este elemento es sometido a una compresión uniaxial de -1 MPa. Para evitar que los resultados en Matlab presentaran oscilaciones excesivas, se empleó un intervalo de integración de 0.25 días.

Bajo estas condiciones se probaron distintos casos de carga:

- Caso homeostático, no hay variaciones en las cargas ni en ningún otro parámetro. El sistema llega a su equilibrio.
- Caso de desuso. Se disminuye la carga aplicada a -0.5 MPa.
- Caso de administración externa de OB_a . Se modifica el parámetro p_{OB_a} .
- Caso de eliminación externa de OC_a . Se modifica el parámetro p_{OC_a} .
- Caso de administración externa de OB_p . Se modifica el parámetro p_{OB_p} .

Para todos estos casos se comprobó que las variaciones entre los resultados obtenidos en Matlab y los obtenidos con nuestro modelo eran suficientemente pequeñas, del orden de $1.0e-05$, como para considerar que el modelo implementado en Abaqus funciona correctamente.

3.2 Modificaciones sobre el modelo de partida

Tras comprobar que la subrutina UMAT da los resultados que se esperan al aplicarse sobre un elemento sometido a compresión uniaxial, se decide ampliar el modelo para incluir una serie de consideraciones que no se estaban contemplando hasta ahora.

En primer lugar, la proliferación de OB_p debería estar limitada para asegurar la convergencia de la ecuación (3.1), que representa la variación temporal de la población de osteoblastos precursores.

En segundo lugar, el valor de $\psi_{bm}(t_0)$ se calculaba hasta ahora en función de las condiciones iniciales de cada simulación. Para cada nuevo caso de carga, para cada nuevo valor inicial de fracción volumétrica de matriz ósea, fracción de ceniza o poblaciones iniciales de las células óseas había que calcular la densidad de energía de deformación en el equilibrio. Lo que nos impedía tener un valor de $\psi_{bm}(t_0)$ que pudiera considerarse como parámetro constante en nuestro modelo. Esto se solucionará considerando una $\psi_{bm}(t_0) = cte$ en base a la Teoría del Mecanostato de Frost [28].

Por último, se incluirá en el modelo el efecto del daño microestructural. Al someterse el hueso a altos estímulos mecánicos pueden aparecer en él microgrietas. Estas microgrietas impiden el paso de fluido por el sistema

lacuno-canalicular que conecta a los osteocitos en el interior de la matriz ósea. De esta forma, se interrumpe la señal inhibitoria y las células de borde dan orden de iniciar el proceso de remodelación, comenzando con la reabsorción del hueso que está más dañado. Cuanto más dañado esté el hueso, menor será su rigidez y esto afectará a la evolución de las poblaciones celulares como veremos a continuación.

3.2.1 Convergencia en la población de OB_p

En una sola BMU, miles de OB_a rellenan la cavidad creada por los osteoclastos ([29], [30]). Su reclutamiento continuo desde los OB_p tiene lugar a una velocidad que varía con la velocidad de reabsorción. Para una BMU que avanza en el hueso a 40 μm/día, una velocidad estimada de 120 OB_a por día es necesaria para asegurar que todo el perímetro de la cavidad de la BMU sea recubierto por las células que forman hueso [29]. Esta velocidad de reclutamiento de OB_a requerida se consigue mediante una combinación de diferenciación desde las células madre mesenquimales próximas al final de los vasos sanguíneos, y la proliferación de OB_p entre los vasos sanguíneos y las paredes de la cavidad de la BMU ([31], [32], [33]). Los OB_a en BMUs normalmente forman una única capa de células, por lo que están limitados en número por la superficie de hueso disponible. Es de esperar que mecanismos de realimentación regulen la proliferación de OB_p para limitar la generación de OB_a. Es por eso que Buenzli et al. 2012 [6] modeló el control de la población celular de OB_p limitando la velocidad de proliferación de OB_p con la propia densidad de OB_p, de la siguiente manera:

$$P_{OB_p}(t) = \begin{cases} P_{OB_p}(t) \left(1 - OB_p(t) / OB_p^{sat}\right) & \text{si } OB_p(t) < OB_p^{sat} \\ 0 & \text{si } OB_p(t) \geq OB_p^{sat} \end{cases} \quad (3.35)$$

Donde OB_p^{sat} es una densidad crítica a partir de la cual la proliferación se suprime completamente.

La regulación temporal de la velocidad de proliferación es esencial para permitir que las células de OB_p proliferen rápidamente en las primeras etapas de la osteoblastogénesis (cuando la densidad de OB_p es baja) y que luego alcancen un estado de equilibrio controlado. Matemáticamente, un crecimiento exponencial rápido en la población de OB_p podría ocurrir según la ecuación (3.1) siempre que $P_{OB_p}(t) - D_{OB_p}(t)$ sea positivo y no disminuya muy rápido con el tiempo. Por otro lado, vemos en la ecuación (3.1) que una condición necesaria para que la población de OB_p se mantenga dentro de unos límites y converja a un estado de equilibrio coherente (con densidades celulares finitas y positivas) es que:

$$P_{OB_p}(t) - D_{OB_p}(t) < 0, \mathbb{S} \rightarrow \infty \quad (3.36)$$

La regulación de la proliferación según la ecuación (3.35) nos permite cumplir estos requerimientos.

De esta forma, en nuestro modelo, que considera $P_{OB_p}(v)$ como un parámetro independiente del tiempo, distinguiremos el caso en que la población de OB_p sea mayor que el límite, OB_p^{sat} . De manera que cuando

$OB_p > OB_p^{sat}$ la velocidad de proliferación se considerará nula ($P_{OB_p} = 0$).

3.2.2 Densidad de energía de deformación constante

Según la Teoría del Mecanostato de Frost [28], el hueso es reabsorbido en las zonas donde se encuentra en desuso, o sea, donde el estímulo mecánico es bajo, y es depositado allí donde las cargas son frecuentes e intensas, es decir, donde el estímulo mecánico es alto. La combinación de estos efectos le da forma al hueso y establece su distribución de densidad y anisotropía.

Una característica del Mecanostato es la presencia de la conocida como *zona muerta*, un rango de estímulos mecánicos (alrededor de un valor de referencia que el hueso siente como normal) dentro del cual no hay cambio neto en la densidad del hueso. Esto no quiere decir que no se produzca remodelación, si no que la diferencia entre el volumen de hueso formado y el reabsorbido es prácticamente nula. Si el estímulo mecánico es diferente al de referencia, el hueso responde, pero “perezosamente”, de manera que solo si el estímulo está muy por encima (o por debajo) del valor de referencia se producirá formación o reabsorción neta. En la **Figura 3.3** podemos ver la velocidad de remodelación, que será positiva cuando hay formación neta y negativa cuando hay reabsorción neta, en función del estímulo mecánico diario. En esta figura distinguimos también la zona muerta, cuya longitud ($2w$) está determinada por el final de la zona de reabsorción neta y el principio de la zona de formación neta.

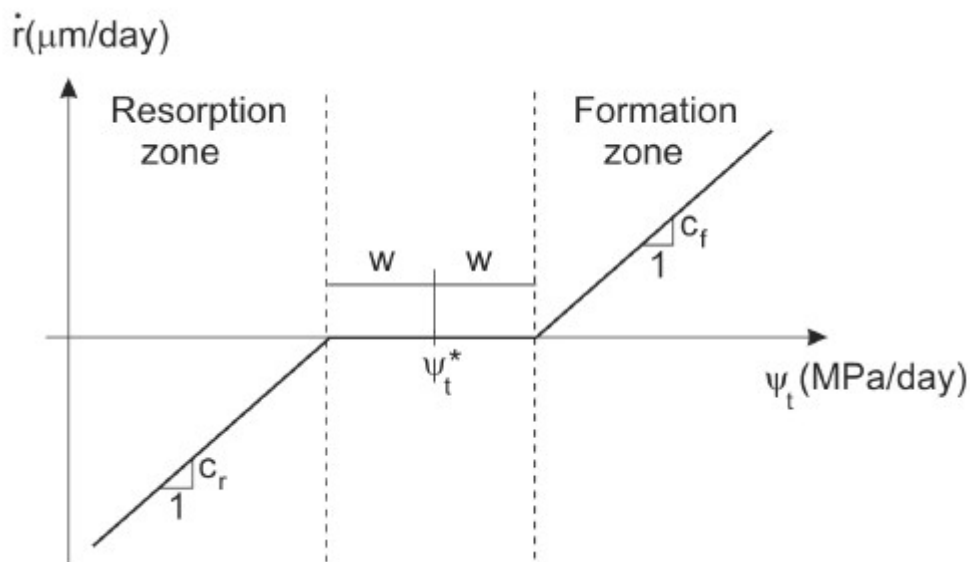


Figura 3.3. Velocidad de remodelación en función del estímulo mecánico según la teoría del Mecanostato. Podemos ver que la zona muerta tiene una dimensión de $2w$. Tomado de [34].

Para determinar el valor del estímulo de referencia, o de la densidad de energía de deformación de referencia, $\psi_{bm}(t_0)$, distinguiremos entre el caso de hueso cortical y hueso trabecular y supondremos que las deformaciones en el hueso siempre están en un rango entre $800 \mu\epsilon$ y $1500 \mu\epsilon$.

En base a eso, la densidad de energía de deformación se puede calcular como ya vimos en el apartado 3.1.4,

según la ecuación (3.26), que para un ensayo uniaxial se puede reescribir como:

$$\psi_{bm} = \frac{1}{2} E \varepsilon^2 \quad (3.37)$$

Vemos que la densidad de energía de deformación dependerá del módulo de Young, E.

En el caso de hueso trabecular ($f_{bm} < 0.5$) se considera un valor típico de $E = 500MPa$, lo que da lugar a un valor mínimo de SED dentro de la zona muerta de $\psi_{\min}^{trabecular}(t_0) = 1.6e-04MPa$ y un valor máximo de $\psi_{\max}^{trabecular}(t_0) = 5.6e-04MPa$, para estar dentro del rango de deformaciones deseado. Definiendo el valor de SED de referencia como la media entre esos dos valores tenemos:

$$\psi_{bm}^{trabecular}(t_0) = \frac{\psi_{\min}^{trabec}(t_0) + \psi_{\max}^{trabec}(t_0)}{2} = 3.6e-04MPa \quad (3.38)$$

El ancho de la zona muerta vendrá dado por:

$$2w^{trabec} = \psi_{\max}^{trabec}(t_0) - \psi_{\min}^{trabec}(t_0) \quad (3.39)$$

En el caso de hueso cortical ($f_{bm} \geq 0.5$), considerando un valor típico de $E = 20GPa$, podemos determinar, de la misma forma que para hueso trabecular, el valor de SED de referencia, obteniendo ahora $\psi_{bm}^{cortical}(t_0) = 1.445e-02MPa$. Igualmente podremos definir el ancho de la zona muerta para este tipo de tejido óseo.

Con todo esto, las ecuaciones (3.27) y (3.28) pueden reescribirse dando lugar a la siguientes expresiones:

$$\left. \begin{aligned} \Pi_{act,OB_p}^{\psi_{bm}} &= \frac{1}{2} \left[1 + \lambda \frac{\psi_{bm} - (\psi_{bm}(t_0) + w)}{\psi_{bm}(t_0) + w} \right] \\ P_{RANKL}^{\psi_{bm}} &= 0 \end{aligned} \right\} \text{ si } \psi_{bm} > \psi_{bm}(t_0) + w \quad (3.40)$$

$$\left. \begin{aligned} \Pi_{act,OB_p}^{\psi_{bm}} &= \frac{1}{2} \\ P_{RANKL}^{\psi_{bm}} &= k \left(1 - \frac{\psi_{bm}}{\psi_{bm}(t_0) - w} \right) \end{aligned} \right\} \text{ si } \psi_{bm} < \psi_{bm}(t_0) - w \quad (3.41)$$

$$\left. \begin{aligned} \Pi_{act,OB_p}^{\psi_{bm}} &= \frac{1}{2} \\ P_{RANKL}^{\psi_{bm}} &= 0 \end{aligned} \right\} \text{ si } \psi_{\min}(t_0) \leq \psi_{bm} \leq \psi_{\max}(t_0) \quad (3.42)$$

Donde el valor de SED de referencia, $\psi_{bm}(t_0)$, y el ancho de la zona muerta, $2w$, dependerán de si es hueso cortical o trabecular.

Podemos ver que la ecuación (3.40) representa el caso de sobrecarga, la ecuación (3.41) representa el caso de desuso y la ecuación (3.42) representa el caso en el que el estímulo mecánico se encuentra dentro de la zona muerta.

Estas ecuaciones han sido incluidas en el modelo y pueden encontrarse dentro de la subrutina *SUB_PI_EPS* en el Anexo C: *Subrutinas y funciones*.

3.2.3 Inclusión del daño

El modelo presentado hasta ahora no incluye el efecto del daño microestructural en el tejido óseo. En el Capítulo 4 de este documento presentaremos los resultados obtenidos distinguiendo entre el modelo que considera el efecto del daño y el modelo que no lo tiene en cuenta.

La inclusión del daño en nuestro modelo se ha llevado a cabo siguiendo lo propuesto por Martínez-Reina et al. [1], donde se considera que la presencia de daño microestructural afecta a la producción de RANKL, de forma similar a como afecta el desuso mecánico.

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

Este efecto se incluye en el modelo como parte del término de aportación externa de RANKL que veíamos en la ecuación (3.12), de manera que este término quedará ahora como sigue:

$$P_{RANKL,d} = P_{RANKL}^{m} + P_{RANKL}^{dam} + P_{RANKL} \quad (3.43)$$

Podemos ver que la aportación externa de RANKL se puede deber al desuso mecánico, P_{RANKL}^{m} , al daño, P_{RANKL}^{dam} , o a otros motivos, P_{RANKL} .

El término que representa la aportación de RANKL debida al daño puede definirse como:

$$P_{RANKL}^{dam} = \kappa_2 \cdot d \quad (3.44)$$

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

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

$$d = 1 - \frac{E}{E_0} \quad (3.45)$$

Donde E es el módulo de Young real del hueso dañado y E_0 es el módulo de Young del mismo hueso en una situación ideal de daño nulo. De manera que, en el modelo con daño, la expresión que utilizaremos para calcular el módulo de Young será:

$$E(MPa) = 84370 v_b^{2.58} \alpha^{2.74} (1-d) \quad (3.46)$$

Como vemos, difiere ligeramente de la ecuación (3.23) que usamos en el modelo sin daño.

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

$$N_f = \frac{K_i}{\bar{\epsilon}^{\delta_i}} \quad (3.47)$$

El subíndice i puede ser C para el caso de compresión o t para tracción, en nuestro modelo sólo tendremos en cuenta el daño provocado por esfuerzos de tracción. Los valores de K_i y δ_i fueron obtenidos experimentalmente por Pattin et al. [35] para hueso cortical sometido a ensayos de fatiga uniaxial, siendo para nosotros de interés solamente el valor de $\delta_t = 14.1$, pues la K_t se calculará de otra forma.

De igual forma, Pattin et al. [35] obtuvieron una relación entre la pérdida de rigidez, es decir, el daño, y la deformación constante aplicada y el número de ciclos. Estas curvas fueron ajustadas por García-Aznar et al. [36] dando lugar a la siguiente expresión:

$$d_t = 1 - \sqrt[\gamma_t]{\frac{1}{C_{t2}} \ln \left(e^{C_{t2}} - C_{t1} \bar{\epsilon}^{\delta_t} N \right)} \quad (3.48)$$

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

$$\gamma_t = -0.018(\bar{\epsilon} - 4100) + 12 \quad (3.49)$$

$$C_{t1} = \frac{e^{C_{t2}} - 1}{K_t}, C_{t2} = -20 \quad (3.50)$$

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

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

$$\dot{d} = -d \frac{\dot{v}_r}{v_b} \quad (3.51)$$

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

Tradicionalmente, el límite de fatiga ha sido relacionado con la resistencia última a tracción en distintos tipos de materiales [37]. Considerando que la matriz ósea no sufre deformaciones plásticas (lo cual se confirma con el hecho de que el daño se acumula por la aparición de microgrietas), la tensión última a tracción, σ_u , es proporcional a la deformación última a tracción, ϵ_u , localmente, y se ha demostrado experimentalmente que ϵ_u disminuye con el contenido de mineral [27] (ver **Figura 3.4**). Teniendo en cuenta esta idea se pueden hacer las siguientes suposiciones:

1. La forma de la curva $d - N$, expresada por la ecuación (3.48) se mantiene a pesar de los cambios en el contenido de mineral.
2. Solamente la vida a fatiga se ve afectada por el contenido de mineral, cambiando la constante K_t de la ecuación (3.47) y manteniendo constante el exponente δ_t . Esto modifica la curva $d - N$, ya que C_{t1} depende de K_t . De forma que, aumentando K_t obtenemos una vida a fatiga mayor y, lógicamente, una velocidad de acumulación de daño menor.
3. El límite de fatiga se considera para una vida a fatiga de 10^7 ciclos. Normalmente dicho límite de fatiga se alcanza para una fracción de la deformación última a tracción, ϵ_u / β , donde β depende del tipo de material, que para nuestro caso toma un valor igual a 2. Como muestra la **Figura 3.4**, ϵ_u depende de la concentración de calcio, [Ca], con lo cual, K_t se puede obtener a partir de la ecuación (3.47) como

sigue:

$$K_t([Ca]) = 10^7 \left(\frac{\varepsilon_u([Ca])}{\beta} \right)^{\delta_t} \quad (3.52)$$

4. Finalmente, la función $\varepsilon_u = \varepsilon_u([Ca])$ se ha determinado relacionando los resultados de la **Figura 3.4** con una regresión lineal apropiada que podemos ver en la figura en forma de línea gruesa.

$$\log \varepsilon_u = 25.452 - 11.341 \log[Ca] \quad (3.53)$$

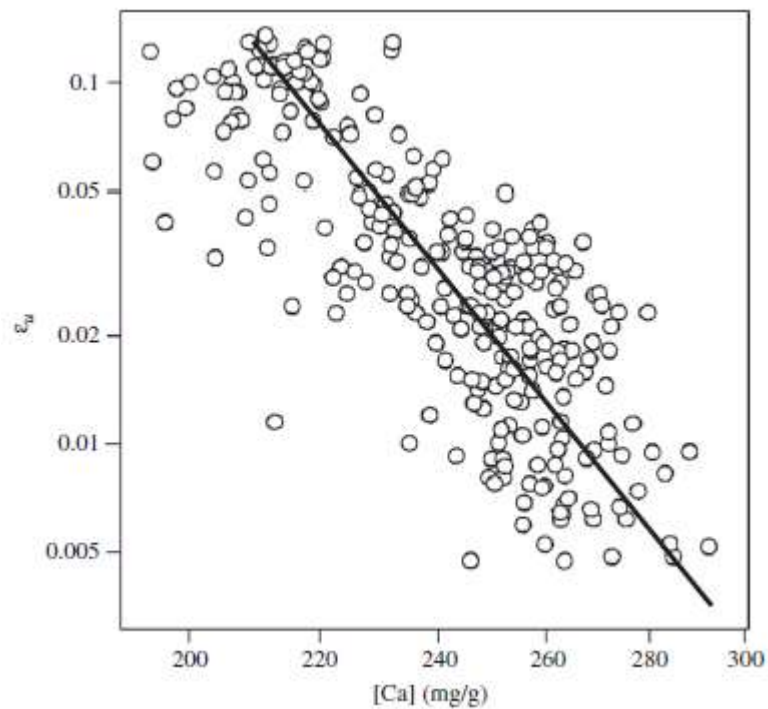


Figura 3.4. Relación entre la deformación última a tracción y la concentración de calcio (masa de calcio por masa seca). Adaptado de [27].

La concentración de calcio es directamente proporcional a la fracción de ceniza en el hueso, pudiéndose calcular de la siguiente manera:

$$[Ca] = 398.8\alpha \quad (3.54)$$

Todas estas expresiones han sido empleadas para calcular el daño que sufre el tejido óseo en nuestro modelo y han sido implementadas en la subrutina *CALDAM* que podemos encontrar en el Anexo C: **Subrutinas y funciones** de este documento.

3.3 Modelo con PMO

La osteoporosis es una enfermedad caracterizada por una pérdida significativa de hueso, con el consecuente aumento del riesgo de fractura del mismo. Es muy común en mujeres postmenopáusicas y en ancianos. A menudo, la osteoporosis postmenopáusica (PMO) se aprecia por primera vez en un escáner de densidad de hueso, y por esta razón a veces se le llama la “enfermedad silenciosa”, porque puede no haber síntomas apreciables asociados a la pérdida de hueso [38].

Es por esto que en el presente trabajo se ha decidido incluir en el modelo el efecto de la PMO siguiendo lo propuesto por Scheiner et al. [7], con objeto de poder determinar tratamientos que puedan paliar esta enfermedad en futuros trabajos.

Estudios experimentales sobre la patofisiología de la PMO han revelado que varios mecanismos deben ocurrir simultáneamente, induciendo en su conjunto el patrón de enfermedad conocido como PMO. Entre otros mecanismos patógenos potenciales, la deficiencia de estrógeno ha sido ampliamente aceptada como la causa principal de la PMO [39] [40], resultando en un incremento de las concentraciones de osteoclastos y osteoblastos (provocando un aumento en la actividad remodelatoria) [41]. El estrógeno inhibe la osteoclastogénesis, es decir, la maduración de las células del linaje de los osteoclastos. La menopausia conlleva una disminución significativa de los niveles de estrógeno, dando lugar a la omisión de la inhibición de la osteoclastogénesis, originando un aumento en la actividad osteoclástica y con ello, la pérdida de hueso. En comparación con las concentraciones celulares en un hueso sano (premenopáusico), el aumento de OC_a es mayor que el de OB_a implicando una pérdida potencial de hueso significativa tras el comienzo de la PMO. Esta fase inicial de la PMO está acompañada por un aumento en el ratio de la concentración de RANKL sobre la concentración de OPG, en comparación con la fisiología normal del hueso. Tras cierto tiempo (desde algunos meses hasta varios años), disminuye la velocidad de pérdida ósea y el hueso postmenopáusico se ve sometido a una pérdida ósea moderada de larga duración.

La primera fase de la PMO se modela considerando un aumento en la producción externa de RANKL relacionado con dicha enfermedad, lo que conlleva un aumento en la diferenciación de osteoclastos. Para tener en cuenta la pérdida ósea moderada de la segunda fase de la PMO se asume que el exceso de producción de RANKL se reduce con el tiempo. En concreto, consideraremos el siguiente término de producción de RANKL para $t \geq t_{PMO,ini}$, siendo $t_{PMO,ini}$ el instante de tiempo en que se inicia la PMO:

$$P_{RANKL}^{PMO} = P_{RANKL}^{PMO,ini} \varphi_{PMO}^{RANKL} \quad (3.55)$$

Donde $P_{RANKL}^{PMO,ini}$ es la velocidad de exceso de producción de RANKL al inicio de la PMO y φ_{PMO}^{RANKL} es un factor de reducción de la $P_{RANKL}^{PMO,ini}$ que puede definirse como sigue:

$$\varphi_{PMO}^{RANKL} = \frac{\xi^2}{\xi^2 + \left[\frac{t - t_{PMO,ini}}{\tau_{PMO}^{RANKL}} \right]^2} \quad (3.56)$$

El parámetro ξ junto con el tiempo característico de disminución de la producción de RANKL, τ_{PMO}^{RANKL} , determinan la forma de la función tipo Lorentz dada por la ecuación (3.56). En nuestro modelo, el término P_{RANKL}^{PMO} va a formar parte de la producción externa de RANKL, junto con el término referido al desuso y el referido al daño (en caso de que se considere daño). De manera que la ecuación (3.43) se reescribe de la siguiente forma:

$$P_{RANKL,d} = P_{RANKL}^{W_{bm}} + P_{RANKL}^{dam} + P_{RANKL}^{PMO} + P_{RANKL} \quad (3.57)$$

Para el caso que considera daño y PMO.

Además de todo esto, datos registrados *in vivo* sugieren que la disminución en la mecanosensibilidad del hueso debido al aumento en la apoptosis de osteocitos, otro efecto de la deficiencia de estrógeno, también juega un papel importante en la progresión de la PMO [39] [42]. Para incorporar este efecto en nuestro modelo, asumimos que, tras el comienzo de la PMO en $t = t_{PMO,ini}$, los parámetros que gobiernan la sensibilidad de la remodelación ósea a cambios en el estímulo mecánico que vimos en el apartado 3.1.4 de este documento (λ y κ) disminuyen a través del factor de reducción φ_{PMO}^{mech} , que puede definirse como sigue:

$$\varphi_{PMO}^{mech} = \exp\left(\frac{t - t_{PMO,ini}}{\tau_{PMO}^{mech}}\right) \quad (3.58)$$

Donde τ_{PMO}^{mech} es el tiempo característico de la disminución de la mecanosensibilidad del hueso cortical debido a la PMO. De esta forma, en nuestro modelo, los parámetros que gobiernan la enfermedad no se consideran constantes, si no que varían con el tiempo, de acuerdo a la tendencia patofisiológica expuesta por Post et al. [43]. El conjunto de ecuaciones (3.55)-(3.58) se puede considerar como una aproximación (semi)fenomenológica de la suma de procesos que realmente contribuyen a la iniciación y el mantenimiento de la PMO.

Estas ecuaciones se incluyen en el modelo para el caso con PMO y aparecen modificando las subrutinas *SUB_PI_RANKL* y *SUB_PI_EPS* que pueden consultarse en el Anexo C: **Subrutinas y funciones** del presente documento.

3.4 Implementación en Abaqus

El objetivo de este Trabajo Fin de Máster es crear una subrutina en Abaqus que simule el comportamiento del hueso en base al modelo de poblaciones celulares que se ha expuesto a lo largo de este capítulo.

Una vez creada la subrutina, vamos a aplicarla sobre una malla cilíndrica hueca cuyas dimensiones se han hecho

coincidir con las de la diáfisis de un radio humano medio según las mediciones y los datos empleados en [44] y [45]. En estos artículos se considera que el diámetro exterior del radio en una zona media de la diáfisis se puede aproximar a un tamaño de 14 mm, teniendo el hueco de la cavidad medular un diámetro de 7 mm. En nuestra malla, partiremos de un diámetro interior de 4 mm con el objetivo de alcanzar una densidad de hueso prácticamente nula en las zonas interiores por debajo de los 7 mm de diámetro interior, como se espera según la literatura.

