

Caeiro JR^{1,2}, González P³, Guede D^{1,4}

1 Red Temática de Investigación en Envejecimiento y Fragilidad (RETICEF) - Instituto de Salud Carlos III - Ministerio de Economía y Competitividad - Madrid

2 Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología - Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela - A Coruña

3 Grupo de Nuevos Materiales - Departamento de Física Aplicada - Universidad de Vigo - Pontevedra

4 Trabeculae - Empresa de Base Tecnológica, S.L. Ourense - España

Biomecánica y hueso (y II): Ensayos en los distintos niveles jerárquicos del hueso y técnicas alternativas para la determinación de la resistencia ósea

Correspondencia: David Guede - Trabeculae, S.L. Parque Tecnológico de Galicia - Edificio "Tecnópole I" Local 22 - 32900 San Cibrao das Viñas - Ourense (España)
Correo electrónico: dguede@trabeculae.com

Resumen

Para una mayor comprensión de las propiedades mecánicas del hueso en conjunto, debe determinarse primero el comportamiento de cada uno de los componentes de forma individual en su nivel estructural correspondiente y su implicación a nivel global. Ésta es la base de la teoría de la estructuración jerárquica del hueso, que implica su división en varios niveles estructurales. Repasamos en este trabajo dicha estructuración jerárquica nivel a nivel, revisando los distintos ensayos mecánicos que se aplican a cada una de las estructuras. Por otro lado, se presentan los métodos para la determinación de la resistencia ósea alternativos a los ensayos mecánicos clásicos, que en los últimos años están contribuyendo significativamente al entendimiento mecánico del hueso.

Palabras clave: *biomecánica, tejido óseo, resistencia ósea.*

Biomechanics and bone (& II): Trials at different hierarchical levels of bone and alternative techniques for determining bones strength

Summary

For a greater understanding of the mechanical properties of bone as a whole, it is first necessary to determine the behaviour of each of the components in an individual way at its corresponding structural level, as well as its overall involvement. This is the basis of the theory of hierarchical structure of bone, which involves its division into different structural levels. In this work we review, level by level, this hierarchical structure, reviewing the different mechanical trials which are applied to each of the structure. In addition, the methods for the determination of bone strength alternative to the classic mechanical trials are presented, which in recent years have been contributing significantly to the mechanical understanding of bone.

Key words: *biomechanics, bone tissue, bone strength.*

Introducción

Cualquiera que sea el tipo de fuerza a la que sometamos un hueso *in vitro*, el módulo elástico siempre es proporcional a la densidad mineral ósea (DMO), por lo que la carga necesaria para la deformación del hueso será proporcional al grado de mineralización del mismo. Sin embargo, un hueso con una DMO muy elevada implicaría una elevada rigidez, provocando que dicho hueso sea altamente quebradizo. Esto demuestra que existen otros factores, además de la masa, que influyen en la eficacia biomecánica del hueso, como la composición del tejido óseo y la estructura arquitectónica del mismo (macro- y microscópica), agrupándose todos ellos en el término calidad ósea. Se ha estimado que la cantidad ósea es responsable del 60 al 80% de la resistencia biomecánica del hueso, mientras que el 20-40% restante depende de la calidad ósea, por lo que es un gran error subestimar la importancia de la misma¹. Por eso resulta de vital importancia conocer la aportación de cada uno de los componentes del hueso a la resistencia mecánica del conjunto.

En la primera parte de esta revisión² los autores hicimos una introducción al campo de la biomecánica enfocada al hueso. Presentamos los conceptos básicos de la materia y mostramos los ensayos mecánicos clásicos que se utilizan desde hace tiempo para conocer las propiedades mecánicas del hueso. Pero en los últimos años, los avances en el campo de la biomecánica han ido mucho más allá, consiguiendo analizar por separado la resistencia mecánica de los distintos niveles estructurales del hueso, lo cual sirve de gran ayuda para entender la capacidad del hueso como conjunto para soportar las cargas a las que es sometido. En esta segunda parte de la revisión, queremos repasar los ensayos realizados en todos los niveles estructurales. Además, se presentan técnicas alternativas a los ensayos clásicos que se están utilizando cada vez más para la determinación de la resistencia ósea.