Emplearemos una malla con 3680 elementos tipo C3D8 (hexaedro con 8 puntos de integración situados en los vértices del elemento), de los cuales los 800 elementos centrales serán del material tipo *hueso* y el resto se considerarán de material tipo elástico con módulo de Young 18 GPa (próximo al valor de la rigidez media del hueso cortical) y coeficiente de Poisson 0.3.

La malla se someterá a condiciones de flexión pura para asegurar que en la zona central de la misma (donde tenemos el material tipo *hueso*) sólo hay momento flector. También añadiremos un momento torsor, pues se considera que las cargas a las que normalmente está sometido un radio humano son principalmente de flexión y de torsión. La magnitud de las cargas aplicadas se ha estimado considerando que las deformaciones finales en la malla deben encontrarse en un rango entre $800 \mu\epsilon$ y $1500 \mu\epsilon$ en el estado de equilibrio del modelo y que la distribución de densidades en la malla tras aplicar dichas cargas y alcanzar el equilibrio coincide con el descrito en [44].

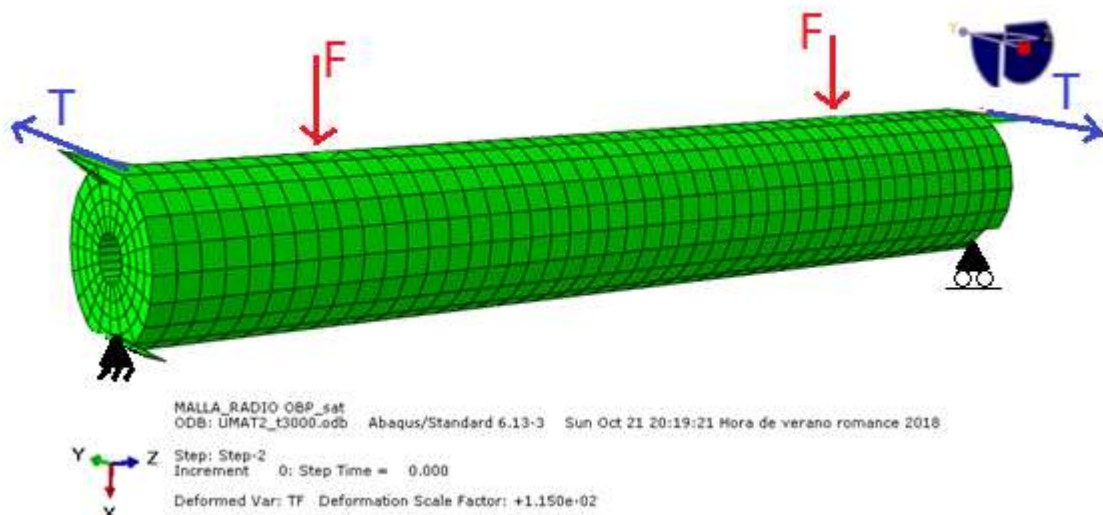


Figura 3.5. Cargas y condiciones de contorno en la malla simulando las acciones a las que está sometido el radio humano.

En todas las simulaciones se utilizará un tiempo de integración de 0.25 días, lo cual deberá tenerse en cuenta al hacer la conversión de tiempo de simulación a tiempo en días o en años

4 RESULTADOS

En este capítulo vamos a presentar los resultados obtenidos al aplicar el modelo de remodelación ósea basado en poblaciones celulares sobre la malla cilíndrica hueca descrita en el apartado 3.4. Se considerarán varios casos, para cada uno de los cuales las ecuaciones del modelo varían ligeramente. En todos ellos se parte de una distribución homogénea de densidad, que será la correspondiente a una fracción volumétrica de matriz ósea $f_{bm} = 0.8$. A lo largo de las simulaciones esta distribución irá cambiando para irse aproximando a la distribución de densidades que podemos encontrar en un radio humano real.

El valor de todos los parámetros empleados en el modelo, incluyendo los parámetros de todos los casos considerados, puede consultarse en el Anexo A: *Parámetros empleados* del presente documento.

4.1 Modelo con SED como constante del material

En este primer caso se consideran las modificaciones descritas en los apartados 3.2.1 y 3.2.2 de este documento, es decir, incluimos un término de saturación para controlar la proliferación de OB_p , y consideramos que la densidad de energía de deformación en el equilibrio es una constante que dependerá del tipo de hueso (cortical o trabecular) y que toma los valores que ya vimos anteriormente.

De esta forma, las ecuaciones (3.40)-(3.42) van a depender de la fracción volumétrica de matriz ósea en cada instante, pues cuando $f_{bm} < 0.5$ consideraremos el valor de SED de equilibrio para hueso trabecular y cuando $f_{bm} > 0.5$ consideraremos su valor para hueso cortical.

Teniendo en cuenta lo anterior, se realizan simulaciones lo suficientemente largas como para poder apreciar convergencia en los valores de f_{bm} en todos los puntos de la malla con material tipo *hueso*. En la **Figura 4.1** podemos observar la evolución de f_{bm} en una sección central de la malla.

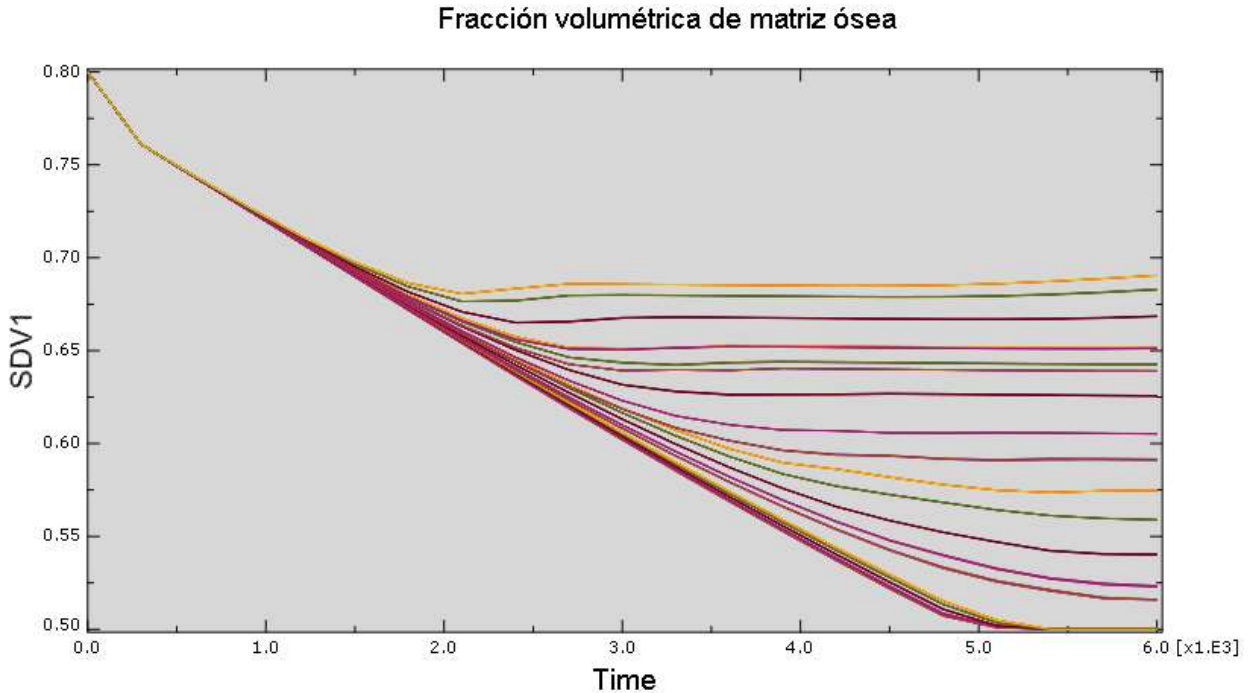


Figura 4.1. Evolución de f_{bm} en todos los elementos de una sección central de la malla considerando un valor de SED en el equilibrio constante para hueso trabecular y otro valor para hueso cortical.

Los resultados obtenidos muestran claramente una asíntota horizontal en torno $f_{bm} = 0.5$. Los elementos situados en el interior de la malla deberían disminuir su densidad hasta alcanzar valores prácticamente nulos, sin embargo, su fracción volumétrica no baja de 0.5.

El motivo de que esto ocurra reside en que hemos definido la condición de emplear el valor de $\psi_{bm}(t_0)$ para hueso cortical o para hueso trabecular en función de f_{bm} . De manera que, mientras un elemento tenga una fracción volumétrica de matriz ósea por encima de 0.5, el valor de $\psi_{bm}(t_0)$ considerado es el correspondiente al del hueso cortical. Si la SED de ese elemento es menor que la $\psi_{bm}(t_0)$ se encontrará en una situación de desuso y su densidad bajará. La densidad seguirá bajando mientras se cumpla $\psi_{bm} < \psi_{bm}^{cortical}(t_0)$ hasta llegar al punto en que $f_{bm} = 0.5$. Al llegar a este valor de fracción volumétrica de matriz ósea, el modelo cambia la SED de equilibrio cortical por la del hueso trabecular, que es dos órdenes de magnitud inferior a la primera. Entonces la SED de ese elemento, que antes estaba por debajo de la SED de equilibrio, pasa a estar ahora por encima $\psi_{bm} > \psi_{bm}^{trabecular}(t_0)$ tratándose de un caso de sobrecarga que provoca un aumento en la densidad de este elemento. Al aumentar la densidad provocará que f_{bm} vuelva a estar por encima de 0.5, haciendo que la SED de equilibrio cambie de nuevo de trabecular a cortical. El elemento se encontrará ahora en desuso respecto al valor de $\psi_{bm}^{cortical}(t_0)$ y volverá a repetirse la misma situación que antes.

Esto nos impide obtener un resultado coherente con el modelo definido como hasta ahora, pues siempre

estaremos impidiendo que los elementos del interior de la malla puedan disminuir su fracción volumétrica de matriz ósea por debajo de 0.5.

Para solucionar este problema, se considera que todo el hueso presente en la malla es hueso cortical, lo cual es una buena aproximación teniendo en cuenta que el tejido óseo en la diáfisis de huesos largos es casi exclusivamente cortical. Esto se incluye en el modelo estableciendo un único valor de $\psi_{bm}(t_0)$, que será el valor correspondiente al caso de hueso cortical: $\psi_{bm}(t_0) = \psi_{bm}^{cortical}(t_0) = 1.445e - 02MPa$. De esta forma, cuando la f_{bm} de un elemento de la malla esté por debajo de 0.5 su densidad seguirá bajando siempre que esté en condiciones de desuso sin verse limitada, hasta un valor mínimo por encima de $1.0e-04$.

Esta modificación del modelo se va a considerar en todos los casos desarrollados a partir de este apartado y se incluye en la subrutina *SUB_PI_EPS* que se puede encontrar en el Anexo C: *Subrutinas y funciones* del presente documento.

4.2 Modelo con SED constante solo para hueso cortical

Tras haber concluido en el apartado anterior que sólo vamos a considerar un valor de densidad de energía de deformación en el equilibrio y que éste será el calculado para hueso cortical, procedemos ahora a encontrar el estado de equilibrio de nuestro sistema. De nuevo, haremos simulaciones lo suficientemente largas como para ver que la densidad de los distintos elementos de la malla se mantiene estable y que la SED en toda la malla alcanza un valor próximo al de equilibrio, aunque con cierto margen debido a la presencia de la zona muerta en la curva de remodelación descrita en el apartado 3.2.2.

En la **Figura 4.2** podemos ver la distribución de densidad en los distintos elementos de la zona de la malla con material tipo *hueso* tras una simulación de 8700 días. Se puede apreciar como la densidad de los elementos exteriores ha aumentado desde un 80% que tenían inicialmente hasta un 97%, superando el valor máximo de fracción volumétrica de matriz ósea que suele presentar el hueso cortical. Los elementos del interior de la malla han disminuido su densidad hasta valores en torno a un 5%, lo cual está bastante por debajo de la densidad mínima que presenta el hueso trabecular (15%), con lo cual podríamos considerar que esos elementos no tienen una densidad correspondiente al hueso y que en esa zona habría hueco. Haciendo esta consideración, el espesor de la zona con elementos de muy baja densidad es de 1.25 mm, es decir, si partimos de un radio interior igual a 2 mm, ahora tendremos un radio de la cavidad medular de 3.25 mm. Estas dimensiones cuadran perfectamente con las determinadas por Hsu et al. [44], de donde se deduce que el radio de la cavidad medular en la zona media de la diáfisis de un radio humano está en torno a los 3.5 mm.

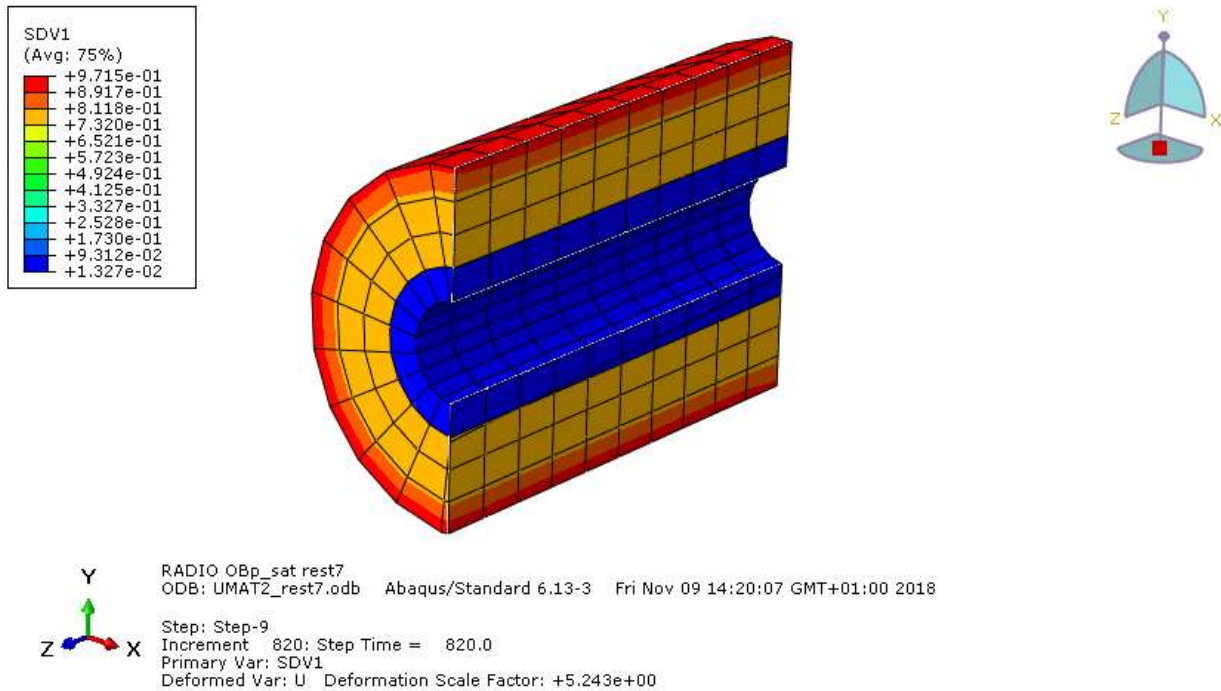


Figura 4.2. Fracción volumétrica de matriz ósea en los elementos de la malla tipo *hueso* para una simulación de 8700 días.

En base a este resultado podríamos pensar que se ha alcanzado el equilibrio de remodelación, sin embargo, en la **Figura 4.3** podemos ver que la distribución de la densidad de energía de deformación no es constante en toda la malla. La SED varía entre las zonas del exterior de la malla y el interior de la misma alcanzando valores que se alejan del valor de SED de referencia, incluso fuera de los valores que se esperan de SED dentro de la zona muerta.

Esto nos sugiere que el equilibrio de remodelación no se ha alcanzado aún, pues la SED en los elementos exteriores debería seguir bajando a medida que éstos aumentan su densidad y la de los elementos interiores debería ir subiendo conforme éstos disminuyen su densidad. Sin embargo, si prologamos el tiempo de simulación, nos encontramos con que la densidad de ciertos elementos (que hasta ahora venía siendo prácticamente constante) cae bruscamente (ver **Figura 4.4**) y si observamos el estado de la malla en ese instante de la simulación (ver **Figura 4.5**) podemos ver que aparece el problema conocido como “checkerboard”.

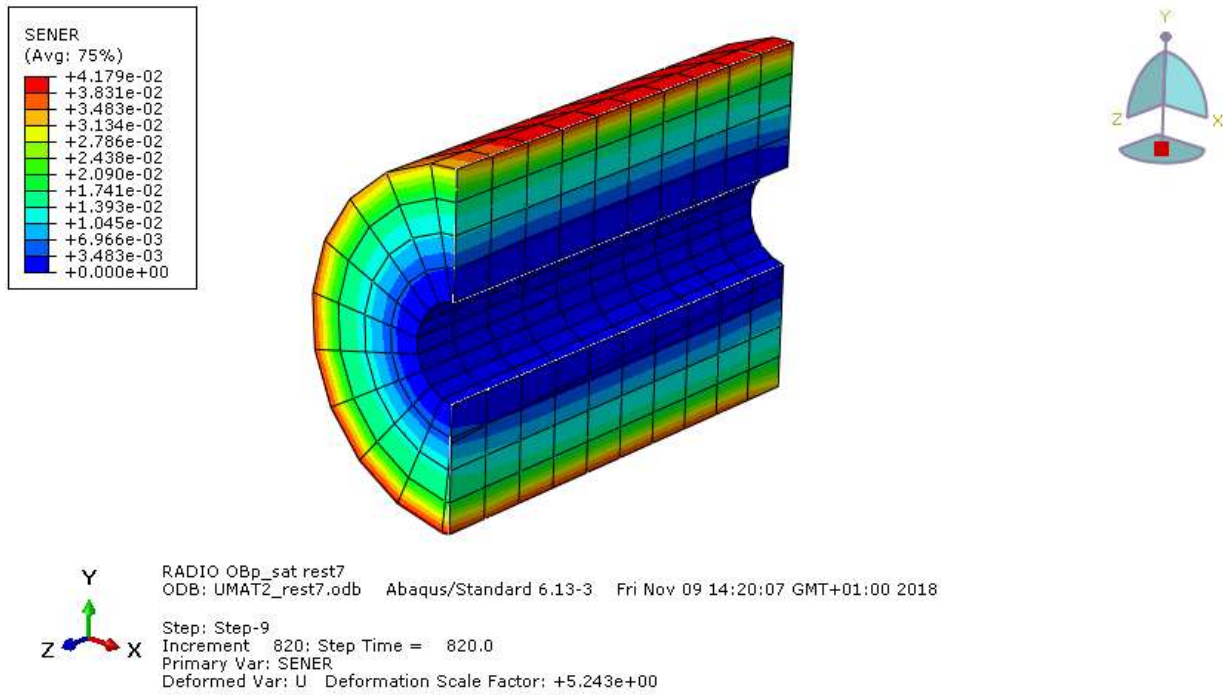


Figura 4.3. Densidad de energía de deformación [MPa] en los elementos de la malla tipo *hueso* para una simulación de 8700 días.

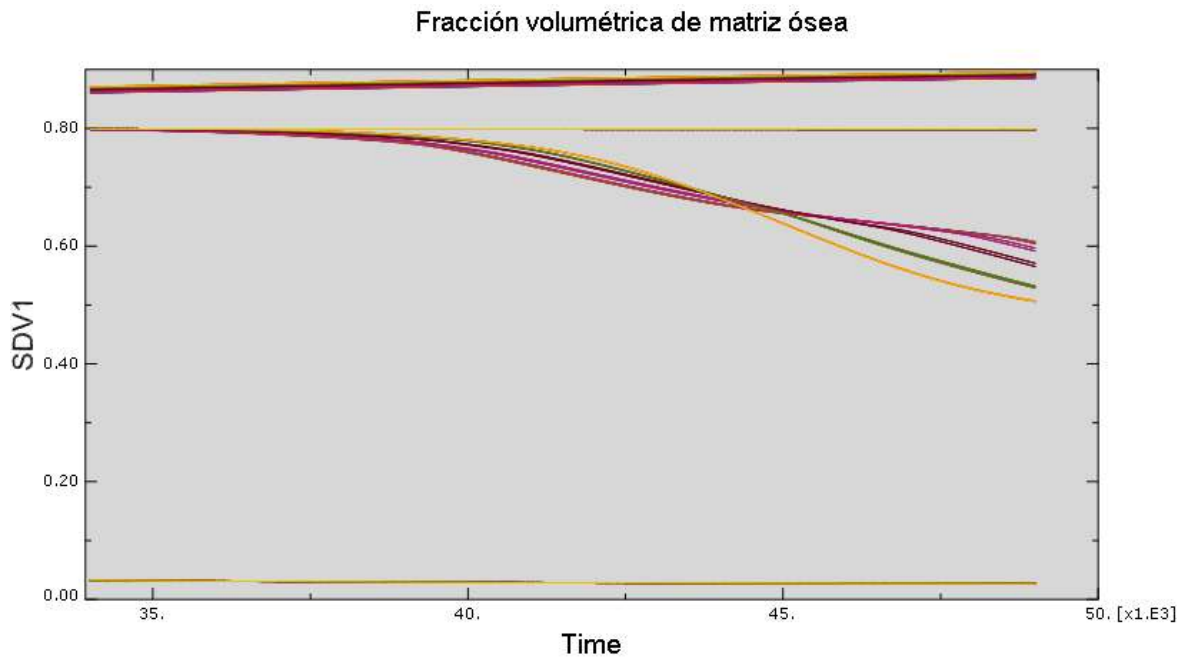


Figura 4.4. Evolución de f_{bm} en los elementos de una sección central de la malla al prolongar la simulación hasta 12250 días.

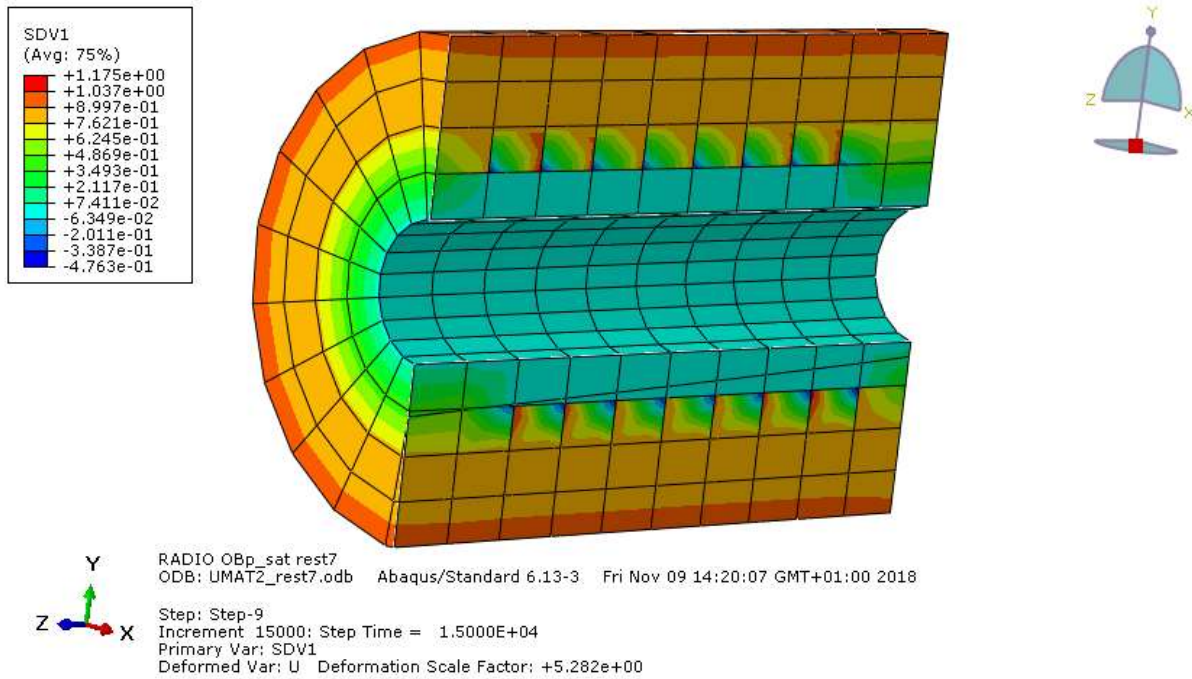


Figura 4.5. Distribución de densidades en la zona de la malla con material tipo *hueso* tras un tiempo de simulación de 12250 días. Se aprecia el problema del checkerboard.

El problema del “checkerboard” suele aparecer en modelos de remodelación cuando la densidad, y por tanto la rigidez, de algunos elementos aumenta de golpe provocando una disminución en el estímulo mecánico que soportan los elementos vecinos, haciendo que estos disminuyan bruscamente su densidad. Esto da lugar a una distribución de densidades parcheada que recuerda a un tablero de ajedrez. Cuando aparece este problema, el sistema se vuelve inestable y resulta complicado encontrar el equilibrio de remodelación. Por ello, debemos detener nuestra simulación antes de que aparezca el “checkerboard” y considerar como equilibrio una situación anterior. En la **Figura 4.6** vemos que la densidad de todos los elementos de la sección central de la malla seguía una tendencia prácticamente constante en los últimos 1000 días antes de la aparición del “checherboard”. Podemos ver que los elementos exteriores presentan una densidad media próxima al 85%, mientras que los interiores no alcanzan el 5% de densidad, tal y como veíamos en la **Figura 4.2**. Por tanto, consideramos que el equilibrio de remodelación se alcanza (aunque no sea del todo cierto) para un tiempo de simulación de 8500 días.

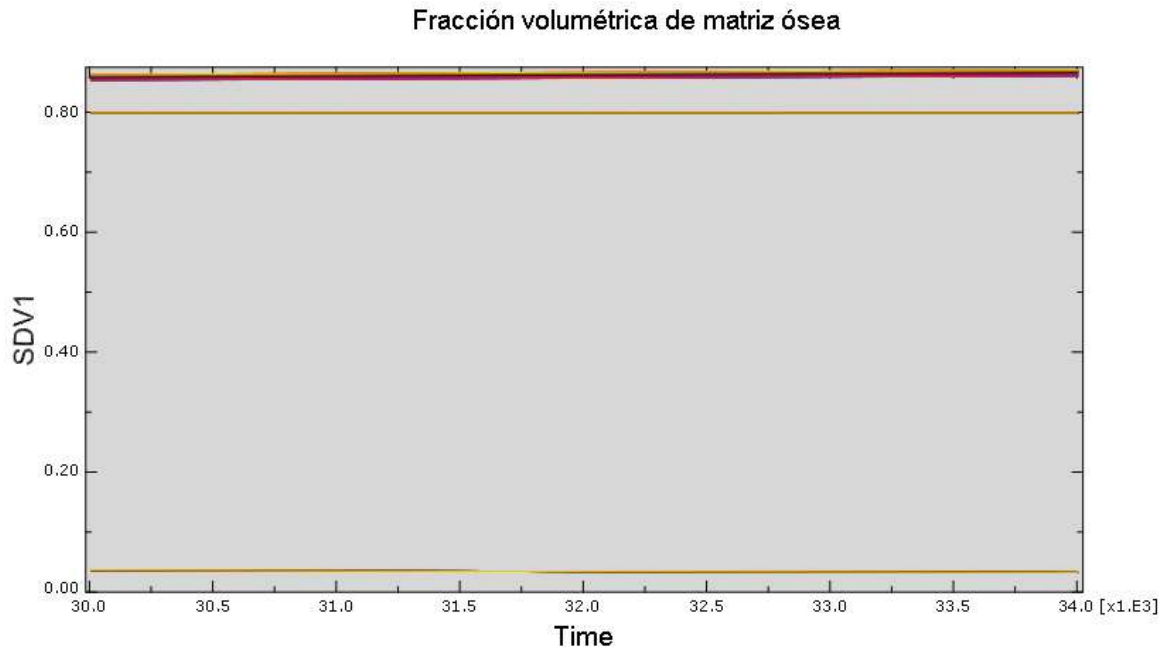


Figura 4.6. Evolución de f_{bm} en los elementos de una sección central de la malla durante los últimos 1000 días de una simulación de 8500 días.

Para asegurarnos de que el modelo está funcionando correctamente debemos comprobar que, aunque no se alcance el equilibrio real del sistema, la evolución de SED es la adecuada durante toda la simulación hasta antes de que aparezca el “checkerboard”. En la **Figura 4.7** podemos ver cómo varía el valor de SED en un elemento del exterior de la malla durante un tiempo de simulación de 12250 días. Al inicio de la simulación el valor de SED aumenta, puesto que el exterior de la malla es la zona sometida a mayor estímulo mecánico y la densidad inicial del hueso en esa zona aún no ha crecido lo suficiente. A partir de cierto instante, en torno a los 2000 días, la SED comienza a disminuir, debido a que la densidad de este elemento ha seguido aumentando dando lugar a un incremento en su rigidez y haciéndolo por tanto menos sensible al estímulo mecánico. La SED debería seguir con esta tendencia descendente hasta alcanzar un equilibrio, sin embargo, vemos que al cabo de unos 9000 días de simulación el valor de SED aumenta relativamente rápido para luego seguir una evolución oscilatoria inestable. El instante de tiempo en que tiene lugar este cambio repentino en la evolución de SED coincide con el momento en que aparece el problema del “checkerboard”, con lo cual queda justificado que a partir de ese instante el sistema se hace inestable y que debemos considerar como equilibrio de remodelación un instante anterior.

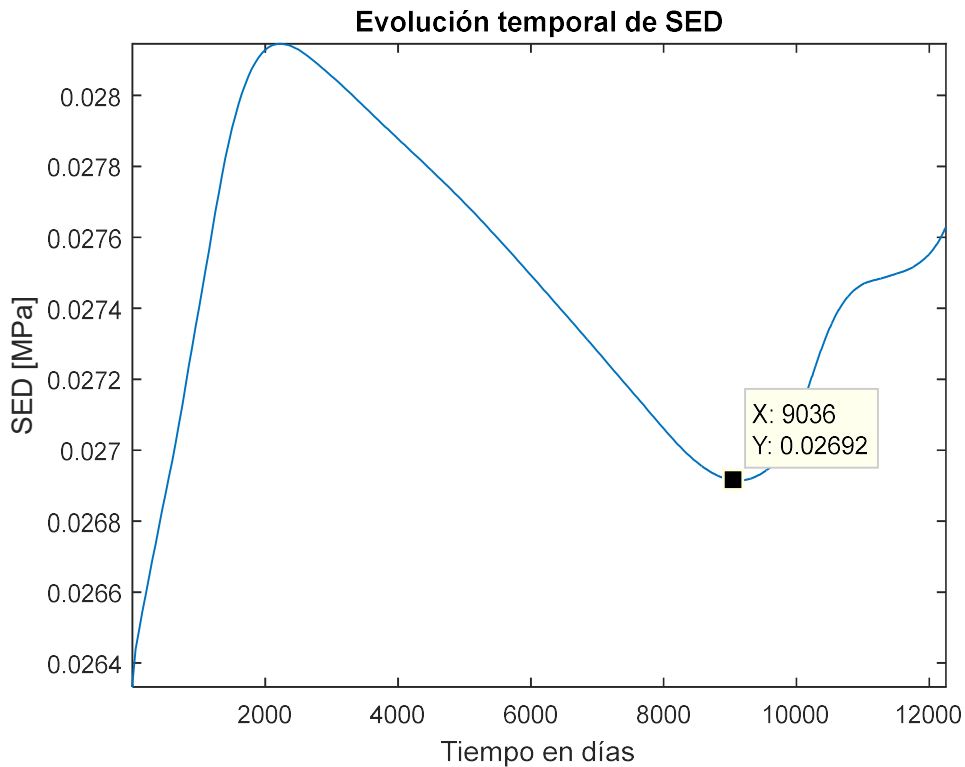


Figura 4.7. Evolución temporal de SED en un elemento del exterior de la malla para un tiempo de simulación de 12250 días.

Consideraremos por tanto que nuestro modelo alcanza el equilibrio tras una simulación de 8500 días y a partir de este punto se iniciarán todas las demás simulaciones que aparecen en los distintos casos considerados en este documento.

En la **Figura 4.8** podemos ver el contenido de mineral en los distintos elementos de la sección central de la malla, en términos de la fracción de ceniza. El valor inicial de fracción de ceniza era 0.7, vemos que en los elementos interiores este valor se ha reducido hasta cerca de 0.6, probablemente debido a que la reabsorción en esa zona de la malla ha sido mucho mayor que en el resto, ya que estos elementos han visto disminuir su densidad en más de un 90%.

Los demás elementos presentan una fracción de ceniza muy similar a la inicial, tan solo 0.01 puntos por encima. Este pequeño aumento puede deberse a que esta zona ha sufrido formación neta de hueso, por lo que la cantidad de tejido viejo mineralizado reabsorbido ha sido menor que en la zona del interior.

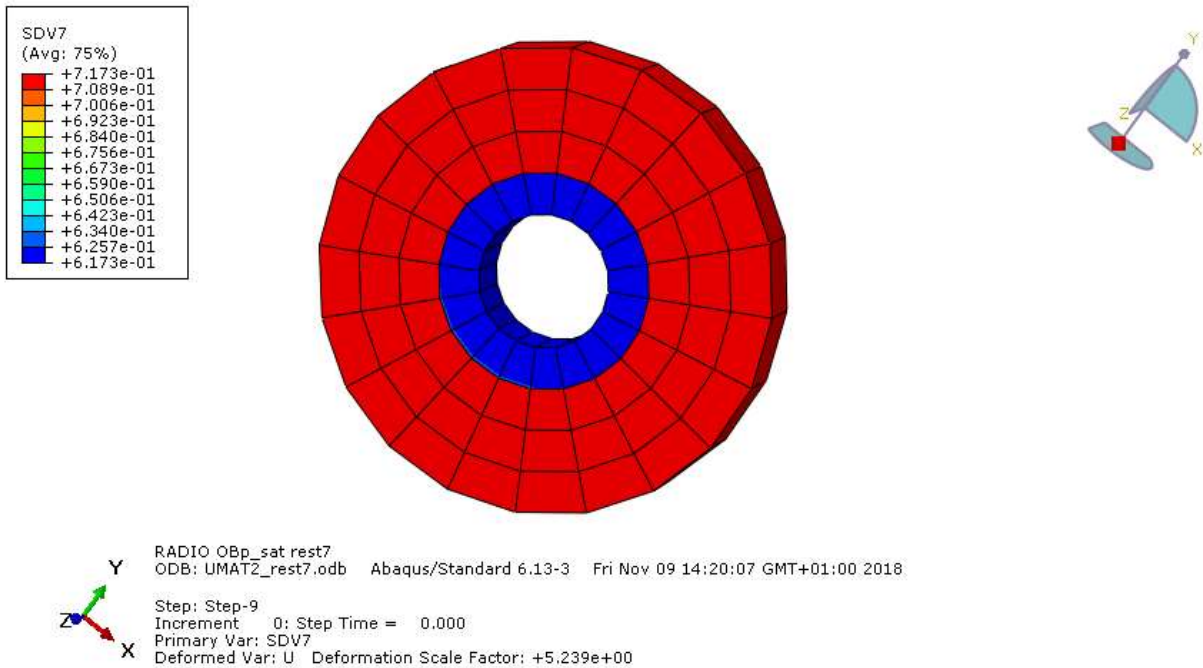


Figura 4.8. Fracción de ceniza en los elementos de la sección central de la malla tras 8500 días de simulación.

4.2.1 Caso de sobrecarga

En este subapartado vamos a considerar un caso de sobrecarga a partir del estado de equilibrio que se alcanzó en el apartado anterior. Para ello aumentamos el valor del torsor aplicado en un 50% y rodamos la simulación durante un tiempo equivalente a 8 años (3000 días), con el objetivo de simular la evolución de densidades en el radio de una persona sometido a altos estímulos mecánicos durante una etapa de su vida.

En la **Figura 4.9** podemos apreciar que la densidad ósea en la corteza de la diáfisis ha aumentado respecto al estado de equilibrio. Ahora, el espesor de la zona con densidad próxima al 97% es mayor y conforme nos aproximamos al interior del hueso la densidad es también superior a la que veíamos en el caso de equilibrio.

Por otro lado, los elementos de la zona interior del hueso, cuya densidad era prácticamente nula en el equilibrio, siguen teniendo valores de densidad en torno al 5%. Es decir, siguen representando “hueco” dentro de la malla.

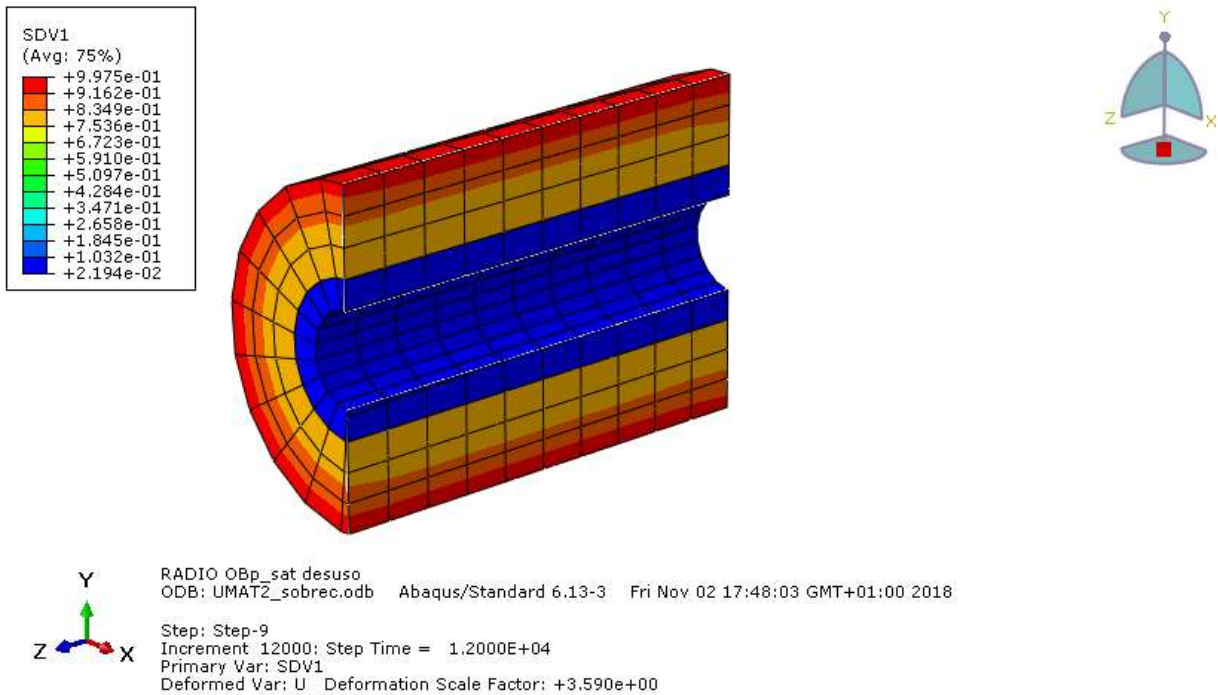


Figura 4.9. Distribución de densidades en la zona de la malla con material tipo *hueso* para el caso de sobrecarga tras 3000 días (8 años) de simulación a partir del estado de equilibrio.

Este resultado refleja la evolución de densidades esperada en el radio de un individuo sometido a cargas superiores a las que su hueso considera como equilibrio. Cuando la carga que soporta el hueso es mayor que la de equilibrio, el tejido óseo interpreta que es necesario aumentar su densidad. Los osteocitos embebidos en el osteoide detectan un mayor flujo de fluido por el sistema lacuno-canalicular y mediante una serie de procesos químicos informan a las células de borde para que aumente el número de células del linaje de los osteoblastos. Esto se traduce en nuestro modelo por un aumento en el parámetro que controla la velocidad de proliferación de los osteoclastos precursores en función del estímulo mecánico. De esta forma, la población de OB_p se ve incrementada notablemente en los primeros días de la simulación, provocando un incremento repentino en la población de OB_a que podemos ver en la **Figura 4.10**. En esta figura se observa la evolución de OB_a (línea azul) y OC_a (línea roja) durante 8 años de simulación en un elemento situado en el exterior de la malla. Es posible comprobar cómo la población de OB_a aumenta notablemente en los 30 primeros días de la simulación y luego va disminuyendo, manteniéndose siempre por encima de la población de OC_a , lo que da lugar a que haya formación neta de hueso en esa zona de la malla.

Hay que tener en cuenta que la variación de densidad viene dada por la ecuación (3.29), en la que la reabsorción de hueso se define como $k_{res} OC_a$ y la formación de hueso se calcula como $k_{form} OB_a$. Por lo que al observar la **Figura 4.10**, debemos multiplicar la concentración de OB_a por k_{form} y la de OC_a por k_{res} . Incluyendo esta consideración, la formación de hueso sigue siendo superior a la reabsorción para el tiempo de simulación mostrado.

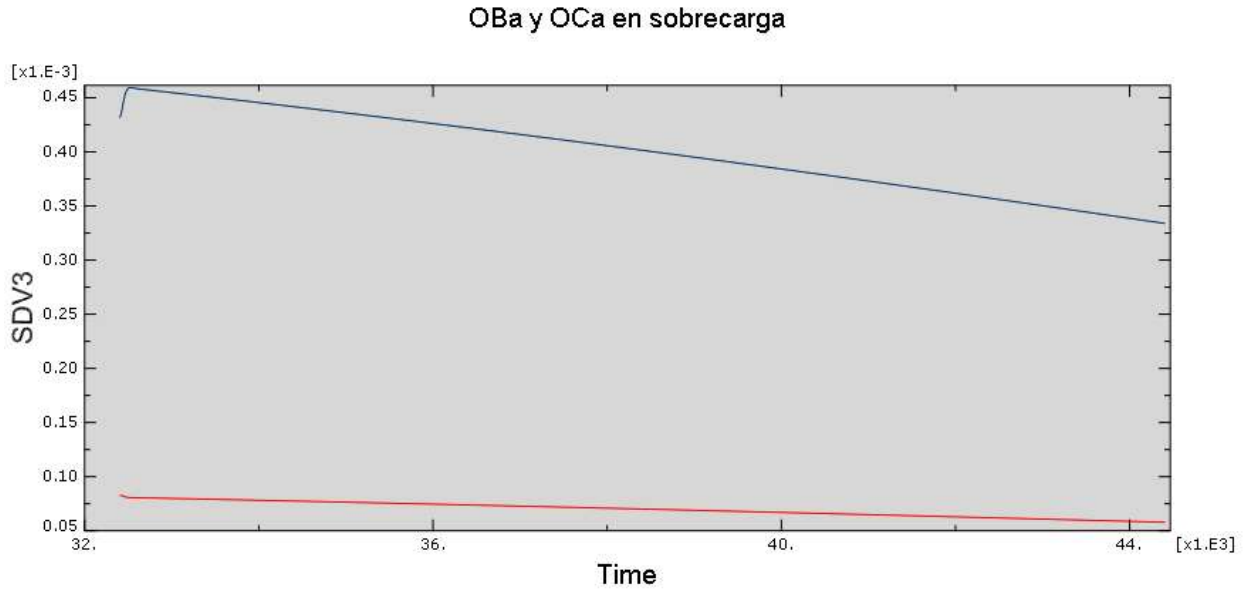


Figura 4.10. Evolución de la población de Oba (línea azul) y Oca (línea roja) en un elemento del exterior de la malla (el 2265) para el caso de sobrecarga durante una simulación de 3000 días (8 años).

Si nos fijamos en la densidad de energía de deformación en este caso de sobrecarga al cabo de 3000 días (**Figura 4.11**), vemos que sus valores oscilan entre $6.592e-03$ MPa y $7.910e-02$ MPa, es decir, están en un rango por encima del que se obtenía en el caso sin sobrecarga (ver **Figura 4.3**). Esto es de esperar al someter al sistema a un estímulo mecánico más alto.

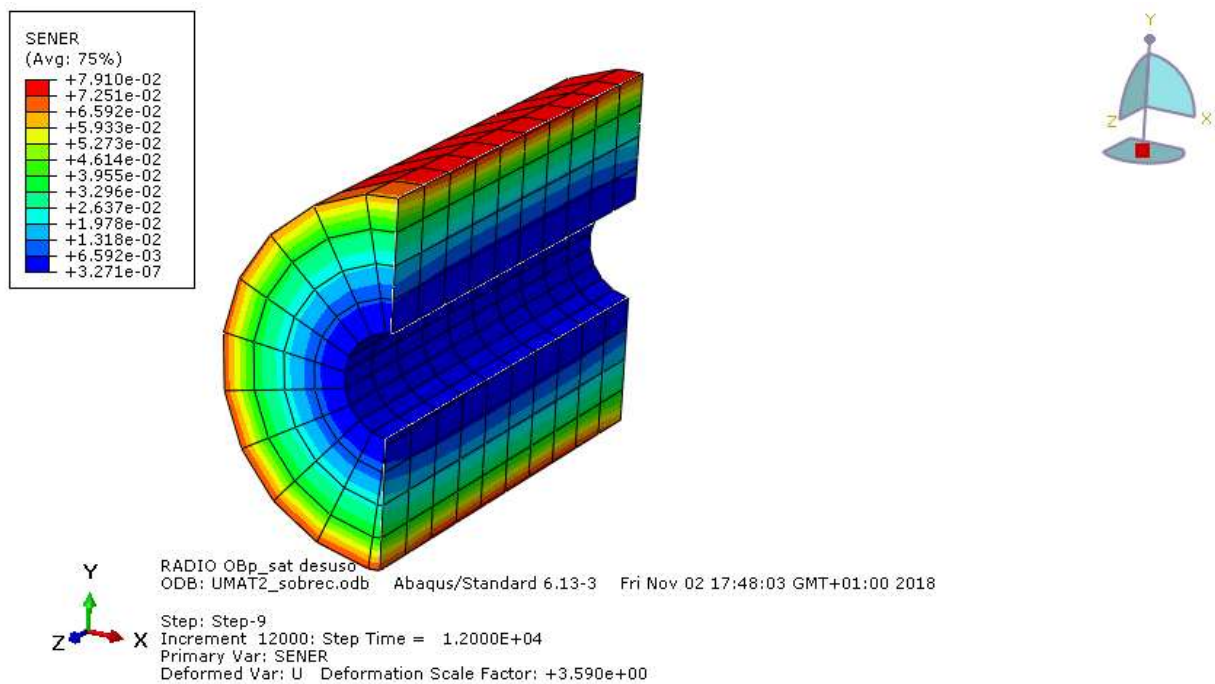


Figura 4.11. Densidad de energía de deformación [MPa] en el caso de sobrecarga a los 3000 días.

En un hueso real, cuando la presencia de un estímulo mecánico alto se prolonga en el tiempo, el tejido “recalcula”

su estímulo de equilibrio. Podríamos decir que el hueso se va adaptando de manera que, si su estado normal pasa a ser el de estar sometido a un alto estímulo mecánico, entonces dejará de considerar que ese estímulo es alto para considerar que es el “nuevo” estímulo de equilibrio. Según esto, si mantenemos el estado de sobrecarga durante un tiempo suficientemente largo, llegará un punto en que la densidad del hueso dejará de aumentar, porque el estímulo de referencia habrá cambiado y el hueso estará ahora en equilibrio.

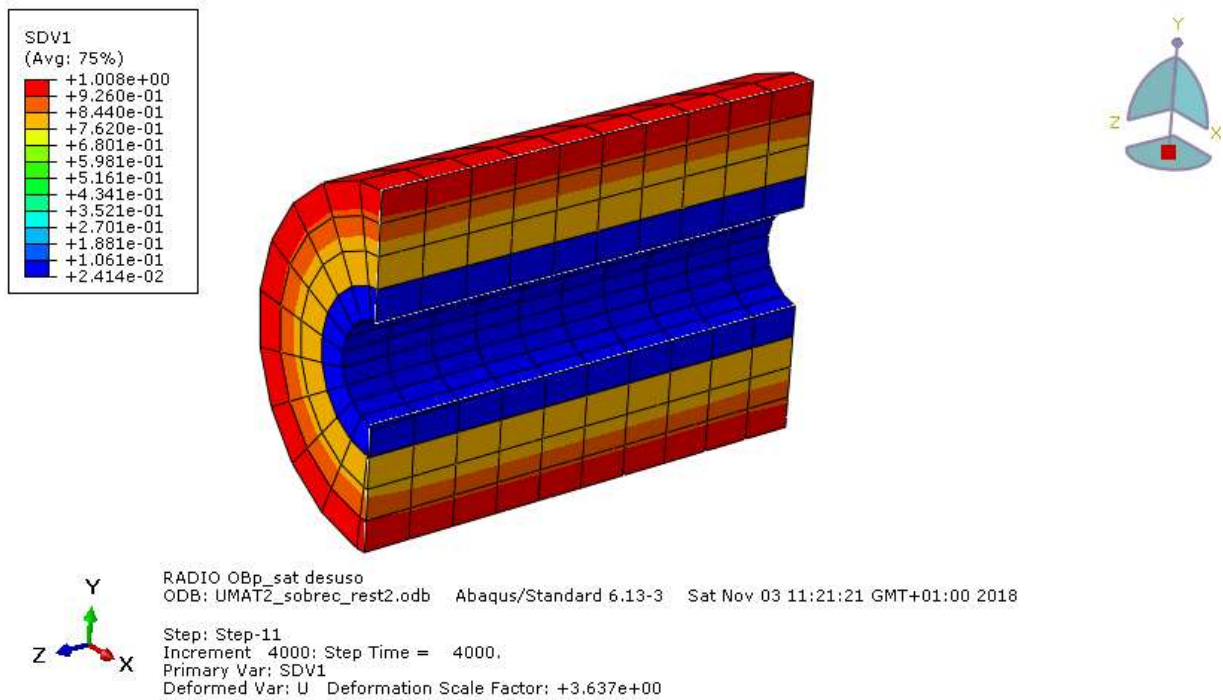


Figura 4.12. Distribución de densidades en la zona de la malla con material tipo *hueso* para el caso de sobrecarga a los 5600 días (15 años) después de alcanzarse el equilibrio.

En la **Figura 4.12** se ha simulado el estado de la densidad de la malla tras un tiempo relativamente largo en la vida de una persona (15 años) sometida a unas cargas constantes que inicialmente son superiores a las del estado de equilibrio. Deberíamos ver que la densidad de los elementos deja de aumentar a medida que cambia el estímulo de referencia. Sin embargo, nuestro modelo considera un único estímulo de equilibrio, que no se va adaptando según las solicitaciones mecánicas que sufre el individuo. Por lo que, para nosotros, el hueso siempre estará sometido a un estímulo por encima del normal y su densidad siempre seguirá aumentando hasta que la rigidez de los elementos sea tal que la densidad de energía de deformación esté próxima a la de referencia (situación que no se puede alcanzar en nuestro caso porque el sistema se vuelve inestable).

4.2.2 Caso de desuso

En este subapartado vamos a considerar un caso de desuso sobre el estado de equilibrio que se alcanzó en el apartado 4.2. Para ello, vamos a disminuir el valor del torsor aplicado en un 50% y vamos a observar cómo varía la distribución de densidades en la malla a lo largo del tiempo a partir del equilibrio.

En la **Figura 4.13** podemos ver que la la densidad de los elementos que están por dentro de la corteza ha disminuido notablemente. En el equilibrio, estos elementos presentaban una densidad en torno al 75% y ahora muestran valores de entre 20% y 60%. Los elementos de la corteza, cuya densidad en el equilibrio alcanzaba un valor máximo del 97%, han disminuido también su densidad, presentando ahora valores por debajo del 96%.

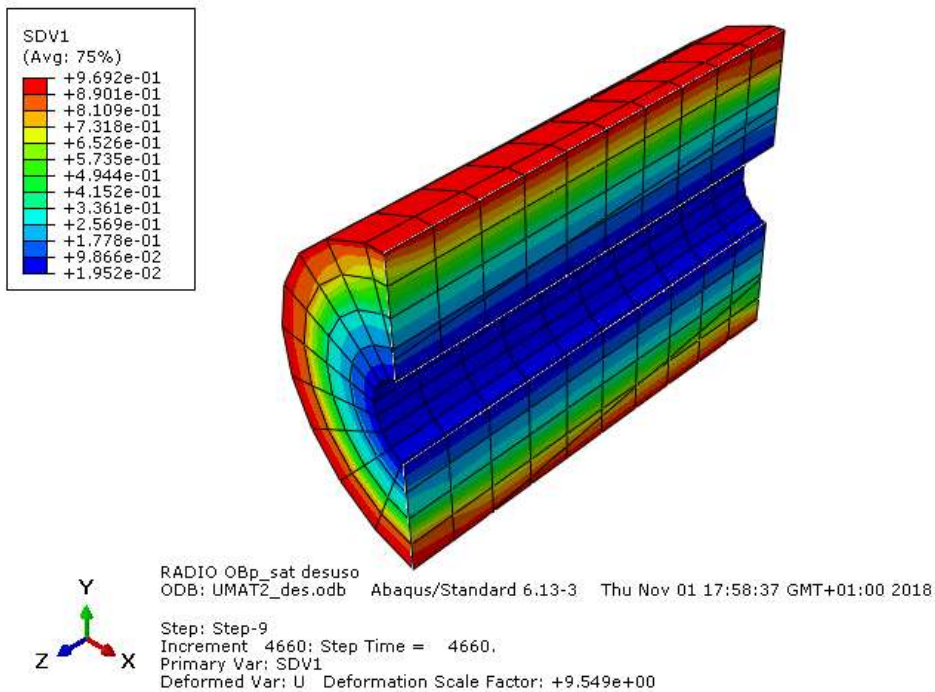


Figura 4.13. Densidad de los elementos de la malla tipo *hueso* para el caso de desuso a los 1165 días (3 años) a partir del estado de equilibrio.

Como era de esperar, al someter al hueso a un estímulo mecánico menor que el de referencia, el término que controla la velocidad de producción externa de RANKL debida al desuso se ve incrementado, provocando un aumento en la concentración de esta molécula como podemos ver en la **Figura 4.14**. En esta figura vemos que la concentración de RANKL aumenta notablemente al inicio de la simulación, durante los primeros 5 días, y que luego cae para mantenerse prácticamente constante en un valor superior al que tenía antes de producirse el desuso. Esto se debe a que inicialmente el término de producción externa de RANKL aumenta debido al desuso, pero a medida que la densidad del elemento va disminuyendo, el estímulo al que está sometido se va acercando más al de equilibrio, y el desuso que sufre el elemento es cada vez menor. A esto se le suma el hecho de que la población de OB irá disminuyendo (pues lo que se requiere es reabsorción de hueso), y la concentración de RANKL es proporcional a dicha población. Por lo que se justifica que tras un gran incremento de RANKL inicial, siga una disminución en la concentración de esta molécula.

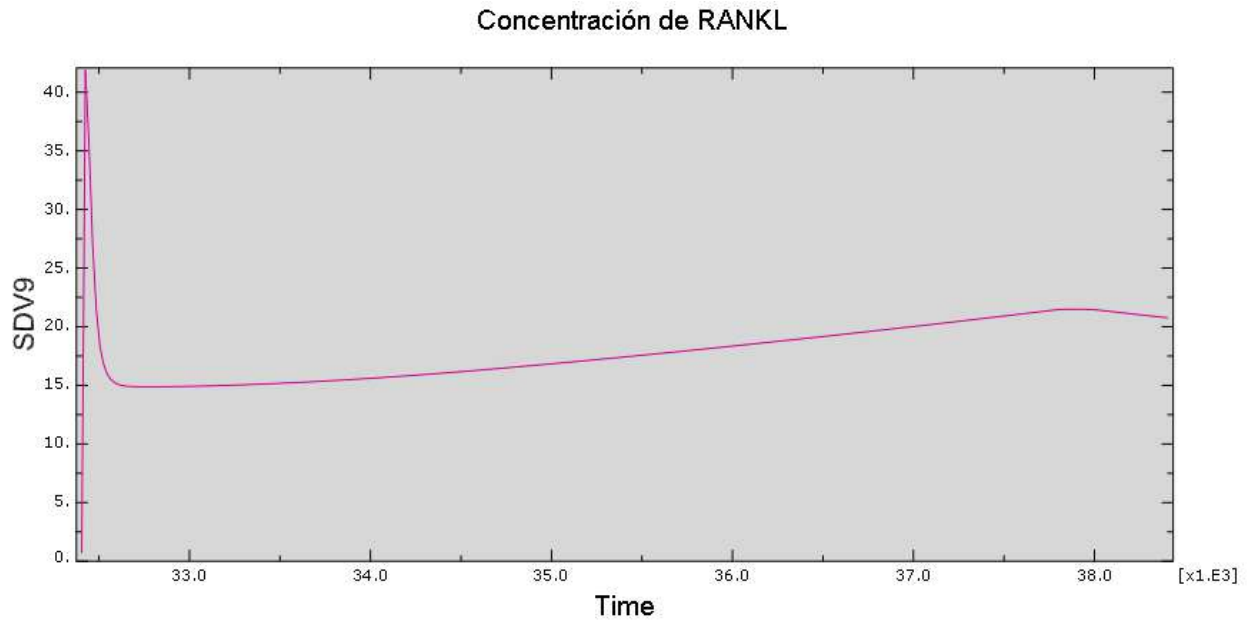


Figura 4.14. Evolución de la concentración de RANKL de un elemento central de la malla (el 2227) para el caso de desuso durante 1500 días (4 años).

Al aumentar el RANKL, se favorece la osteoclastogénesis, es decir, aumenta la población de células que reabsorben hueso. En la **Figura 4.15** vemos cómo la población de OC_a sufre un incremento significativo en los primeros días de la simulación, de acuerdo con la evolución que sigue la concentración de RANKL, para luego descender ligeramente y mantenerse prácticamente constante en un valor superior al que tenía antes de aparecer el desuso. En esta figura podemos ver también la evolución de la población de OB_a . Cuando aparece la situación de desuso en el hueso, la velocidad del fluido que circula por el sistema lacuno-canalicular que conecta a los osteocitos entre sí disminuye. Esto provoca una disminución de la señal inhibitoria dando lugar a la activación de nuevas BMUs. De manera que, inicialmente, tanto la población de OC como la de OB se ve incrementada. Es por eso que, en la **Figura 4.15** se aprecia un aumento en la población de OB_a que a priori podría parecer contradictorio en un caso de desuso.

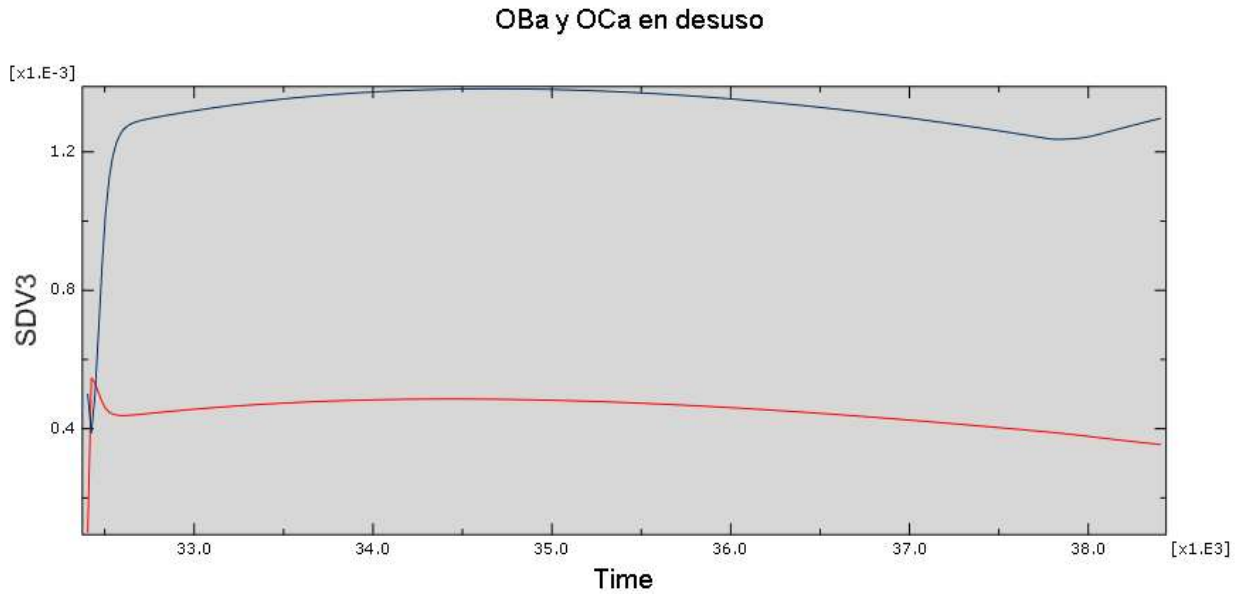


Figura 4.15. Evolución de la población de OB_a (línea azul) y OC_a (línea roja) en un elemento de la zona central de la malla (el 2227) para el caso de desuso durante 1500 días (4 años).

Tras superarse un cierto número de días en la simulación, se ve que ambas poblaciones permanecen prácticamente constantes, siendo el valor de $k_{res} OC_a$ siempre superior al de $k_{form} OB_a$. Es decir, manteniendo una situación de reabsorción neta de hueso. Esta situación se prolongará hasta que los elementos de la malla hayan disminuido su densidad, y por tanto, su rigidez, de tal manera que el estímulo mecánico que inicialmente provocaba desuso sea ahora próximo al de equilibrio.

Si nos fijamos en el contenido de mineral (ver Figura 4.16) de una sección central de la malla tras 1500 días sometido a una situación de desuso, podemos ver que la fracción de ceniza de los elementos interiores ha disminuido notablemente respecto a la que presentaban en la situación de equilibrio. Esto se debe a que la actividad remodelatoria ha sido mayor en este caso, con predominancia de reabsorción neta de hueso. El tejido óseo de esta parte de la malla no ha tenido tiempo de mineralizarse tanto, a causa de la continua reabsorción presente en estos elementos. Es por eso que, al ser la zona que más ha disminuido su densidad ósea, como veíamos en la Figura 4.13, es la que menos ha podido mineralizarse y la que presenta menor fracción de ceniza.

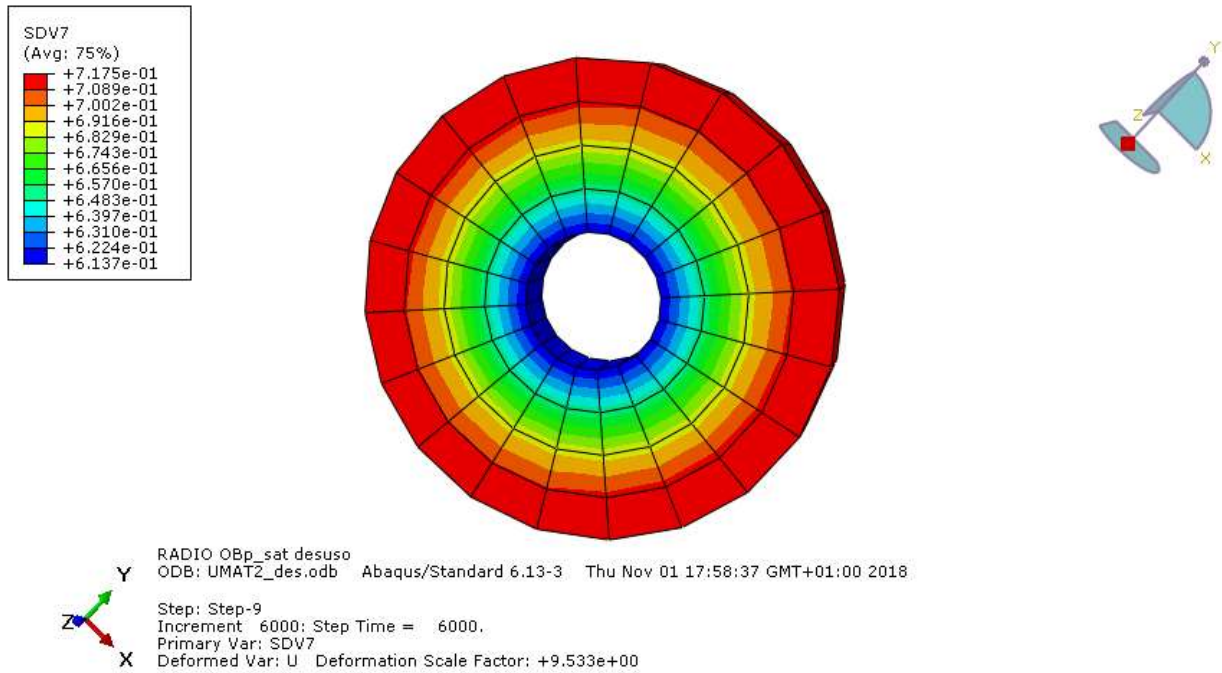


Figura 4.16. Fracción de ceniza en la sección central de la malla para el caso de desuso tras 1500 días (4 años) de simulación.

Por último, si nos fijamos en la densidad de energía de deformación que presenta la malla en este caso de desuso al cabo de 3000 días (ver **Figura 4.17**), vemos que sus valores están en un rango entre $2.39e-03$ MPa y $2.87e-02$ MPa. Es decir, por debajo del rango que se obtenía en el caso de equilibrio sin desuso (ver **Figura 4.3**), como era de esperar al someter al sistema a un estímulo mecánico menor que el de equilibrio.

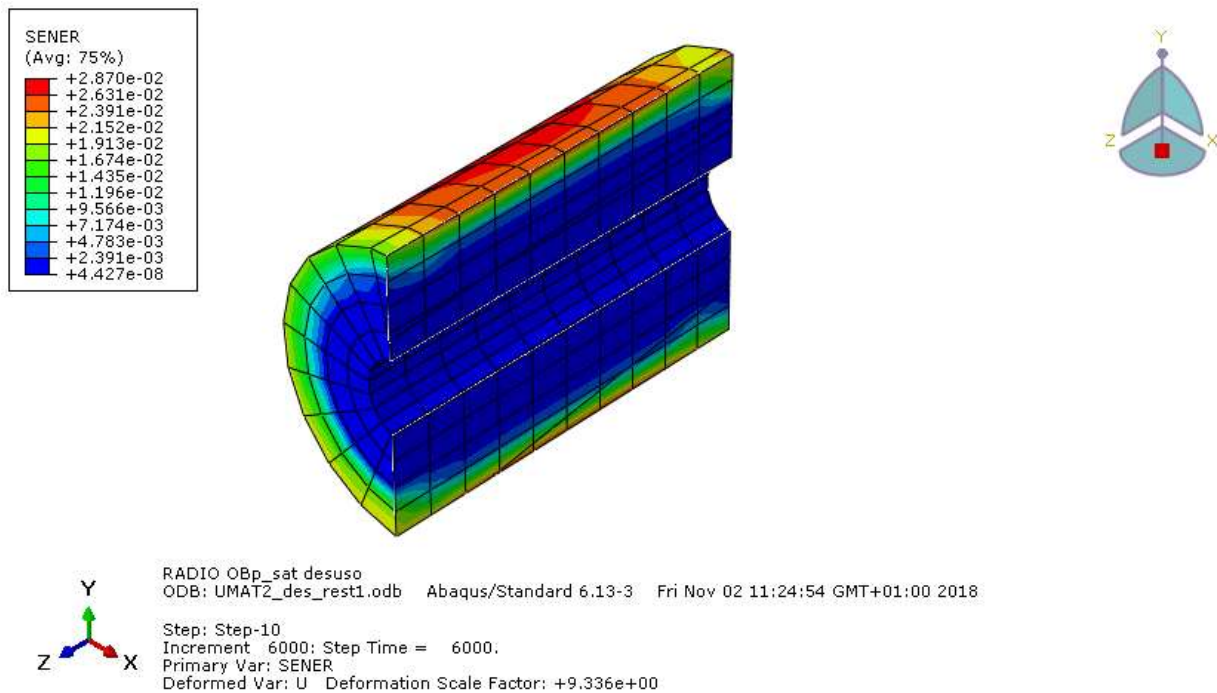


Figura 4.17. Densidad de energía de deformación [MPa] en un caso de desuso a los 3000 días.

4.3 Modelo con daño

Veamos ahora cuál es la respuesta del modelo si tenemos en cuenta la acción del daño microestructural. Como bien describimos en el apartado 3.2.3, el tejido óseo puede interpretarse como cualquier otro material en términos mecánicos. En concreto, su resistencia a fatiga vendrá determinada por la cantidad de microgrietas que vayan apareciendo en el hueso tras verse sometido a los ciclos de carga que experimenta el esqueleto día a día.

Cada vez que se deposita nuevo material óseo en una BMU, éste se va mineralizando poco a poco, dando lugar a un tejido óseo más resistente, pero más frágil. Esto aumenta las probabilidades de que aparezcan grietas en el hueso comprometiendo sus propiedades mecánicas. Sin embargo, la naturaleza de este tejido está preparada para ello y activará nuevos procesos remodelatorios en las zonas más dañadas. El material óseo con mayor cantidad de microgrietas será reabsorbido y sustituido por osteoide nuevo, dando lugar a un hueso más sano.

Este proceso de renovación de tejido óseo se incluye en nuestro modelo a través de una ley de fatiga y de un término que aumenta la producción externa de RANKL en función del daño presente en la matriz ósea.

Simulando nuestro modelo durante 3000 días a partir del estado de equilibrio del mismo, podemos ver la distribución de densidades que se aprecia en la **Figura 4.18**. En ella llama la atención la presencia de una serie “anillos” de densidad baja que aparecen entre zonas de densidad alta. Estos anillos van creciendo a lo largo de la simulación, dando lugar de nuevo a una distribución de densidades que aumenta progresivamente desde el interior hacia el exterior de la malla. Conforme avanza la simulación, los anillos van apareciendo y desapareciendo de manera aproximadamente cíclica.

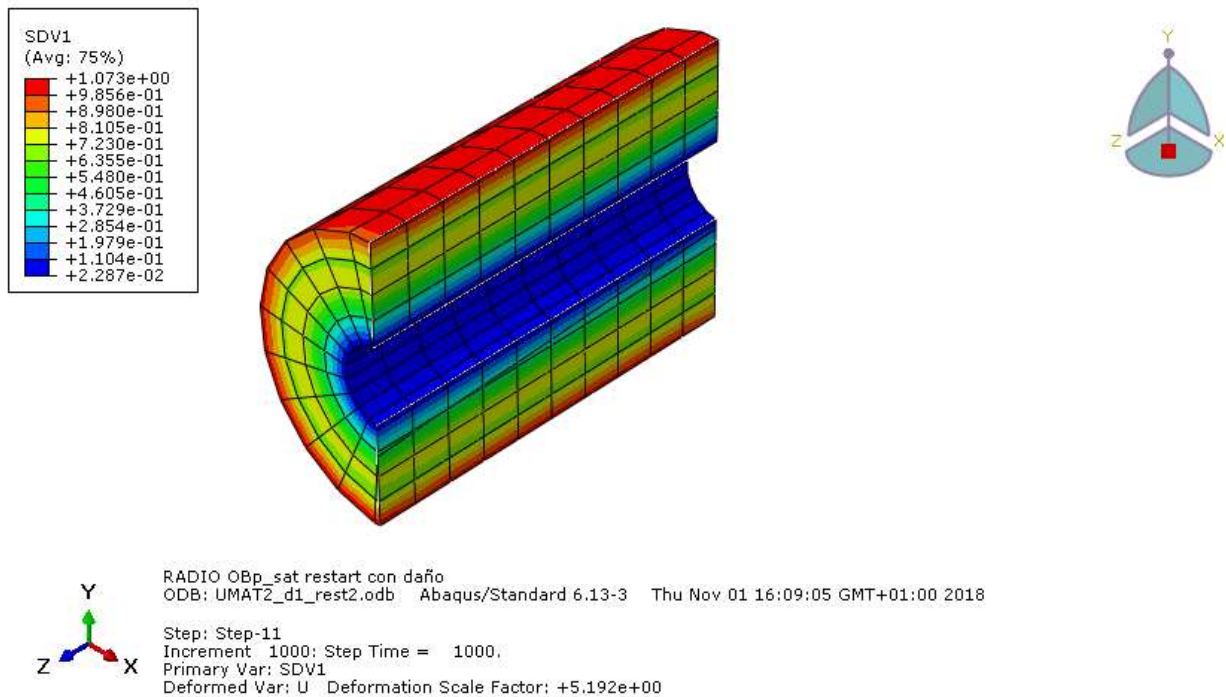


Figura 4.18. Distribución de densidades en términos de fracción volumétrica de matriz ósea incluyendo el efecto del daño al cabo de 3000 días (8 años) desde la situación de equilibrio.

La razón de este comportamiento reside en que, al aumentar el daño en un punto de la malla, el sistema tiende a remodelar esa zona del hueso para repararlo, dando lugar a esas regiones de baja densidad con forma de anillo. Al ir avanzando en el tiempo e irse formando hueso nuevo, esas regiones van aumentando su densidad, que será cada vez mayor conforme aumenta el contenido de mineral en esas zonas. A lo largo de la simulación, esta situación puede darse varias veces y es por eso que vemos la aparición y desaparición de anillos con diferente densidad en la malla.

Observando el contenido de mineral presente en la malla al cabo de 3000 días (ver **Figura 4.19**), distinguimos también la presencia de un anillo con menor cantidad de mineral dentro de una zona con alta fracción de ceniza. Esto cuadra con el razonamiento realizado anteriormente, pues esa zona con bajo contenido de mineral acaba de ser reparada tras la aparición de daño. Prolongando la simulación podemos ver que ese anillo “desmineralizado” se va ensanchando dando lugar a una distribución gradual de la fracción de ceniza.

Extendiendo la simulación hasta un punto en que la densidad de los elementos y la densidad de energía de deformación de la malla se mantiene prácticamente constante, podemos ver que el daño es mayor en los elementos del exterior de la malla (ver **Figura 4.20**). Esto se explica teniendo en cuenta que la zona exterior de la malla es la que se ve sometida a un mayor estímulo mecánico, pues las cargas aplicadas son fundamentalmente de torsión. De manera que esa zona del hueso será la que se vea sometida a mayor fatiga, con la consecuente aparición de un mayor número de grietas que harán que esa región presente los valores de daño más elevados.

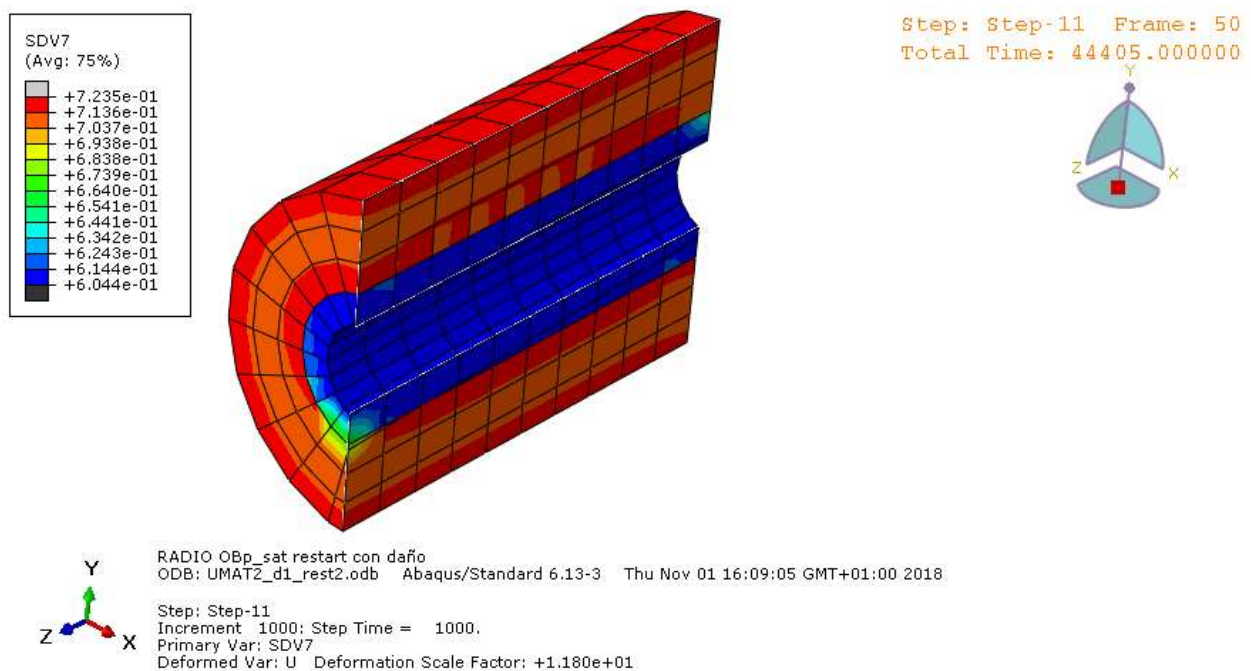


Figura 4.19. Distribución del contenido de mineral en términos de fracción de ceniza considerando el efecto del daño tras 3000 (8 años) a partir de la situación de equilibrio.

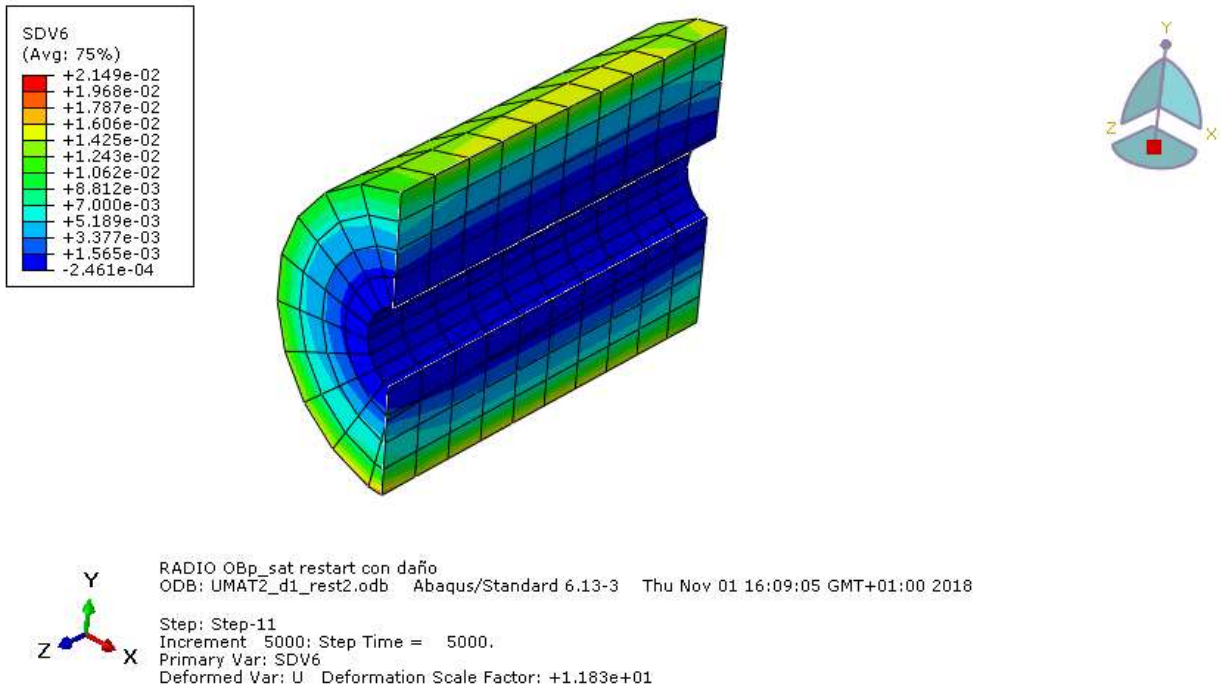


Figura 4.20. Distribución del daño en la malla tras 4000 días (11 años) a partir de la situación de equilibrio.

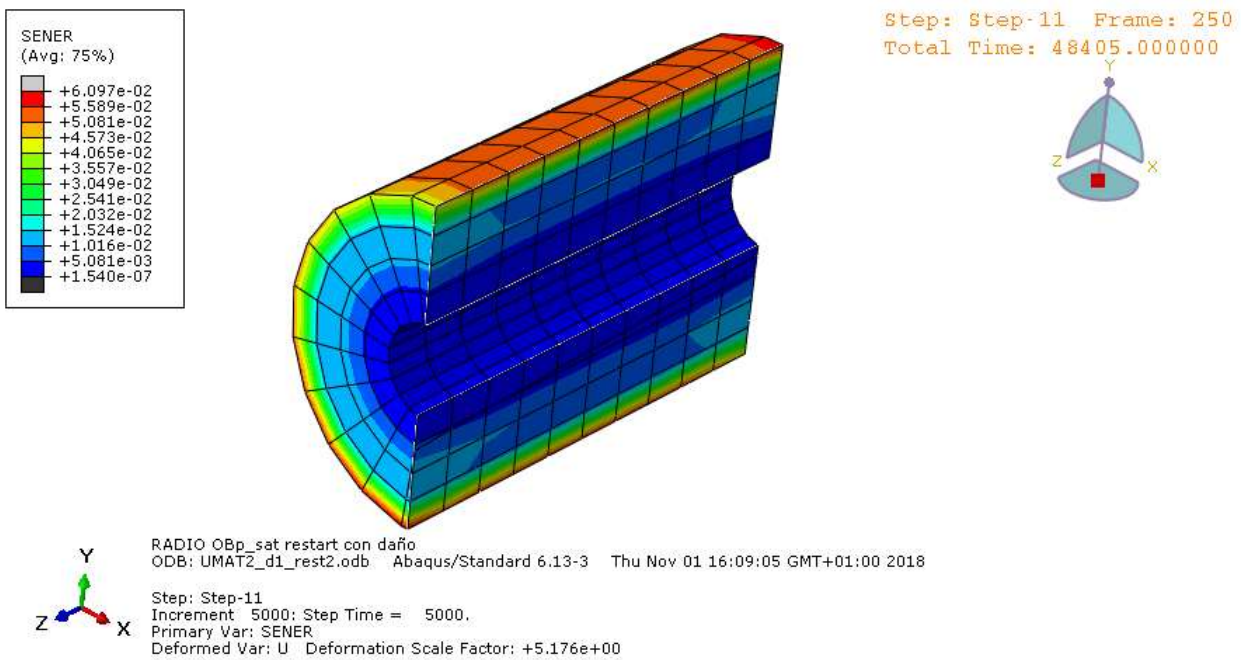


Figura 4.21. Distribución de la densidad de energía de deformación [MPa] en la malla tras 4000 días (11 años) en un caso con daño.

En la **Figura 4.21** podemos ver la densidad de energía de deformación en los distintos elementos de la malla al cabo de 4000 días. En una situación de equilibrio, todos los elementos deberían tener la misma SED, sin embargo, vemos que esto no es así. Los valores de SED oscilan entre $5.0e-03$ MPa y $6.0e-02$ MPa en las distintas zonas de la malla, teniendo mayor SED los elementos del exterior de la misma, pues son los sometidos a un estímulo mecánico más alto. Analizando más en detalle estos valores, podemos comprobar que se aproximan bastante a los valores de SED que se esperan en la zona muerta de la curva de remodelación que calculamos en

el apartado 3.2.2, ya que estos valores estaban entre 6.4×10^{-3} MPa y 2.25×10^{-2} MPa. Esto nos indica que, probablemente, si aumentamos el tiempo de simulación, el rango de valores de SED se irá estrechando para encontrarse completamente dentro de la zona muerta.

Sin embargo, al prolongar la simulación nos encontramos con un comportamiento inestable en la densidad de los elementos. En la **Figura 4.22** vemos cómo la fracción volumétrica de matriz ósea de todos los elementos de la sección central de la malla venía presentando una tendencia constante hasta cierto punto en que los valores de varios puntos de integración caen drásticamente. Debido a la aparición de esta inestabilidad, debe detenerse la simulación antes de alcanzar el equilibrio real de remodelación, y los valores de la densidad de energía de deformación se mantendrán ligeramente por fuera de aquellos que se esperan en la zona muerta de la curva de remodelación.

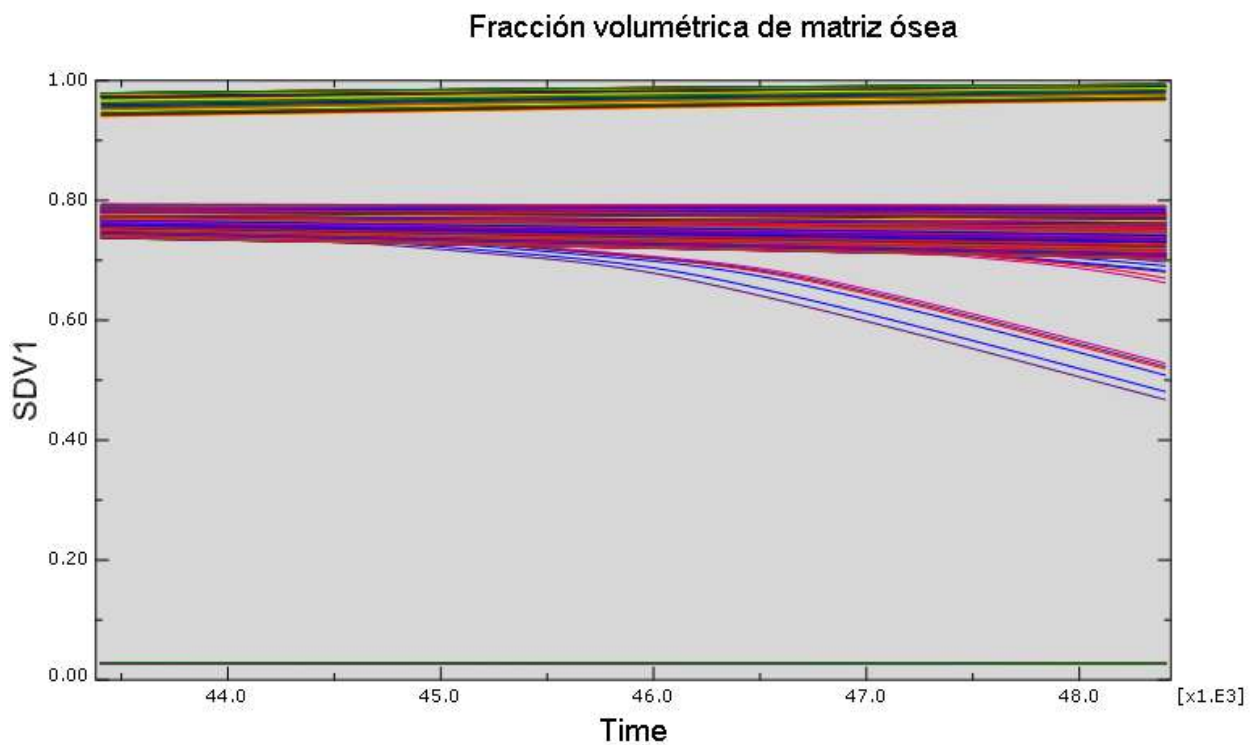


Figura 4.22. Evolución de la fracción volumétrica de matriz ósea en los últimos 1250 días de una simulación de 4000 días considerando el efecto del daño, medida en todos los puntos de integración de la sección central de la malla.

4.3.1 Caso de sobrecarga con daño

Tras analizar la respuesta del modelo considerando el efecto del año, vamos a contemplar ahora un caso de sobrecarga en el sistema. Someteremos el modelo con daño a un torsor un 50% mayor que en el caso inicial para ver cómo evolucionan las variables ante un aumento en el estímulo mecánico.

En la **Figura 4.23** podemos observar la distribución de densidades en la malla al cabo de 3000 días, partiendo de la situación de equilibrio que se estableció en el apartado 4.2 e incluyendo el efecto del daño. Vemos que la

densidad de los elementos situados en el exterior de la malla ha aumentado respecto al caso de daño sin sobrecarga. Cuando el sistema se ve sometido a un estímulo mecánico mayor que el de equilibrio, la respuesta remodelatoria se traduce en un incremento de la osteoblastogénesis, es decir, un aumento en el número de células que forman hueso. Esta reacción da lugar a una situación de formación neta de hueso que provoca un aumento en la densidad de los elementos que soportan mayores cargas, en este caso, los situados en el exterior de la malla. Si comparamos la distribución de densidades de la **Figura 4.23** con la de la **Figura 4.9**, que corresponde a un caso de sobrecarga sin daño para el mismo tiempo de simulación, vemos que en la primera de ellas el valor de densidades alcanzado es menor. O sea, que en el modelo con daño sometido a sobrecarga la fracción volumétrica de hueso es menor que en el caso sin daño. Esto se debe a que, al considerar el daño, se introduce un término de producción de RANKL que provoca un aumento de la reabsorción en las zonas del hueso más dañadas. Estas zonas serán, por lo general, las que presenten mayor cantidad de mineral y, por tanto, las que tengan una densidad mayor. Al estar reabsorbiendo las zonas del hueso con mayor densidad es de esperar que la distribución de densidades en el caso con daño presente valores menores que en el caso sin daño.

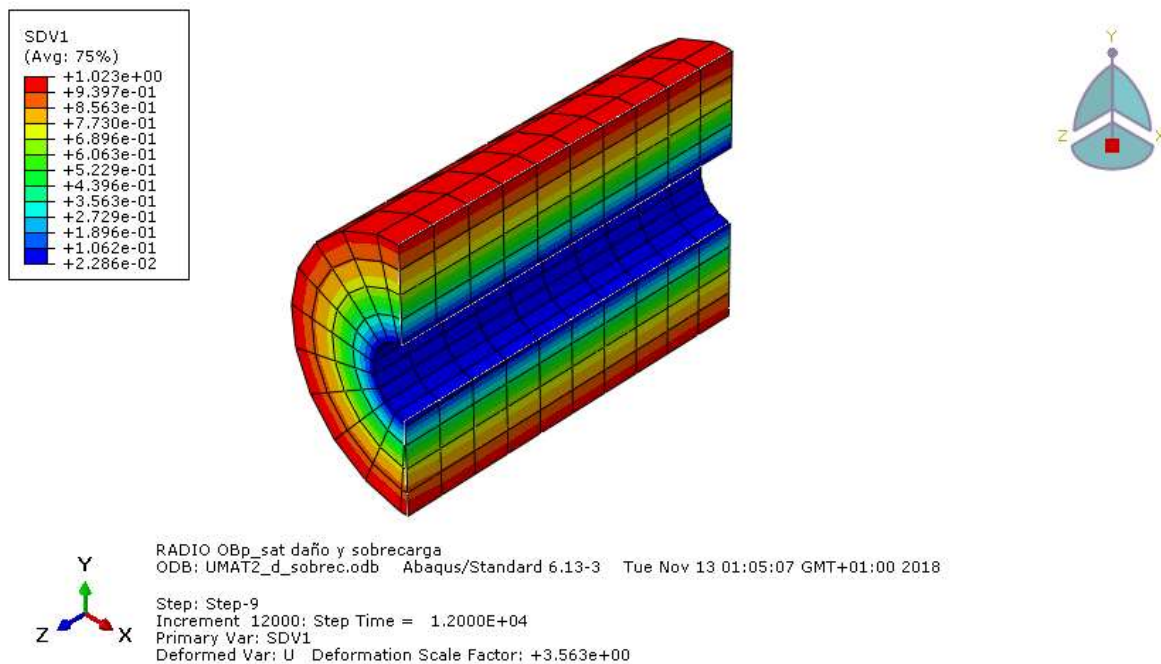


Figura 4.23. Distribución de densidades en términos de la fracción volumétrica de hueso al cabo de 3000 días para un caso de sobrecarga considerando el efecto del daño.

Si observamos la densidad de energía de deformación en la malla, ver **Figura 4.24**, en el caso de sobrecarga con daño, vemos que sus valores oscilan entre $7.425e-03$ MPa y $8.91e-02$ MPa. Este rango de valores está por encima del que se obtenía en el caso sin sobrecarga con daño (ver **Figura 4.21**), lo cual era de esperar al tener ahora el sistema sometido a un estímulo mecánico más alto.

Comparando los valores de SED con los obtenidos en el caso de sobrecarga **sin daño** (ver **Figura 4.11**), vemos que en el caso con daño la SED es mayor. Esto se debe a que la densidad que alcanzan los elementos es menor,

pues la presencia de daño hace que la reabsorción de hueso sea mayor, por lo que su sensibilidad frente a un estímulo mecánico alto es mayor que cuando no se incluye el efecto del daño, dando lugar a valores de SED mayores.

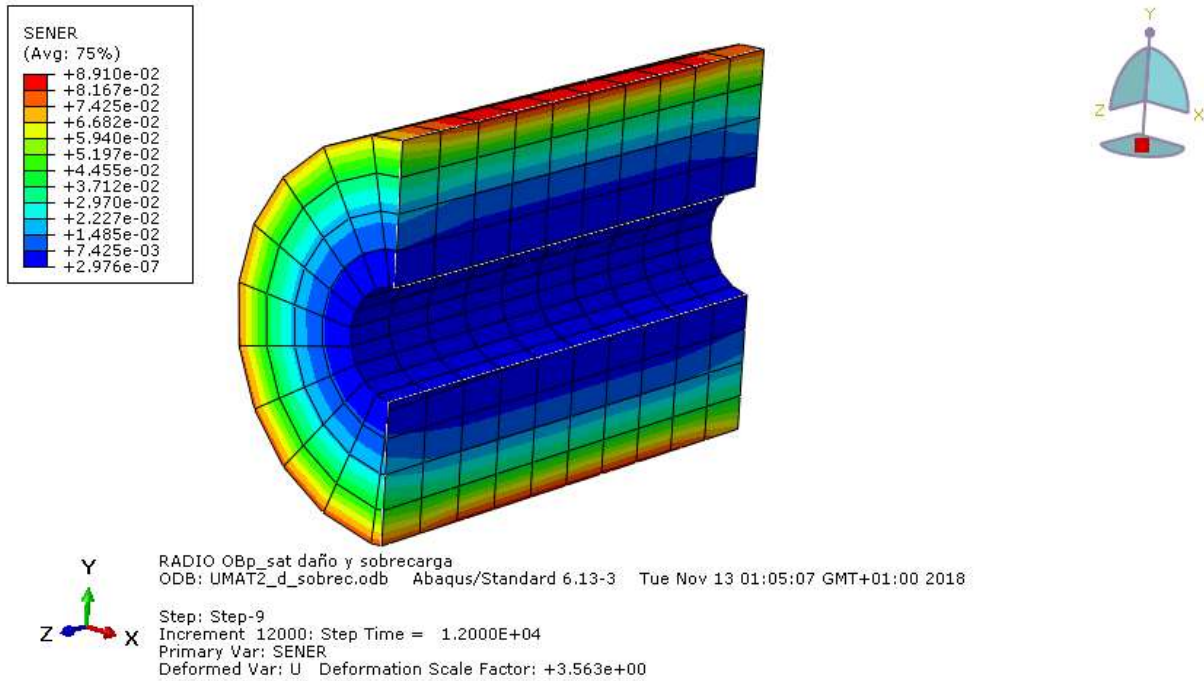


Figura 4.24. Densidad de energía de deformación en MPa en un caso de sobrecarga con daño a los 3000 días.

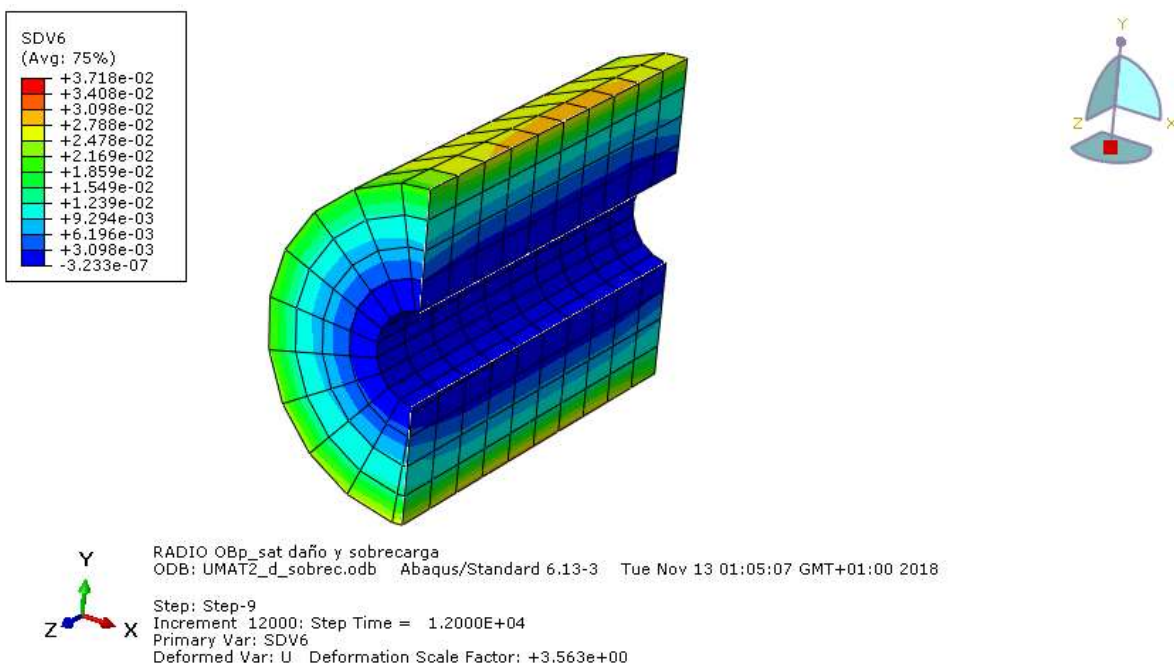


Figura 4.25. Distribución del daño en el caso de sobrecarga con daño al cabo de 3000 días.

Por último, resulta interesante comparar los valores que alcanza la variable *daño* en el caso de sobrecarga (**Figura 4.25**) con los del caso sin sobrecarga (**Figura 4.20**). Podemos comprobar que para el caso con sobrecarga los valores oscilan entre $3.09e-03$ y $2.78e-02$, mientras que sin sobrecarga se encontraban entre $1.56e-03$ y $1.60e-02$, es

decir, que al aumentar el estímulo mecánico el daño aumenta. Esto se debe a que la fuerza aplicada sobre el sistema aumenta y la fatiga que soportará el material será mayor, con lo cual habrá una mayor probabilidad de que aparezcan microgrietas en la estructura ósea.

4.3.2 Caso de desuso con daño

En este apartado vamos a considerar un caso de desuso sobre nuestro sistema sometiéndolo a un torsor un 50% menor que el que se aplicaba en la situación de equilibrio. Seguiremos incluyendo el efecto del daño para ver cómo varían los parámetros en comparación al caso con daño (sin desuso) y al caso sin daño con desuso.

En la **Figura 4.26** observamos la distribución de densidades en la malla al cabo de 1230 días bajo el efecto de un estímulo mecánico deficiente. Podemos ver que, en comparación con el caso sin desuso (**Figura 4.18**), la densidad de los elementos del interior de la malla ha disminuido considerablemente, como era de esperar al someter al sistema a unas cargas más bajas. La respuesta remodelatoria tiende a aumentar la osteoclastogénesis para provocar una disminución de la fracción volumétrica de matriz ósea en las zonas menos cargadas de la malla.

Si comparamos este resultado con el caso de desuso sin daño (**Figura 4.13**) vemos que la reabsorción ha sido mayor ahora. Como bien explicamos en apartados anteriores, al considerar el efecto del daño, la producción de RANKL se ve incrementada por dos parámetros (el de producción debida al desuso y el de producción debida al daño), por lo que la población de OB será mayor que cuando no se incluye el efecto del daño y de ahí que la distribución de densidades sea menor.

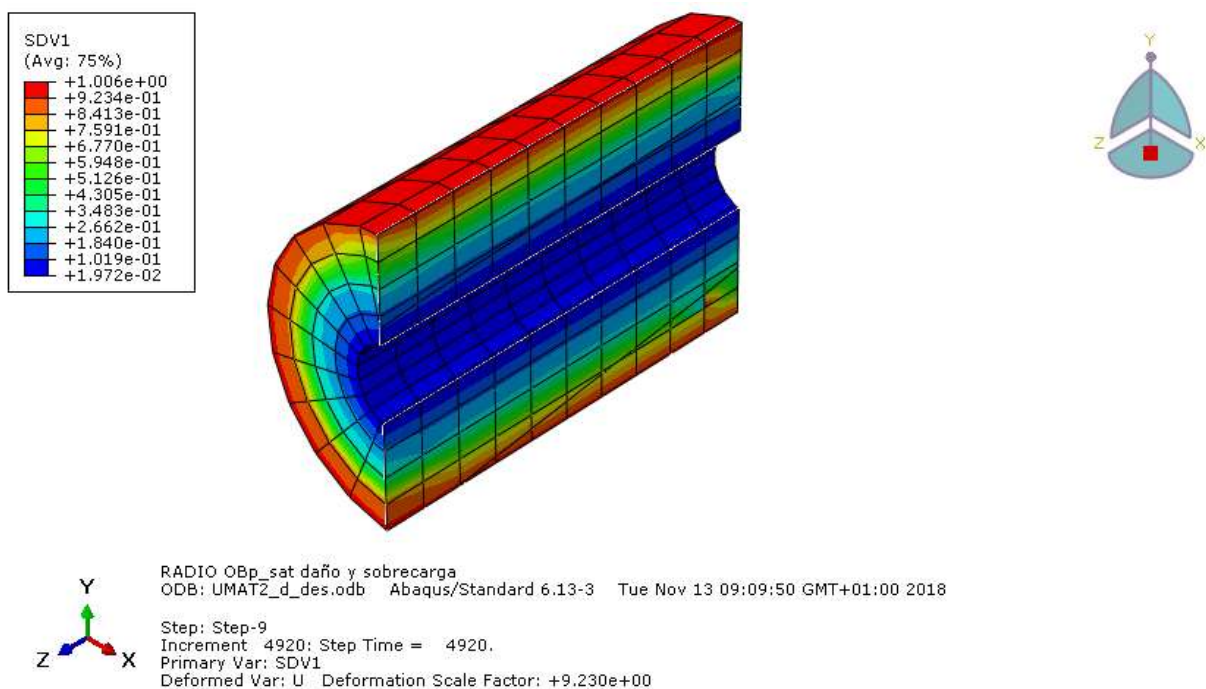


Figura 4.26. Distribución de densidades en un caso con daño sometido a desuso durante 1230 días

En la **Figura 4.27** podemos observar que los valores de densidad de energía de deformación en el caso de desuso

con el efecto del daño oscilan entre 2.65×10^{-3} MPa y 3.18×10^{-2} MPa. Estos valores se encuentran por debajo de los que se obtenían en el caso de daño sin desuso (Figura 4.21), puesto que el estímulo mecánico que estamos considerando ahora es menor y los elementos de la malla se deformarán menos.

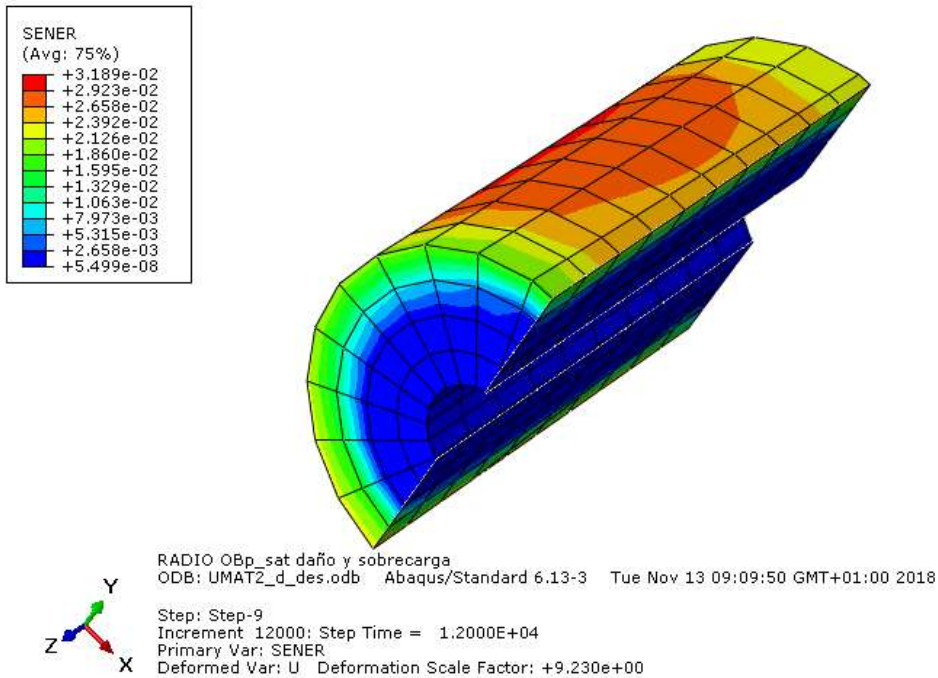


Figura 4.27. Densidad de energía de deformación [MPa] en un caso con daño sometido a desuso durante 3000 días.

Si comparamos la Figura 4.27 con la que se obtenía en el caso de desuso sin daño (Figura 4.17), vemos que en esta última los valores de SED eran menores. Esto se justifica de igual manera que hicimos en el apartado anterior, pues en el caso con daño, la reabsorción neta de hueso durante la remodelación es mayor, es decir, la densidad de los elementos de la malla se reduce más. Esto provoca que los elementos sean más sensibles al estímulo mecánico y por ello su densidad de energía de deformación es mayor.

Por último, vamos a comparar los valores que alcanza la variable *daño* a los 3000 días en el caso de desuso (Figura 4.28) con lo que alcanzaba en el caso sin desuso (Figura 4.20). Vemos que, al someter nuestro sistema a un estímulo menor, el daño alcanza valores entre 3.96×10^{-4} y 5.81×10^{-3} , que en comparación con los que alcanzaba al someterse a un estímulo próximo al de referencia (valores entre 1.56×10^{-3} y 1.60×10^{-2}) son de un orden de magnitud menor. La variable *daño* representa en cierto modo la cantidad de microgrietas que puede contener el material provocadas por la aplicación cíclica y prolongada de una carga, es decir, provocadas por fatiga. Un valor del *daño* pequeño indica que las cargas no han sido muy elevadas (o que el tiempo de exposición a las mismas no ha sido muy largo), con lo cual, era de esperar que en este caso de desuso que nos ocupa la variable *daño* tome valores significativamente menores a los que tenía en el caso nominal (sometido a una carga próxima a la de referencia).

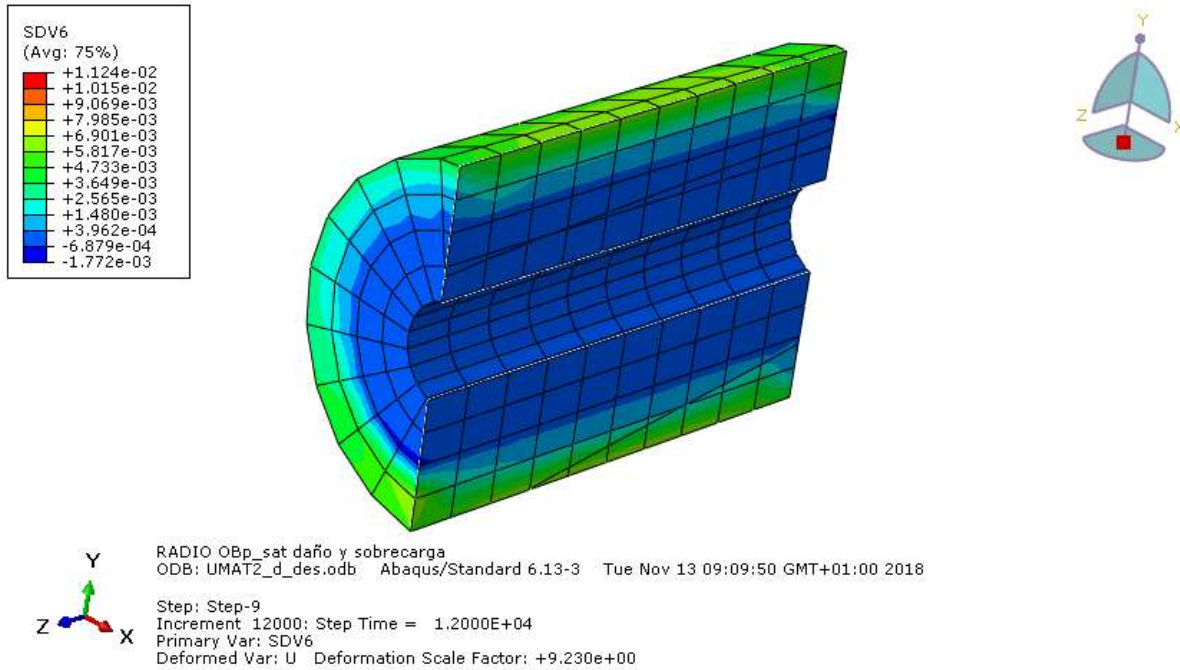


Figura 4.28. Distribución de la variable *daño* en un caso de desuso durante 3000 días.

4.4 Modelo con PMO

En este último apartado de resultados vamos a aplicar las ecuaciones que vimos en el apartado 3.3 para simular la evolución de un hueso sometido a osteoporosis postmenopáusica a partir del estado de equilibrio. El valor de los parámetros empleados se toma de [7], en donde se ha calibrado el modelo para que los resultados coincidan con la evolución de porosidad que se observa clínicamente durante la progresión de la PMO. Estos valores pueden consultarse en el Anexo A: *Parámetros empleados* del presente documento.

Considerando la producción de RANKL relacionada con la PMO y la disminución de la mecanosensibilidad del hueso cortical que ya definimos en el apartado 3.3, la evolución de las poblaciones de osteoclastos y osteoblastos en un elemento del exterior de la malla sometida a PMO puede observarse en la **Figura 4.29**. El aumento de la porosidad vascular a lo largo del tiempo concuerda con la evolución de la porosidad observada fisiológicamente en huesos con osteoporosis (ver **Figura 4.30**), en los cuales la porosidad aumenta notablemente durante la primera etapa de la enfermedad para seguir aumentando de manera más suave en la segunda etapa. Esa disminución en el aumento de la porosidad puede observarse en nuestro caso al cabo de 2 años de simulación, que es cuando cambia la pendiente de la curva en la **Figura 4.30**.

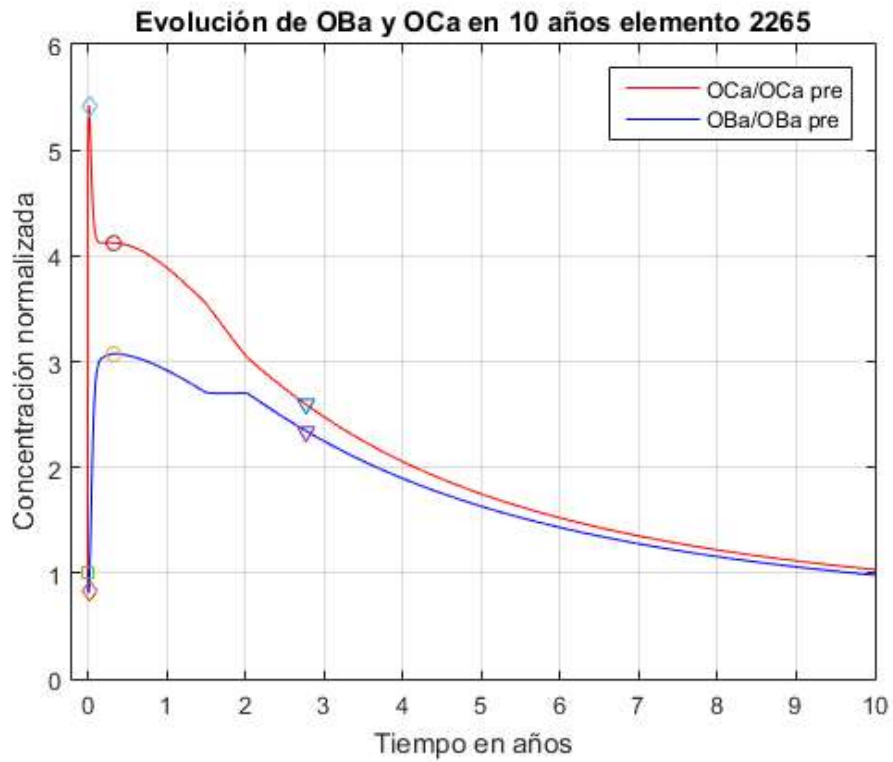


Figura 4.29. Evolución de la concentración de OCa y de OBa normalizada respecto a su concentración antes de iniciarse la PMO en un elemento situado en el exterior de la malla.

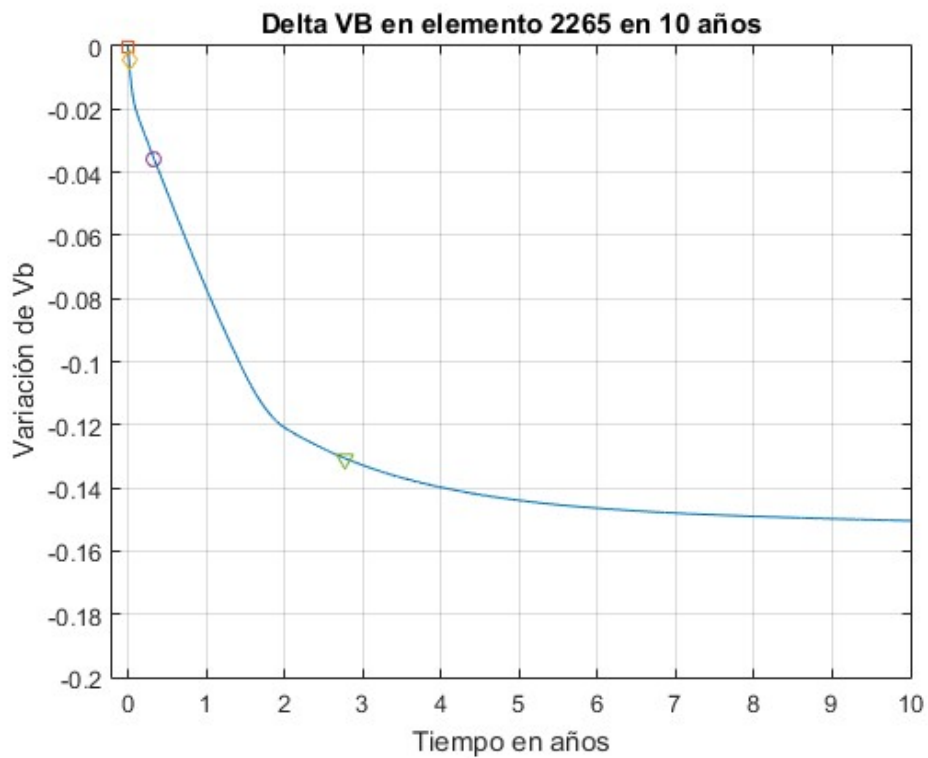


Figura 4.30. Variación de la fracción volumétrica de matriz ósea en tanto por uno respecto al estado inicial preosteoporótico durante 10 años en un elemento situado en el exterior de la malla.

Para entender mejor la cinética de remodelación ósea que provoca esta evolución de la porosidad, podemos

representar los resultados de la simulación comparando la cantidad de hueso reabsorbido a lo largo del tiempo ($k_{res}OC_a$) con la cantidad de hueso formado a lo largo del tiempo ($k_{form}OB_a$), ver **Figura 4.31**, este tipo de representación se conoce como “diagrama de fase”. Un caso de equilibrio de remodelación implica $k_{res}OC_a = k_{form}OB_a$, y todos los puntos que cumplan esta condición aparecerán en la línea discontinua que atraviesa la diagonal de la **Figura 4.31**. En un caso de remodelación ósea catabólica, es decir, en el que predomina la reabsorción, $k_{res}OC_a > k_{form}OB_a$, los puntos se encontrarán por debajo de la diagonal.

Por otro lado, cuando estemos en un régimen anabólico, caracterizado por la predominancia de formación ósea, $k_{res}OC_a < k_{form}OB_a$, los puntos se encontrarán por encima de la línea discontinua diagonal.

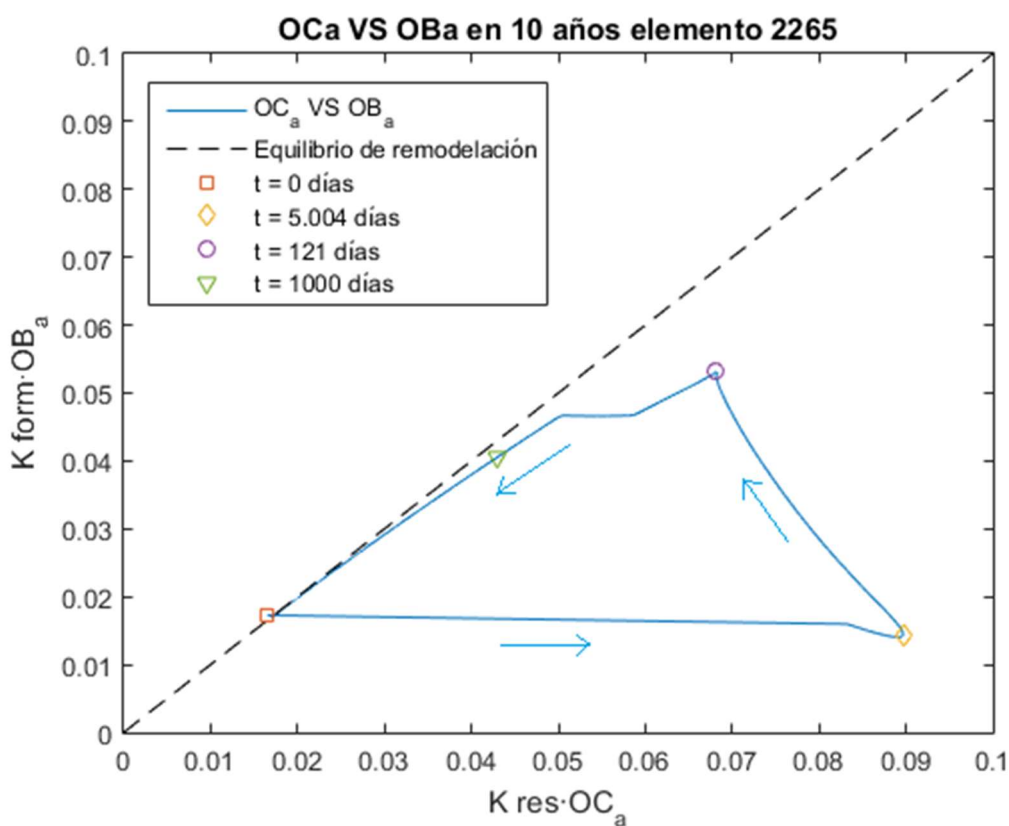


Figura 4.31. Diagrama de fase comparando la respuesta de reabsorción con la de formación ósea asociadas a la simulación del aumento de la porosidad en el hueso cortical con osteoporosis para un elemento situado en el exterior de la malla. Unidades en [% / día]. Las flechas indican la dirección seguida a lo largo del tiempo.

Al iniciarse la PMO, que para nosotros tendrá lugar en el instante $t_{PMO,ini} = 32405$ (lo que equivale a 8100 días) que es cuando se alcanza el equilibrio de remodelación en nuestro caso, se produce un aumento drástico de la reabsorción ósea, debido a un aumento significativo casi-instantáneo de la diferenciación de osteoclastos, provocando un incremento en la concentración de estas células, ver **Figura 4.29**. El ratio máximo de OC_a sobre OB_a (y por tanto, la velocidad máxima de pérdida de hueso) se alcanza a los 5 días, punto indicado con un rombo en las figuras **Figura 4.29**, **Figura 4.30**, y **Figura 4.31**. En la **Figura 4.31** podemos ver que el diagrama de fase presenta una recta horizontal entre 0 y 5 días, es decir, que la cantidad de hueso formado permanece constante mientras

que la la cantidad de hueso reabsorbido va aumentando, dando lugar a un estado de reabsorción neta severo.

Posteriormente, la diferenciación de osteoclastos disminuye debido a la disminución en la producción de RANKL asociada a la enfermedad, ya que el término de producción externa de RANKL originada por PMO está controlado por un factor de reducción, con un tiempo característico de 10 días. En este punto (representado por un marcador en forma de rombo), la dirección del diagrama de fase de la **Figura 4.31** cambia para pasar a dirigirse hacia la diagonal. Además, durante la reabsorción ósea se libera TGF- β (lo cual se considera en nuestro modelo al definir la concentración de esta molécula directamente proporcional a la cantidad de OC_a), provocando una regulación positiva en la diferenciación de osteoblastos, ya que la población de OB_p se ve incrementada con la presencia de TGF- β . Esto puede observarse en la **Figura 4.29**, donde se ve un retraso en el incremento de la concentración de osteoblastos tras en inicio de la PMO.

Los osteoblastos producen RANKL, por lo que un aumento en la concentración de osteoblastos también implica un incremento en la producción de RANKL, lo cual, a su vez, provoca un aumento en la diferenciación de osteoclastos. Este aumento da lugar a una deceleración en la disminución de OC_a provocada por el decremento en la producción de RANKL ligado a la PMO. Es decir, la población de OC_a disminuye porque P_{RANKL}^{PMO} disminuye, pero en este punto empieza a disminuir más lentamente porque se incrementa la concentración de OB_a , como podemos ver en la **Figura 4.29**. a partir del marcador con forma circular. Esta disminución nos explica el cambio de dirección que se observa en el diagrama de fase de la **Figura 4.31** a los 121 días. Este cambio de dirección va seguido de una disminución en la velocidad de remodelación, es decir, que tanto la formación como la reabsorción ósea disminuyen poco a poco. De esta forma, aunque aún dentro del régimen catabólico, la remodelación converge hacia un estado de equilibrio entre reabsorción y formación, indicado por la continua disminución de la pendiente en el diagrama de fase de la **Figura 4.31** a partir de los 121 días de simulación.

Cabe destacar que la homogeneización de la rigidez en base a los micromecanismos que intervienen en la remodelación ósea no solo nos sirve como parte fundamental para implementar la regulación mecánica de la remodelación ósea en nuestro modelo, si no que también nos permite hacer un seguimiento de la rigidez del hueso a lo largo del tiempo. Es nuestro caso, podemos observar cómo evoluciona la rigidez del sistema fijándonos en el módulo de Young de un elemento, ver **Figura 4.32**. Al cabo de 1000 días desde el inicio de la PMO, la porosidad vascular se ve incrementada en un 13% (ver **Figura 4.30** marcador triangular), mientras que el módulo de Young disminuye más del 23% (ver **Figura 4.32**). Por tanto, el efecto de la PMO en la integridad mecánica del hueso puede ser significativamente más severo que el subyacente cambio en la composición del hueso. Para poder simular este efecto, es esencial utilizar un modelo multiescala de la mecánica del hueso, como el empleado en este documento y en [7].

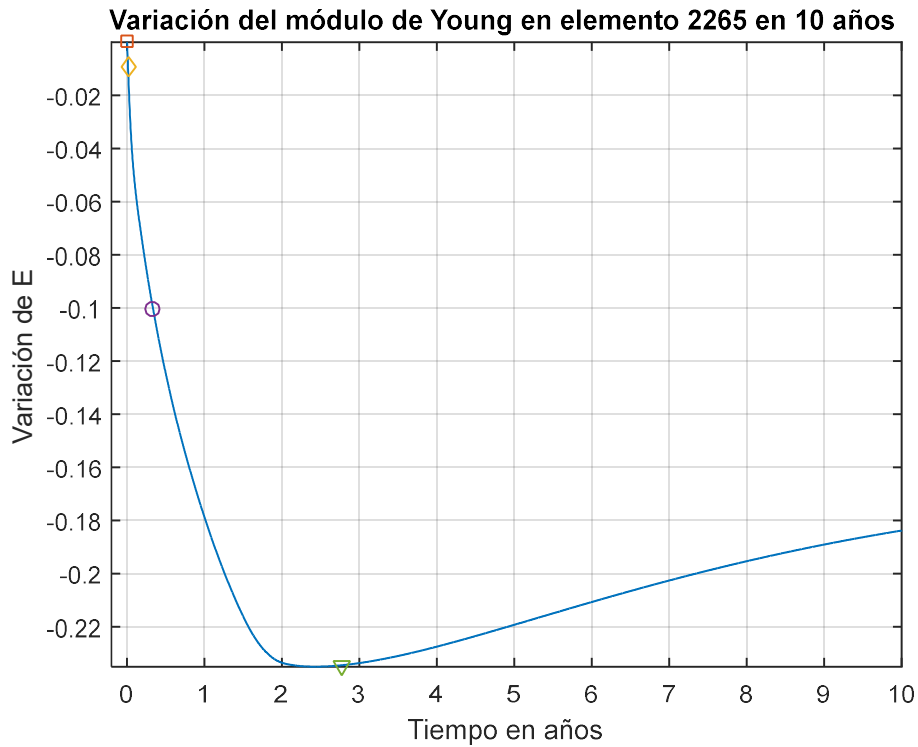


Figura 4.32. Varación del módulo de Young respecto a su valor antes de iniciarse la PMO en un elemento sufiado en el exterior de la malla durante 10 años.

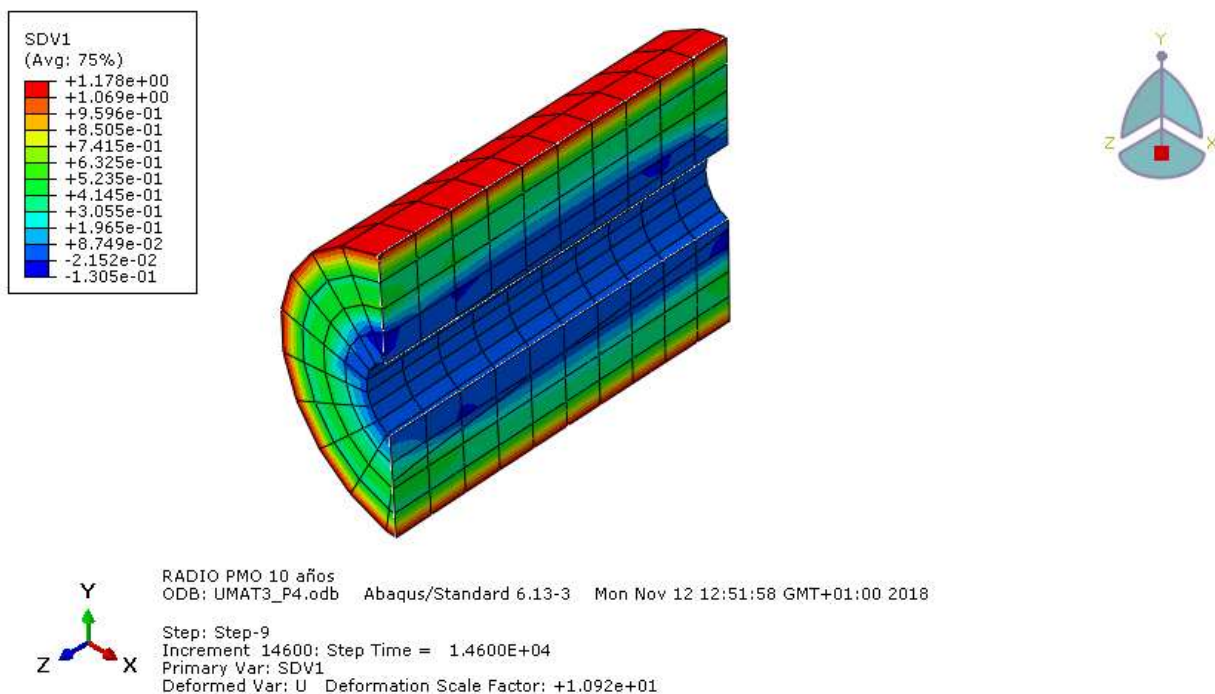


Figura 4.33. Distribución de densidades en la malla para el caso con PMO al cabo de 10 años desde el inicio de la enfermedad.

Si observamos la distribución de densidades en la zona de la malla con material tipo *hueso* modelado para el caso con PMO (ver **Figura 4.33**) podemos ver que el resultado es similar al del caso de desuso. La densidad de

los elementos interiores ha disminuido alcanzando valores en torno al 50%, lo que es una densidad demasiado baja para el hueso cortical, ya que se trata de un hueso enfermo.

Sin embargo, el resultado no coincide exactamente con el que se obtiene al simular el caso de desuso durante 10 años (ver **Figura 4.34**), el efecto de este caso es mucho más severo. La razón de esto reside en que la disminución de densidad que sufre el hueso sometido a un estado de desuso está provocada por un aumento en el término de producción externa de RANKL debida a la presencia de un estímulo bajo, por lo que, siempre que el estímulo siga siendo menor que el de referencia, esta producción de RANKL seguirá produciéndose, con el consecuente aumento de la osteoclastogénesis. Por otro lado, en el caso con PMO, el término de producción de RANKL ligado a esta enfermedad está limitado por un factor de reducción. De manera que la producción de RANKL es mayor durante los primeros días de la simulación, pero luego va decreciendo paulatinamente. Esto explica que los valores de densidad al cabo de 10 años en el caso con PMO sean mayores que los que se obtienen en el caso de desuso para el mismo tiempo de simulación.

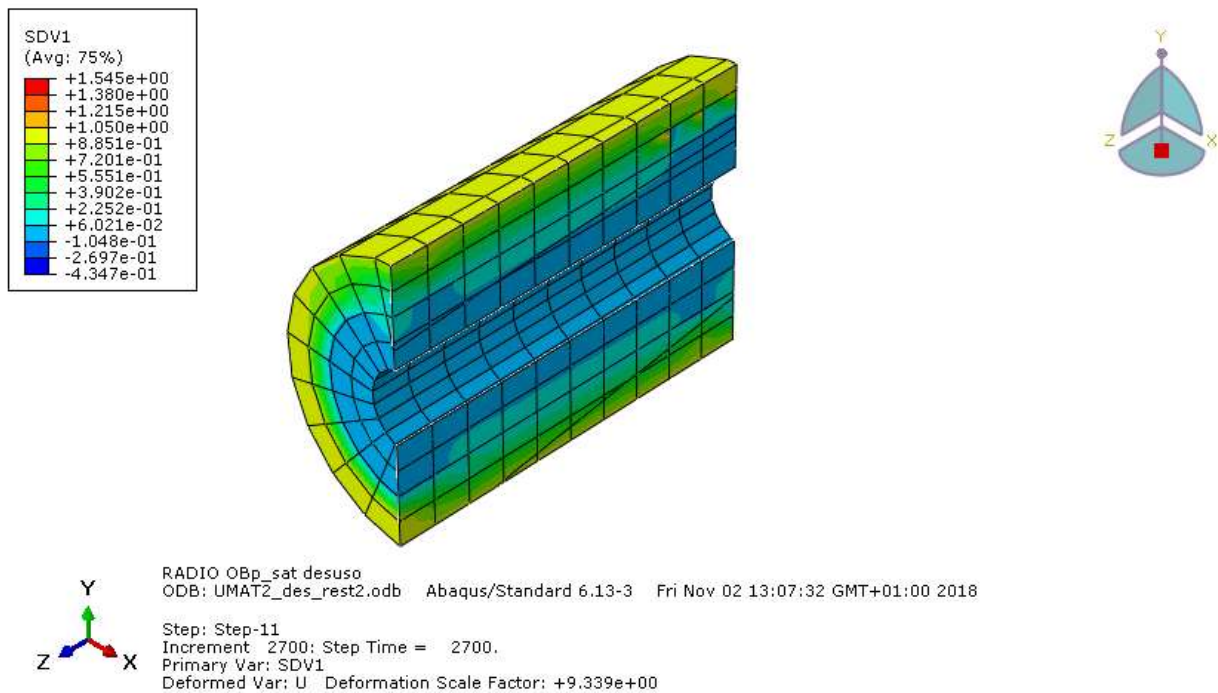


Figura 4.34. Distribución de densidades en la malla para un hueso sometido al caso de desuso durante 10 años.

Para concluir este apartado, cabe destacar que los resultados obtenidos analizando la evolución de un elemento situado en el exterior de la malla, en concreto el elemento 2265, coinciden en gran medida con los observados por Scheiner et al. [7], como puede corroborarse al comparar las figuras **Figura 4.29**, **Figura 4.30** y **Figura 4.31** con la **Figura 4.35**. Lo que nos permite considerar que nuestro modelo está comportándose de manera adecuada ante el efecto de las ecuaciones que modelan la osteoporosis postmenopáusica.

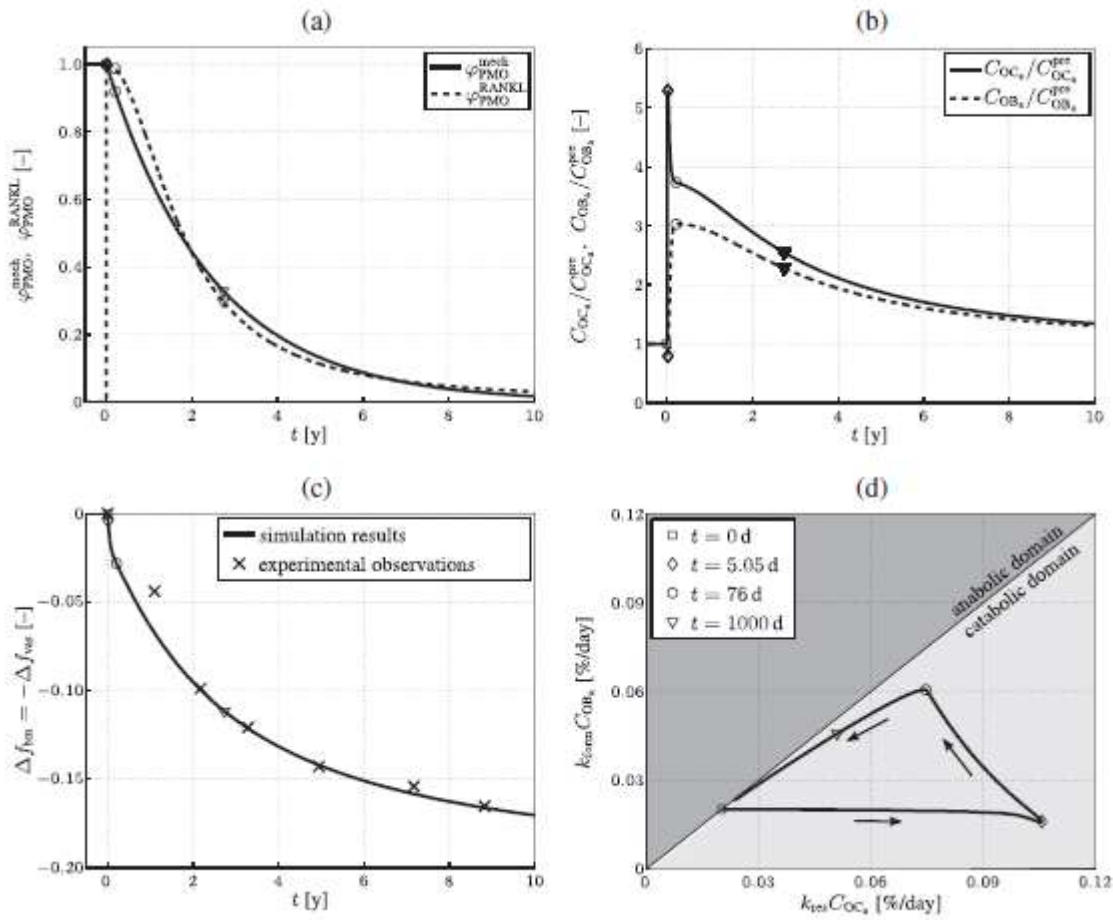


Figura 4.35. Simulación de PMO con inicio de la enfermedad en $t_{PMO.ini} = 0$: a) Evolución temporal del factor de reducción de la velocidad de producción de RANKL relacionada con la enfermedad, ϕ_{PMO}^{RANKL} , y del factor de reducción de la mecanosensibilidad, ϕ_{PMO}^{mech} , b) Evolución de la concentración de OC_a y de OB_a normalizadas respecto a sus valores antes del inicio de la PMO, c) Aumento de la porosidad vascular en el hueso cortical osteoporótico a lo largo del tiempo, y d) Diagrama de fase comparando la reabsorción con la formación ósea obtenidas durante la simulación de la PMO en hueso cortical, las flechas indican la evolución a lo largo del tiempo. Figura extraída de [7].

5 CONCLUSIONES Y TRABAJOS FUTUROS

5.1 Conclusiones

Una vez que se han obtenido y discutido los resultados que proporciona el modelo, estamos en condiciones de extraer una serie de conclusiones.

En primer lugar, es importante destacar que, pese a que han podido razonarse prácticamente todos los resultados obtenidos, solo aquellos extraídos del modelo con un único elemento han sido corroborados. Por lo que la veracidad de los resultados obtenidos mediante el modelo con la malla completa no puede asegurarse hasta que no se valide con resultados experimentales o resultados obtenidos mediante otros modelos previamente validados.

Dicho esto, una de las conclusiones principales que podemos extraer a raíz de lo presentado en el apartado 4.2., es que el modelo siempre alcanza un punto en el que las variables se hacen inestables. La evolución de las poblaciones celulares y de parámetros significativos como la fracción volumétrica de matriz ósea o la densidad de energía de deformación sigue una trayectoria lógica durante un gran número de días de simulación (en muchos de los casos, se observan trayectorias estables y lógicas durante un tiempo de simulación de más de 15 años), pero siempre termina apareciendo un comportamiento inesperado en cierto punto de la simulación.

Esto nos impide asegurar que se alcanzan situaciones de equilibrio de remodelación, pues los valores de densidad de energía de deformación van convergiendo hacia el valor de referencia, pero no llegan a alcanzarlo por completo antes de la aparición de la inestabilidad.

Todos estos problemas de inestabilidad pueden deberse a que la malla empleada consta sólo de 800 elementos tipo *hueso* con estructura hexaédrica. Estos elementos representan un material cuyo comportamiento es claramente no lineal, ya que su rigidez va variando a medida que cambia la porosidad del hueso, en función de varios parámetros como la carga aplicada o el daño. Al tratarse de elementos tipo C3D8, los valores de tensión y deformación se recalculan en 8 puntos de integración para cada elemento, sin embargo, esto puede ocasionar que la diferencia entre los valores calculados en un elemento y los calculados en el elemento contiguo sea muy grande, incluso entre los distintos puntos de integración de un mismo elemento. Por eso se ven picos en el comportamiento de elementos que de repente disminuyen su densidad al aumentar la de los elementos vecinos. Empleando elementos hexaédricos con un mayor número de puntos de integración podríamos evitar estas discontinuidades y obtener soluciones probablemente más estables.

A pesar de ello, se puede concluir que el modelo aproxima razonablemente bien el comportamiento del hueso cortical en huesos largos, considerando que la forma de la diáfisis de un hueso largo es similar a un cilindro hueco cuya densidad exterior es significativamente mayor que en el interior. Como prueba de ello, se tienen los resultados obtenidos por Scheiner et al. [7], los cuales se han comparado con la evolución de los parámetros del

modelo medidos en un punto de la malla para el caso que incluye PMO obteniéndose una gran similitud entre ellos.

5.2 Trabajos futuros

Como bien hemos mencionado en el apartado de conclusiones, una de las mejoras que podría incluirse en el modelo es la de cambiar el tipo de elemento utilizado en la malla para comprobar si de esta forma se evitan los problemas de inestabilidad.

Además, sería interesante ajustar todos los valores de referencia del modelo en base a una situación de equilibrio. Cosa que no ha podido llevarse a cabo en este trabajo porque no se ha alcanzado una situación de equilibrio real. De esta forma, se introduciría el valor inicial de cada parámetro en cada elemento de la malla, siendo este valor el de equilibrio y se procedería a someter al sistema a distintos casos para ver su sensibilidad real a partir de la situación de balance de remodelación.

Por último, pero no por ello menos importante, sería ideal poder verificar los resultados obtenidos en este trabajo con objeto de mejorar el modelo y ajustar las ecuaciones y parámetros para que la solución se aproxime lo máximo posible a la realidad.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] J. Martínez-Reina, J. M. García-Aznar, J. Domínguez y M. Doblaré, «On the role of bone damage in calcium homeostasis,» *Journal of Theoretical Biology*, pp. 704-712, 2008.
- [2] P. Pivonka, J. Zimak, D. W. Smith, B. S. Gardiner, C. R. Dunstan, N. A. Sims, T. J. Martin and G. R. Mundy, "Model structure and control of bone remodeling: A theoretical study," *Bone*, pp. 249-263, 2008.
- [3] S. Kamarova, R. Smith, S. Dixon, S. Sims y L. Wahl, «Mathematical model predicts a critical role for osteoblast autocrine regulation in the control of bone remodeling,» *Bone*, pp. 206-215, 2003.
- [4] V. Lemaire, F. Tobin, L. Greller, C. Cho y L. Suva, «Modeling the interactions between osteoblast and osteoclast activities in bone remodeling,» *Journal of Theoretical Biology*, pp. 293-309, 2004.
- [5] P. Pivonka, P. R. Buenzli, S. Scheiner, C. Hellmich y C. R. Dunstan, «The influence of bone surface availability in bone remodelling-A mathematical model including coupled geometrical and biomechanical regulations of bone cells,» *Engineering Structures*, pp. 134-147, 2013.
- [6] P. Buenzli, P. Pivonka, B. S. Gardiner y D. W. Smith, «Modelling the anabolic response of bone using a cell population model,» *Journal of Theoretical Biology*, pp. 42-52, 2012.
- [7] S. Scheiner, P. Pivonka, D. W. Smith, C. R. Dunstan y C. Hellmich, «Mathematical modeling of postmenopausal osteoporosis and its treatment by the anti-catabolic drug denosumab,» *International Journal for Numerical Methods in Biomedical Engineering*, nº 30, pp. 1-27, 2014.
- [8] G. A. Borelli, *De Motu animalium*, Pisa, 1667.
- [9] Chriudel, «Wikimedia Commons,» 13 4 2010. [En línea]. Available: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:EpiMetaDiafisis.png>. [Último acceso: 21 08 2018].
- [10] Carlos, «Eduación Física Jaén,» 27 9 2011. [En línea]. Available: <http://blogcarloslc.blogspot.com/2011/>. [Último acceso: 21 08 2018].
- [11] J. Pérez, «Huesos, Músculos y Articulaciones,» 10 2010. [En línea]. Available: <https://sites.google.com/site/huesosmusculosy/el-esqueleto-tipos-de-huesos>. [Último acceso: 21 08 2018].
- [12] 9 2016. [En línea]. Available: http://www.e-sanitas.edu.co/Diplomados/endocrino/modulo_11/remodelamiento.html.
- [13] «Osteomielite crônica,» 9 2016. [En línea]. Available: <http://anatpat.unicamp.br/lamosso1.html>. [Último acceso: 21 08 2018].
- [14] W. S. S. Jee, «The skeletal tissues,» de *Histology: Cell and Tissue Biology, 5th ed.*, L. Weiss, Ed., Elsevier, 1983.

- [15] W. Kahle, H. Leonhardt y W. Platzer, Atlas de Anatomía (para estudiantes y médicos). Tomo I, Barcelona: Omega, 1993.
- [16] J. D. Currey, «The mechanical consequences of variation in the mineral content of bone,» *J. Biomech.*, pp. 1-11, 1969.
- [17] G. S. Beaupé, T. E. Orr y D. R. Carter, «An approach for time-dependent bone modelling and remodeling-theoretical development,» *J. Orthopaed. Res.*, pp. 651-661, 1990.
- [18] H. M. Frost, Bone Remodeling and its Relationship to Metabolic Diseases, Springfield IL: Charles C. Thomas, 1973.
- [19] R. Martin, «Toward a unifying theory of bone remodeling,» *Bone*, pp. 1-6, 2000.
- [20] A. M. Parfitt, «The physiologic and clinical significance of bone histomorphometric data,» de *Bone Histomorphometry Techniques and Interpretation*, R. R. Recker, Ed., Boca Raton, CRC Press, 1983, pp. 143-223.
- [21] P. Fridez, «Modélisation de l'adaptatioon osseuse externe,» Lausanne, 1996.
- [22] P. Pivonka, J. Zimak, D. W. Smith, B. S. Gardiner, C. R. Dunstan, N. A. Sims, T. J. Martin and G. R. Mundy, "Theoretical investigation of the role of the RANK-RANKL-OPG system in bone remodeling," *Journal of Theoretical Biology*, pp. 306-316, 2010.
- [23] S. Scheiner, P. Pivonka, C. Hellmich y D. Smith, «Computational simulations of the mechanobiological regulation of bone remodeling by means of a coupled systems biology-micromechanical approach,» de *Proceedings of the 9th IASTED International Conference on Biomedical Engineering, February 2012*, Innsbruck, Austria, 2012.
- [24] P. R. Buenzli, P. Pivonka y D. W. Smith, «Spatio-temporal structure of cell distribution in bone multicellular units: a mathematical model,» *Bone*, n° 48, pp. 918-26, 2011.
- [25] R. B. Martin, «Porosity and specific surface of bone,» de *CRC Critical Reviews in Biomedical Engineering*, Boca Raton, CRC Press, 1984, pp. 179-222.
- [26] C. J. Hernandez, G. S. Beaupré y D. R. Carter, «A model of mechanobiologic and metabolic influences on bone adaptation,» *J. Rehabil. Res. Dev.*, pp. 235-244, 2001.
- [27] J. D. Currey, «Tensile yield in compact bone is determined by strain, post-yield behaviour by mineral content,» *J. Biomech*, pp. 549-556, 2004.
- [28] H. M. Frost, «Bone "mass" and the "mechanostat": a proposal,» *The Anatomical record*, vol. 219, pp. 1-9, 1987.
- [29] R. B. Martin, D. Burr y N. A. Sharkey, «Skeletal Tissue Mechanics,» *Springer*, p. New York, 1998.
- [30] A. M. Parfitt, «Osteonal and hemi-osteonal remodeling: The spatial and temporal framework for signal traffic in adult human bone,» *J. Cell. Biochem.*, vol. 55, pp. 273-286, 1994.
- [31] Z. F. G. Jaworski y C. Hooper, «Study of cell kinetics within evolving secondary haversian systems,» *J. Anat.*, vol. 131, pp. 91-102, 1980.

- [32] W. E. Roberts, P. G. Mozsary y E. Klinger, «Nuclear size as a cell-kinetic marker for osteoblast differentiation,» *J. Anat.*, vol. 165, pp. 373-384, 1982.
- [33] J. E. Aubin, «Mesenchymal stem cells and osteoblast differentiation,» de *Principles of Bone Biology*, vol. 1, San Diego, Academic Press, 2008, pp. 85-107.
- [34] J. Martínez-Reina, J. Ojeda y J. Mayo, «On the Use of Bone Remodelling Models to Estimate the Density Distribution of Bones. Uniqueness of the Solution,» *Plos one*, 2016.
- [35] C. A. Pattin, W. E. Caler y D. R. Carter, «Cyclic mechanical property degradation during fatigue loading of cortical bone,» *J. Biomech*, vol. 29, n° 1, pp. 69-79, 1996.
- [36] J. M. García-Aznar, T. Rueberg y M. Doblarè, «A bone remodelling model coupling microdamage growth and repair by 3D BMU activity,» *Biomech. Model. Mech.*, pp. 147-167, 2005.
- [37] R. C. Juvinall, *Engineering Considerations of Stress, Strain and Strength*, New York: McGraw-Hill, 1967.
- [38] M. Gerend, M. Erchull, L. Aiken y J. Maner, «Reasons and risk: factors underlying women's perceptions of susceptibility to osteoporosis,» *Maturitas*, n° 55, pp. 227-237, 2006.
- [39] S. Manolagas, «Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis,» *Endocrine Reviews*, n° 21, pp. 115-137, 2000.
- [40] B. Riggs, S. Khosla y L. M. III, «A unitary model for involutional osteoporosis: estrogen deficiency causes both type I and type II osteoporosis in postmenopausal women and contributes to bone loss in aging men,» *Journal of Bone and Mineral Research*, n° 13, pp. 763-773, 1998.
- [41] P. Garnero, E. Sornay-Rendu, M. C. Chapuy y P. Delmas, «Increased bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis,» *Journal of Bone and Mineral Research*, n° 11, pp. 337-349, 1996.
- [42] A. Tomkinson, E. Gevers, J. Wit, J. Reeve y B. Noble, «The role of estrogen un the control of rat osteocyte apoptosis,» *Journal of Bone and Mineral Research*, n° 13, pp. 1243-1250, 1998.
- [43] T. Post, J. Freijer, J. DeJongh y M. Danhof, «Disease system analysis: basic disease progression models in degenerative disease,» *Pharmaceutical Research*, n° 22, pp. 1038-1049, 2005.
- [44] E. S. Hsu, A. G. Patwardhan, K. P. Meade, T. R. Light y W. R. Martin, «Cross-sectional geometrical properties and bone mineral contents of the human radius and ulna,» *Journal of Biomechanics*, vol. 26, n° 11, pp. 1307-1318, 1993.
- [45] A. Ural, «Prediction of Colles' fracture load in human radius using cohesive finite element modeling,» *Journal of Biomechanics*, n° 42, pp. 22-28, 2009.

ANEXO A: PARÁMETROS EMPLEADOS

Símbolo	Valor	Descripción
D_{OB_u}	0.63/día	Velocidad de diferenciación de OB_u en OB_p
D_{OB_p}	1.657e-01/día	Velocidad de diferenciación de OB_p en OB_a
P_{OB_p}	0.021/día	Velocidad de proliferación de OB_p
A_{OB_a}	2.1107e-01/día	Velocidad de apoptosis de OB_a incluyendo diferenciación en OC_y
D_{OC_u}	4.2e-01 /día	Velocidad de diferenciación de OC_u en OC_p
D_{OC_p}	2.1 /día	Velocidad de diferenciación de OC_p en OC_a
A_{OC_a}	5.6487 /día	Velocidad de apoptosis de OC_a
$k_{act}^{TGF-\beta}$	5.6327e-04 pM	Constante de activación del TGF- β
$k_{rep}^{TGF-\beta}$	1.75426 pM	Constante de represión del TGF- β
k_{act}^{PTH}	150 pM	Constante de activación del PTH
k_{rep}^{PTH}	2.2258e-01 pM	Constante de represión del PTH
k_{act}^{RANKL}	5.6797 pM	Constante de activación del RANKL
$N_{OC_p}^{RANK}$	1.0e+04	Expresión de RANK por los OC_p
k_{act}^{MCSF}	1.0e-03 pM	Coefficiente de activación de MCSF que se une a OC_u
P_{RANKL}	0 pM/día	Administración externa de RANKL
P_{OPG}	0 pM/día	Administración externa de OPG
P_{PTH}	0 pM/día	Administración externa de PTH
$\tilde{D}_{TGF-\beta}$	2 /día	Velocidad de degradación del TGF- β
\tilde{D}_{PTH}	86 /día	Velocidad de degradación del PTH
β_{PTH}	250 pM/día	Velocidad de producción de PTH sistémico
\tilde{D}_{OPG}	0.35 /día	Velocidad de degradación de OPG
β_{OPG}	1.625e+08 pM/día	Producción mínima de OPG por célula
OPG_{max}	2.0e+08 pM	Concentración máxima de OPG
β_{RANKL}	1.684e+02 pM/día	Velocidad de producción de RANKL por célula
$N_{OB_p}^{RANKL}$	2.7034e+06	Cantidad máxima de RANKL expresado por los OB_p
\tilde{D}_{RANKL}	1.0132e+01/día	Velocidad de degradación de RANKL
$K_{[RANKL-OPG]}$	1.0e-03 /pM	Constante de asociación entre RANKL y OPG
$K_{[RANKL-RANK]}$	3.4118e-02 /pM	Constante de asociación entre RANKL y RANK
π_{act,OC_u}^{MCSF}	0.5	Factor de activación de OC_p debido a MCSF
k_{res}	200 %	Velocidad relativa de reabsorción ósea respecto a la reabsorción normal
k_{form}	40 %	Velocidad relativa de formación ósea
α	1	Contenido de TGF- β almacenado en la matriz ósea

t_R	1000 días	Tiempo de residencia en el algoritmo de la mineralización
t_{mlt}	12 días	Tiempo de retraso de la mineralización
t_{prim}	10 días	Longitud de la primera fase de la mineralización
κ	0.007/día	Constante de la velocidad de mineralización
v_{prim}	1.2053e-01	Fracción volumétrica de mineral al final de la fase primaria de mineralización
v_{max}	0.442	Fracción volumétrica máxima de mineral en la saturación
k_{OB_u}	0.1	Exponente para la realimentación geométrica asociado a la diferenciación de OB_u
k_{OB_p}	0.0	Exponente para la realimentación geométrica asociado a la diferenciación de OB_p
k_{OC_u}	1.0	Exponente para la realimentación geométrica asociado a la diferenciación de OC_u
k_{OC_p}	0.0	Exponente para la realimentación geométrica asociado a la diferenciación de OC_p
κ	1.0e04 pM/day	Parámetro para modular la producción de RANKL debido al desuso
λ	1.25	Parámetro para modular la proliferación de OB debido a sobrecarga
$\psi_{bm}^{trabecular}(t_0)$	3.6e-04 MPa	Estímulo mecánico de referencia para hueso trabecular
w^{trabec}	2.0e-04 MPa	Mitad del ancho de la zona muerta para hueso trabecular
$\psi_{bm}^{cortical}(t_0)$	1.445e-02 MPa	Estímulo mecánico de referencia para hueso cortical
$w^{cortical}$	8.0e-03 MPa	Mitad del ancho de la zona muerta para hueso cortical
OC_u	1.0e-02 pM	Población de osteoclastos no comprometidos
OB_u	1.0e-02 pM	Población de osteoblastos no comprometidos
OC_{p_0}	1.0e-03 pM	Población inicial de osteoclastos precursores
OC_{a_0}	1.0e-04 pM	Población inicial de osteoclastos activos
OB_{p_0}	1.0e-03 pM	Población inicial de osteoblastos precursore
OB_{a_0}	5.0e-04 pM	Población inicial de osteoblastos activos
OB_p^{sat}	5.0e-03 pM	Cantidad de osteoblastos precursores a la que se detiene la proliferación
f_{bm_0}	0.8	Fracción volumétrica de hueso inicial
α_0	0.7	Fracción de ceniza inicial
d_0	0	Daño inicial
N	1000	Número de ciclos diarios
κ_2	5.0e+04 pM/día	Parámetro para modular la producción de RANKL debida al daño
p_{OB_a}	0 pM	Producción externa de OB_a
p_{OB_p}	0 pM	Producción externa de OB_p
p_{OC_p}	0 pM	Producción externa de OC_p
p_{OC_a}	0 pM	Producción externa de OC_a
Δt	0.25	Intervalo de integración
ξ	65	Parámetro que interviene en el factor de reducción de la producción de RANKL debida a la PMO
τ_{PMO}^{RANKL}	10 días	Tiempo característico de decrecimiento de la producción de RANKL al considerar PMO
τ_{PMO}^{mech}	900 días	Tiempo característico de disminución de la mecanosensibilidad debida a la PMO
$P_{RANKL}^{PMO,ini}$	0.6e+04 pM/día	Velocidad de producción de RANKL debido a la PMO
$t_{PMO,ini}$	32405	Instante de simulación a partir del cual se inicia la PMO

ANEXO B: SUBROUTINA UMAT

En este Anexo se presenta el código de la subrutina *UMAT* empleada, así como las subrutinas *SDVINI* y *UEXTERNALDB*, que también forman parte de la librería de Abaqus. Los comentarios explicativos se han indicado en color verde.

```
SUBROUTINE UMAT(STRESS,STATEV,DDSDDE,SSE,SPD,SCD,
 1 RPL,DDSDDT,DRPLDE,DRPLDT,
 2 STRAN,DSTRAN,TIME,DTIME,TEMP,DTEMP,PREDEF,DPRED,CMNAME,
 3 NDI,NSHR,NTENS,NSTATV,PROPS,NPROPS,COORDS,DROT,PNEWDT,
 4 CELENT,DFGRD0,DFGRD1,NOEL,NPT,LAYER,KSPT,KSTEP,KINC)
C
  INCLUDE 'ABA_PARAM.INC'
  INCLUDE 'param_UMAT3.for'
C
  CHARACTER*80 CMNAME
  DIMENSION STRESS(NTENS),STATEV(NSTATV),
 1 DDSDDE(NTENS,NTENS),
 2 DDSDDT(NTENS),DRPLDE(NTENS),
 3 STRAN(NTENS),DSTRAN(NTENS),TIME(2),PREDEF(1),DPRED(1),
 4 PROPS(NPROPS),COORDS(3),DROT(3,3),DFGRD0(3,3),DFGRD1(3,3)

  INTEGER*4 IERR,I,NPOINT,SEARCH_ELEM
  REAL*8 STRAN2(6),XMU,XLAM,YOUNG,NU,EPS
  REAL*8 OCP1,OCP2,OCA1,OCA2,OBP1,OBP2,OBA1,OBA2
  REAL*8 RANK,RANKL,OPG,TGFB
  REAL*8 PI_PTH(2),PI_TGFB(4),PI_EPS(2),PI_RANKL(8)
  REAL*8 VB1,VB2,DAM1,DAM2,ALPHA1,ALPHA2,VM,CALMINERAL
  REAL*8 G_OBU,G_OBP,G_OCU,G_OCP
  REAL*8 OBpIN,OBpOUT,OBaIN,OBaOUT,OCpIN,OCpOUT,OCaIN,OCaOUT
  REAL*8 NCYCLES2,STRAIN_M(3,3),EIGENVAL(3),EIGENVEC(3,3),MAX_STRAIN
  REAL*8 AUX

C   NPOINT CONTAINS THE ORDER OCCUPIED BY THE PRESENT GAUSS POINTS IN THE LIST OF
ANALYZED GAUSS POINTS
C   THE ARRAY GLOBAL VARIABLES USE THIS NPOINT AS AN INDEX
  NPOINT = NGP * (SEARCH_ELEM(NOEL) - 1) + NPT
C   INITIAL STEP
  IF (TIME(2) .LT. 1E-15) THEN
    VB2 = vb_t0
    ALPHA2 = STATEV(7)
    DAM2 = dam_t0
    GOTO 200
  ENDIF
  IF (NPT.EQ.1) THEN
    ENDIF
C
C   STATE VARIABLES TO LOCAL VARIABLES
  VB1      = STATEV(1)
  OCP1     = STATEV(2)
  OCA1     = STATEV(3)
  OBP1     = STATEV(4)
  OBA1     = STATEV(5)
  DAM1     = STATEV(6)
  ALPHA1   = STATEV(7)

CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
C   BONE CELL DYNAMICS
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
```

```

C   GEOMETRICAL FEEDBACK
G_OBU=(SPECIFIC_SURFACE(VB1)/SPECIFIC_SURFACE(vb_t0))**k_gOBu
G_OBP=(SPECIFIC_SURFACE(VB1)/SPECIFIC_SURFACE(vb_t0))**k_gOBp
G_OCUC=(SPECIFIC_SURFACE(VB1)/SPECIFIC_SURFACE(vb_t0))**k_gOCu
G_OCP=(SPECIFIC_SURFACE(VB1)/SPECIFIC_SURFACE(vb_t0))**k_gOCp

C
C   EVALUATE STRAIN ENERGY FOR OB PROLIFERATION AND RANKL PRODUCTION
C   CONSIDER DAMAGE EFFECT OR NOT
      IF (DANO.NE.1.0)      DAM1 = 0.0

      YOUNG = 84370.0 * ((VB1)**2.58) * (ALPHA1**2.74) * (1.0-DAM1)
      NU = 0.3
      CALL STIFFNESS(DDSDDE,YOUNG,NU)
C   NOW WE USE THE INITIAL STRAIN
C   INICIAL STEP
      DO I=1,6
        IF (TIME(2).EQ.1.0) THEN
          STRAN2(I) = STRAN(I)
          STRAN2(I) = DSTRAN(I)
        ELSE
          STRAN2(I) = STRAN(I) + DSTRAN(I)
        ENDIF
      END DO
      STRESS = MATMUL(DDSDDE,STRAN2)
C   CALCULATE STRAIN ENERGY DENSITY
      SSE = 0.0
      DO I=1,6
        SSE = SSE + (STRESS(I) * STRAN2(I)) / 2.0
      ENDDO
C   CALCULATION OF BIOREGULATION FACTORS
C
      CALL SUB_PI_TGFB(OCA1,PI_TGFB)
C
      CALL SUB_PI_EPS(PI_EPS,SSE,TIME(2),VB1)
C
      CALL SUB_PI_PTH(PI_PTH)
C
      CALL SUB_PI_RANKL(PI_RANKL,OBP1,OBA1,OCp1,PI_PTH,PI_EPS(1),
1 DAM1,TIME(2))
C
C   CELL DYNAMICS
C
C   CONSIDERING SATURATION OF OBp PROLIFERATION

      IF (OBP1.LT.OBp_sat) THEN
        OBpIN = G_OBP * D_OBu * PI_TGFB(1) * OBp_t0 +
1          G_OBP * P_OBp * PI_EPS(2) * OBP1 + PD_OBp
      ELSEIF (OBP1.GE.OBp_sat) THEN
        OBpIN = G_OBP * D_OBu * PI_TGFB(1) * OBp_t0 + PD_OBp
      ENDIF

      OBpOUT = G_OBP * D_OBp * PI_TGFB(3) * OBP1
      OBaIN = OBpOUT + PD_OBa
      OBaOUT = A_OBa * OBA1
      OCpIN = G_OCUC * D_OCUC * Pi_MCSF_act * PI_RANKL(1) * OCUC_t0
1      + PD_OCp
      OCpOUT = G_OCP * D_OCP * PI_RANKL(1) * OCP1
      OCaIN = OCpOUT + PD_OCa
      OCaOUT = A_OCa * PI_TGFB(2) * OCA1

      OBP2 = OBP1 + (OBpIN - OBpOUT) * DELTAT
      OBA2 = OBA1 + (OBaIN - OBaOUT) * DELTAT
      OCP2 = OCP1 + (OCpIN - OCpOUT) * DELTAT
      OCA2 = OCA1 + (OCaIN - OCaOUT) * DELTAT
C
C   CELL POPULATIONS ARE ALWAYS POSITIVE
      IF (OBP2.LT.0.0) OBP2 = 0.0

```

```

IF (OBA2.LT.0.0) OBA2 = 0.0
IF (OCP2.LT.0.0) OCP2 = 0.0
IF (OCA2.LT.0.0) OCA2 = 0.0

C   CALCULATE BVTV
VB2 = VB1 + (K_form * OBA2 - K_res * OCA2) /100 * DELTAT
IF (VB2.LT.0.0) THEN
  VB2 = 1.0E-4
ELSE IF (VB2.GT.1.0) THEN
  VB2 = 0.9999
END IF

C
C   DAMAGE
C
IF (DANO.EQ.1.0) THEN
C   CONVERT STRAIN PSEUDOVECTOR INTO A MATRIX
  STRAIN_M(1:3,1:3) = 0.0
  IF (TIME(2).EQ.1.0) THEN
    STRAIN_M(1,1) = STRAN(1)
    STRAIN_M(2,2) = STRAN(2)
    STRAIN_M(3,3) = STRAN(3)
    STRAIN_M(1,2) = STRAN(4) /2.0
    STRAIN_M(2,1) = STRAIN_M(1,2)
    STRAIN_M(1,3) = STRAN(5) /2.0
    STRAIN_M(3,1) = STRAIN_M(1,3)
    STRAIN_M(2,3) = STRAN(6) /2.0
    STRAIN_M(3,2) = STRAIN_M(2,3)
  ELSE
    STRAIN_M(1,1) = STRAN(1)+DSTRAN(1)
    STRAIN_M(2,2) = STRAN(2)+DSTRAN(2)
    STRAIN_M(3,3) = STRAN(3)+DSTRAN(3)
    STRAIN_M(1,2) = (STRAN(4)+DSTRAN(4)) /2.0
    STRAIN_M(2,1) = STRAIN_M(1,2)
    STRAIN_M(1,3) = (STRAN(5)+DSTRAN(5)) /2.0
    STRAIN_M(3,1) = STRAIN_M(1,3)
    STRAIN_M(2,3) = (STRAN(6)+DSTRAN(6)) /2.0
    STRAIN_M(3,2) = STRAIN_M(2,3)
  ENDIF
C   CALCULATE THE EIGENVECTORS AND EIGENVALUES OF THE STRAIN TENSOR
  CALL RS(3,3,STRAIN_M,EIGENVAL,EIGENVEC,IERR)
  MAX_STRAIN = MAX(EIGENVAL(1),EIGENVAL(2),EIGENVAL(3))
  NCYCLES2 = Ncycles * DELTAT
  CALL CALDAM(NCYCLES2,MAX_STRAIN,DAM1,DAM2,ALPHA1,K_res,OCA2)
ELSE
  DAM2 = 0.0
ENDIF

C   MINERALIZATION
C
C   FIRST, THE GLOBAL VARIABLES NEEDED IN SUBROUTINE 'UPDATE_VFPREV' ARE SET
VB_GLOB(NPOINT) = VB2
OCA_GLOB(NPOINT) = OCA2
OBA_GLOB(NPOINT) = OBA2

VM = 0.0
DO I = 1,T_res
  AUX = REAL(I)
  VM = VM + VFPREV(NPOINT,I) * CALMINERAL(AUX*DELTAT)
ENDDO
VM = VM / VB2
ALPHA2 = 3.2 * VM / (3.2 * VM + 1.1 * 3.0/7.0)

C
C   END OF REMODELLING
C
C   UPDATED LOCAL VARIABLES TO STATE VARIABLES
C
STATEV(1) = VB2 ! BVTV

```

```

STATEV(2)      = OCP2          ! OCp
STATEV(3)      = OCA2          ! OCa
STATEV(4)      = OBP2          ! OBp
STATEV(5)      = OBA2          ! OBa
STATEV(6)      = DAM2          ! Damage
STATEV(7)      = ALPHA2        ! Ash fraction
STATEV(8)      = PI_RANKL(4)   ! RANKL concentration
STATEV(9)      = PI_RANKL(7)   ! RANKL concentration
STATEV(10)     = PI_RANKL(3)   ! OPG concentration
STATEV(11)     = PI_TGFB(4)    ! TGFB concentration
STATEV(12)     = YOUNG         ! Young modulus
STATEV(13)     = SSE           ! Strain energy density
STATEV(14)     = PI_PTH(3)     ! PTH concentration

200  CONTINUE
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
C  DEFINITION OF JACOBIAN MATRIX
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
C    CONSIDER EFFECT OF DAMAGE OR NOT
IF (DANO.NE.1.0)      DAM2 = 0.0
C
  YOUNG = 84370.0 * ((VB2)**2.58) * (ALPHA2**2.74) * (1.0-DAM2)  !SEE EQUATION (3.46)
C
  NU = 0.3
  CALL STIFFNESS(DDSDDE,YOUNG,NU)
C
C  EVALUATE NEW STRESS TENSOR
C
  DO I=1,6
    IF (TIME(2).EQ.1.0) THEN
      STRAN2(I) = STRAN(I)
      STRAN2(I) = DSTRAN(I)
    ELSE
      STRAN2(I) = STRAN(I) + DSTRAN(I)
    ENDIF
  END DO
  STRESS = MATMUL(DDSDDE,STRAN2)
C
C  EVALUATE STRAIN ENERGY
C
  SSE = 0.0
  DO I=1,6
    SSE = SSE + STRESS(I) * STRAN2(I) / 2.0
  ENDDO

  RETURN
  END

CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC

SUBROUTINE SDVINI(STATEV,COORDS,NSTATV,NCRDS,NOEL,NPT,
  1 LAYER,KSPT)
C
  INCLUDE 'ABA_PARAM.INC'
  INCLUDE 'param_UMAT3.for'

  INTEGER*4 LABEL
  INTEGER*4 I,NPOINT,SEARCH_ELEM
  REAL*8 VM,CALMINERAL,AUX,SSE0
C
  DIMENSION STATEV(NSTATV),COORDS(NCRDS)
C
  INITIALIZE STATE DEPENDENT VARIABLES

```

```

STATEV(1) = vb_t0      ! BTV
STATEV(2) = OCp_t0    ! OCp
STATEV(3) = OCa_t0    ! OCa
STATEV(4) = OBp_t0    ! OBp
STATEV(5) = OBa_t0    ! OBa
STATEV(6) = dam_t0    ! Damage

C   INITIALIZE VARIABLE INZI
c
  IF (NPT.EQ.1) CALL SET_INZI(NOEL) !The order in which the element is analyzed is stored
in variable INZI
  NPOINT = NGP * (SEARCH_ELEM(NOEL) - 1) + NPT

C   CALCULATE THE INITIAL ASH FRACTION. VFPREV IS INITIALIZED IN UEXTERNALDB (LOP=0)
VM = 0.0
DO I = 1,T_res
  AUX = REAL(I)
  VM = VM + VFPREV(NPOINT,I) * CALMINERAL(AUX*DELTAT)
ENDDO

VM = VM / vb_t0
STATEV(7) = 3.2 * VM / (3.2 * VM + 1.1 * 3.0/7.0)  !ALPHA

c
STATEV(8) = K_RANK * OCp_t0 !RANK CONCENTRATION

STATEV(10) = (P_OPG_d + (B1_OPG * OBp_t0 + B2_OPG * OBa_t0)
1          * B_OPG * 1.0 / (1.0 + ((P_PTH_d + B_PTH) / D_PTH)
2          / K_PTH_rep)) / (D_OPG + (B1_OPG * OBp_t0
3          + B2_OPG * OBa_t0) * B_OPG * 1.0 / (1.0 +           !OPG = PI_RANKL(3)
4          ((P_PTH_d + B_PTH) / D_PTH) / K_PTH_rep) / OPG_max)

STATEV(11) = Alpha_TGFB * K_res/100 * OCa_t0 / D_TGFB  ![TGFB] = PI_TGFB(4)

STATEV(12) = 84370.0 * ((vb_t0)**2.58) * ((3.2 * VM / (3.2 * VM
1 + 1.1 * 3.0/7.0))**2.74) * (1.0-dam_t0)           !YOUNG

c   IF (vb_t0 .LT. 0.5) THEN !Trabecular bone
c     SSE0 = SSE0_T
c   ELSE
c     SSE0 = SSE0_C           !Cortical bone
c   ENDDIF

STATEV(13) = SSE0  !SSE

STATEV(14) = (P_PTH_d + B_PTH) / D_PTH  !PTH = PI_PTH(3)

RETURN
END
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC

SUBROUTINE UEXTERNALDB(LOP,LRESTART,TIME,DTIME,KSTEP,KINC)

C
  INCLUDE 'ABA_PARAM.INC'
  INCLUDE 'param_UMAT3.for'
  INTEGER LABEL
  INTEGER*4 I
  REAL*8 START, FINISH

C
  DIMENSION TIME(2)

C   BEGINNING OF THE ANALYSIS
  IF(LOP.EQ.0) THEN
    LABEL = 0
    CALL UPDATE_VFPREV(LABEL)

```

```

CALL INI_INZI()      !The INZI variable is set equal to 0 within this subroutine
DO I=1,NELEM*NGP
  VB_GLOB(I) = vb_t0
  OCA_GLOB(I) = OCa_t0
  OBA_GLOB(I) = OBa_t0
ENDDO
ENDIF

C   END OF EACH INCREMENT
IF(LOP.EQ.2) THEN
  LABEL = 1          !This means that UPDATE_VFPREV is being called in the middle of
the analysis
  CALL UPDATE_VFPREV(LABEL)  !Update the global variable VFPREV
ENDIF

C   END OF THE ANALYSIS
IF(LOP.EQ.3) THEN
  CALL WRITE_GLOB()
  CALL CPU_TIME (FINISH)
ENDIF

C   BEGINNING OF A RESTART ANALYSIS
IF (LOP.EQ.4) THEN
  CALL READ_GLOB()
ENDIF

RETURN
END
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC

INCLUDE 'sub_UMAT3.for'

```

ANEXO C: SUBROUTINAS Y FUNCIONES

En este Anexo se presentan las funciones y subrutinas creadas para implementar el modelo de remodelación ósea basado en poblaciones celulares en Abaqus. Comentarios explicativos en color verde.

```

FUNCTION SPECIFIC_SURFACE(VB)          !SEE EQUATION (3.21)
  IMPLICIT NONE
  REAL*8 SPECIFIC_SURFACE,VB,P

  P = 1.0 - VB

  IF ((VB .LE. 0.0).OR.(VB .GE. 1.0)) THEN
    SPECIFIC_SURFACE = 0.0
  ELSE
    SPECIFIC_SURFACE = 32.3*P - 93.9*(P**2.0) + 134*(P**3.0) -
1  101*(P**4.0) + 28.8*(P**5.0)
  ENDIF

  RETURN
END
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
SUBROUTINE SUB_PI_EPS(PI_EPS,SSE,T,VB)
  IMPLICIT NONE
  INCLUDE 'param_UMAT3.for'
  REAL*8 SSE,SSE0,PI_EPS(2)
  REAL*8 VB,W,T

C   PI_EPS(1)    EFFECT OF DISUSE IN RANKL
C   PI_EPS(2)    EFFECT OF OVERLOAD IN OB PROLIFERATION

c   IF (VB .LT. 0.5) THEN !Trabecular bone
c     SSE0 = SSE0_T
c     W = W_T
c   ELSE                !Cortical bone
C   CONSIDERING ONLY CORTICAL BONE
SSE0 = SSE0_C
W = W_C
c   ENDIF

IF ((SSE-SSE0+W) .LT. -1E-008) THEN          !DISUSE
  PI_EPS(1) = kappa2 * EXP((T - t_PMO_ini) * DELTAT /
1  T_PMO_mech) * (SSE0-W-SSE) / (SSE0-W)
                                           !SEE EQUATION (3.40) INCLUDING PMO EFFECT
  PI_EPS(2) = 0.5

ELSE IF ((SSE-SSE0-W) .GT. 1E-008) THEN !PROLIFERATION
  PI_EPS(1) = 0.0
                                           !SEE EQUATION (3.41) INCLUDING PMO EFFECT
  PI_EPS(2) = 0.5 * (1.0 + lambda * EXP((T - t_PMO_ini)
1  * DELTAT / T_PMO_mech) * (SSE-SSE0-W) / (SSE0+W))

ELSE
  PI_EPS(1) = 0.0
  PI_EPS(2) = 0.5                !SEE EQUATION (3.42)
ENDIF

IF (PI_EPS(2).GE.1.0) PI_EPS(2) = 1.0

RETURN
END

```

```

CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
SUBROUTINE SUB_PI_TGFB(OCA,PI_TGFB) !SEE EQUATION (3.9)
IMPLICIT NONE
INCLUDE 'param_UMAT3.for'
REAL*8 OCA,TGFB,PI_TGFB(4)

TGFB = Alpha_TGFB * K_res/100 * OCA / D_TGFB

C ACTIVATOR OF DIFFERENTIATION OF OBU INTO OBP
PI_TGFB(1) = TGFB / (K_TGFB_act + TGFB)
C ACTIVATOR OF APOPTOSIS OF OCA
PI_TGFB(2) = TGFB / (K_TGFB_act + TGFB)
C REPRESSOR OF DIFFERENTIATION OF OBP INTO OBA
PI_TGFB(3) = 1.0 / (1.0 + TGFB / K_TGFB_rep)
C TGFB CONCENTRATION
PI_TGFB(4) = TGFB

RETURN
END
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
SUBROUTINE SUB_PI_PTH(PI_PTH) !SEE EQUATION (3.13)
IMPLICIT NONE
INCLUDE 'param_UMAT3.for'
REAL*8 PI_PTH(3),PTH

PTH = (P_PTH_d + B_PTH) / D_PTH
C ACTIVATOR OF RANKL EXPRESSION
PI_PTH(1) = PTH / (PTH + K_PTH_act)
C DEPRESSOR OF OPG EXPRESSION
PI_PTH(2) = 1.0 / (1.0 + PTH / K_PTH_rep)

PI_PTH(3) = PTH

RETURN
END
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
SUBROUTINE SUB_PI_RANKL(PI_RANKL,OBP,OBA,OCPI,PI_PTH,P_RANKL_DIS,
DAM,T)
IMPLICIT NONE !SEE EQUATION (3.12)
INCLUDE 'param_UMAT3.for'
REAL*8 PI_RANKL(8),OBP,OBA,OCPI,PI_PTH(2),P_RANKL,P_RANKL_DIS
REAL*8 DAM,T,P_RANKL_PMO

C Summary of variables
C
C PI_RANKL(1) PI_RANKL_ACT
C PI_RANKL(2) OPG_eff
C PI_RANKL(3) OPG
C PI_RANKL(4) RANKL
C PI_RANKL(5) RANKL_eff
C PI_RANKL(6) RANKL_tot
C PI_RANKL(7) RANKL
C PI_RANKL(8) RANKL_RANK
C PI_PTH(1) ACTIVATOR OF RANKL EXPRESSION
C PI_PTH(2) DEPRESSOR OF OPG EXPRESSION

C Total external RANKL income = injected (P_RANKL_d) + income due to mechanical factors,
e.g. DISUSE (P_RANKL_DIS) + due to damage + due to PMO

P_RANKL_PMO = P_RANKL_PMO_ini * ksi**2 /
(ksi**2 + ((T - t_PMO_ini) * DELTAT / T_PMO_RANKL)**2)

IF (DANO.EQ.1.0) THEN
P_RANKL = P_RANKL_d + P_RANKL_DIS + DAM * kappa_dam + !CONSIDERING DAMAGE EFFECT
P_RANKL_PMO !CONSIDERING PMO EFFECT
ELSE

```



```

        P_RANKL = P_RANKL_d + P_RANKL_DIS + P_RANKL_PMO
    ENDIF

C   OPG_eff
    PI_RANKL(2) = (B1_OPG * OBP + B2_OPG * OBA) * B_OPG * PI_PTH(2)
C   OPG
    PI_RANKL(3) = (P_OPG_d + PI_RANKL(2)) /
(D_OPG + PI_RANKL(2) / OPG_max)
C   RANK
    PI_RANKL(4) = K_RANK * OCP
C   RANKL_eff
    PI_RANKL(5) = (R1_RANKL * OBP + R2_RANKL * OBA) * R_RANKL * PI_PTH(1)
C   RANKL_tot
    PI_RANKL(6) = 1.0 + KA1_RANKL * PI_RANKL(3) + KA2_RANKL * PI_RANKL(4)
C   RANKL
    PI_RANKL(7) = (B_RANKL + P_RANKL) * PI_RANKL(5) / PI_RANKL(6) /
        (B_RANKL + PI_RANKL(5) * D_RANKL)
C   RANKL BOUND TO RANK
    PI_RANKL(8) = KA2_RANKL * PI_RANKL(4) * PI_RANKL(7)
C   PI_RANKL_ACT
    PI_RANKL(1) = PI_RANKL(8) / (K_RANKL_act + PI_RANKL(8))

    RETURN
    END
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
SUBROUTINE STIFFNESS(DDSDDE, YOUNG, NU)          !CALCULATE STIFFNESS MATRIX
IMPLICIT NONE
INTEGER I
REAL*8 DDSDDE(6,6), XLAM, XMU, NU, YOUNG

    DDSDDE(1:6,1:6) = 0.0
C
    XLAM = YOUNG*NU/(1.0+NU)/(1.0-2.0*NU)
    XMU = YOUNG/2.0/(1.0+NU)
    DO I=1,3
        DDSDDE(I,I) = 2.0*XMU + XLAM
    ENDDO
    DDSDDE(1,2) = XLAM
    DDSDDE(2,1) = DDSDDE(1,2)
    DDSDDE(1,3) = DDSDDE(1,2)
    DDSDDE(3,1) = DDSDDE(1,2)
    DDSDDE(2,3) = DDSDDE(1,2)
    DDSDDE(3,2) = DDSDDE(1,2)
C
    DDSDDE(4,4) = XMU
    DDSDDE(5,5) = DDSDDE(4,4)
    DDSDDE(6,6) = DDSDDE(4,4)

    RETURN
    END
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
SUBROUTINE CALDAM(NCYCLES, STRAIN, D_OLD, D_NEW, ALPHA, KRES, OCA)
IMPLICIT NONE
INTEGER I, J, K, POS          !SEE SECTION (3.2.3)
C   INTEGER*4 NCYCLES
REAL*8 NFATIGA, NFATIGA2, CA, ALPHA, D1, C1, C2, GAMMA2
REAL*8 AUX, Betad, C3, delta2, ULT_STR, N1, NCYCLES
REAL*8 D_REP, D_OLD, D_NEW, STRAIN, KRES, OCA, EPS, NF

C   THIS SUBROUTINE CALCULATES THE BALANCE OF DAMAGE:
C   INCREMENT DUE TO FATIGUE
C   DECREMENT DUE TO BONE RESORPTION OF DAMAGED BONE
C   IN THIS CASE DAMAGE IS ISOTROPIC

C   First, the fatigue properties are calculated
C   as a function of the mineral content
    NFATIGA2 = 1.0E7

```



```

VFPREV(POS,T_res) = VB - SUM_VF
ELSE
    ! In the middle of the analysis
    VB = VB_GLOB(POS)
    DVR = OCA_GLOB(POS) * K_res * DELTAT / 100.
    DVF = OBA_GLOB(POS) * K_form * DELTAT / 100.
    DO I = T_res-1 , 2 , -1
        VFPREV(POS,I) = VFPREV(POS,I-1) * (1. - DVR / VB)
        IF (VFPREV(POS,I).LT.1.0E-13) VFPREV(POS,I) = 0.0
        SUM_VF = SUM_VF + VFPREV(POS,I)
    ENDDO
    VFPREV(POS,1) = DVF
    SUM_VF = SUM_VF + VFPREV(POS,1)
    VFPREV(POS,T_res) = VB - SUM_VF
ENDIF
ENDDO

RETURN
END

CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
FUNCTION CALMINERAL(T) !SEE EQUATION (3.30)
IMPLICIT NONE
INCLUDE 'param_UMAT3.for'
REAL*8 T,CALMINERAL

IF (T . LT . T_lag) THEN
    CALMINERAL = 0.0
ELSE IF (T . LT . T_lag + T_prim) THEN
    CALMINERAL = VM_PRIM * (T-T_lag) / T_prim
ELSE
    CALMINERAL = VM_MAX + (VM_PRIM - VM_MAX) *
DEXP(-kappa*(T-T_lag-T_prim))
ENDIF

RETURN
END

CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
FUNCTION SEARCH_ELEM(ELTO) !FIND THE CORRESPONDING ELEMENT IN THE MESH
IMPLICIT NONE
INCLUDE 'param_UMAT3.for'
INTEGER*4 SEARCH_ELEM,I,ELTO

DO I=1,NELEM
    IF(INZI(I).EQ.ELTO) EXIT
ENDDO

SEARCH_ELEM=I
RETURN
END

CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
SUBROUTINE INI_INZI()
IMPLICIT NONE
INCLUDE 'param_UMAT3.for'
INTEGER*4 I

DO I=1,NELEM
    INZI(I)=0
ENDDO

RETURN
END

CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
SUBROUTINE SET_INZI(NOEL)
IMPLICIT NONE
INCLUDE 'param_UMAT3.for'
INTEGER*4 NOEL,I,J
DO I=1,NELEM

```

```
      IF(INZI(I).EQ.0) THEN
        J=I
        EXIT
      ENDIF
    ENDDO

    INZI(J)=NOEL

    RETURN
  END
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC
```