La estructura jerárquica del hueso y sus propiedades biomecánicas

El hueso está formado por una matriz orgánica compuesta principalmente por colágeno tipo I y una matriz inorgánica mineralizada (cristales de hidroxiapatita y fosfato cálcico). Las fibras de colágeno que forman el hueso son el resultado de la unión mediante enlaces cruzados de una triple hélice de cadenas de este material. Esta estructura le confiere al hueso su resistencia a la tracción en sentido longitudinal y es responsable en gran parte de la elasticidad del mismo. Las propiedades biomecánicas que proporciona el colágeno dependen a su vez de las características ultraestructurales del mismo, como la cantidad y la orientación de sus fibras o la estabilidad de sus enlaces. En diversos estados patológicos estas características se ven seriamente afectadas (principalmente la estabilidad de los enlaces). Por otro lado, los cristales se disponen en los huecos que quedan libres en la matriz orgánica y son los responsables de la rigidez del hueso y de su resistencia a la compresión, por lo que estas características dependerán de la cantidad de mineral, del grado de empaquetamiento y de la ordenación de los cristales alrededor de las fibras de colágeno.

A causa de su compleja estructura, para conocer y comprender las propiedades biomecánicas del hueso, deben tenerse en cuenta los distintos niveles estructurales. El hueso, al igual que otros materiales biológicos, posee lo que se conoce como estructura jerárquica, compuesta de distintos niveles a medida que variamos la escala (Figura 1). En la Tabla 1 se definen dichos niveles, según las clasificaciones establecidas por diferentes autores en los últimos años³⁻⁶. Cada una de estas escalas o niveles jerárquicos va a tener influencia en las características biomecánicas del hueso.

Tabla 1. Clasificación y definición de los niveles jerárquicos del hueso propuestos por distintos autores³⁻⁶

Nivel jerárquico	Componentes principales	Referencia
Macroestructura	Hueso cortical y trabecular	(Rho <i>et al.</i> , 1998) ³
Microestructura	Osteonas y trabéculas individuales	
Submicroestructura	Láminas	
Nanoestructura	Colágeno fibrilar y componentes minerales	
Subnanoestructura	Estructura molecular de los distintos elementos	
Nivel 7	Hueso entero	(Weiner and Wagner, 1998) ⁴
Nivel 6	Hueso cortical y trabecular	
Nivel 5	Osteonas	
Nivel 4	Patrones de las fibras (hueso maduro <i>vs.</i> hueso intersticial)	
Nivel 3	Fibras de colágeno	
Nivel 2	Fibrillas de colágeno y minerales	
Nivel 1	Moléculas	
Nivel hueso entero	Hueso entero o representativo de ambos subtipos	(Hoffler <i>et al.</i> , 2000) ⁵
Nivel arquitectural	Hueso cortical o trabecular	
Nivel tisular	Trabéculas y osteonas individuales	
Nivel laminar	Láminas	
Nivel ultraestructural	Componentes minerales y moleculares	
Macroestructura	Hueso entero o representativo de ambos subtipos	(An, 2000) ⁶
Arquitectura	Bloques de hueso cortical o trabecular	
Microestructura	Trabéculas y osteonas individuales	
Submicroestructura	Láminas, fibras grandes de colágeno	
Ultra o nanoestructura	Fibrillas y moléculas de colágeno, componentes minerales	

Biomecánica de la estructura entera

El comportamiento mecánico de un material puede ser descrito completamente por un grupo de propiedades materiales. Sin embargo, el comportamiento mecánico de una estructura ósea entera es mucho más complejo de predecir, ya que es el resultado de las propiedades materiales de cada uno de sus componentes y de su distribución geométrica en el espacio.

Los ensayos mecánicos con huesos enteros o fracciones representativas de un hueso determinan las propiedades del conjunto del hueso, asumiendo que tanto el tejido trabecular como el cortical se pueden modelar como una estructura continua, incorporando tanto su geometría como las propiedades de los distintos materiales que lo componen. Para poder llevar a cabo esta simplificación, obviando con ella la anisotropía y heterogeneidad ósea, debe cumplirse la máxima de que la muestra a ensayar sea significativamente mayor que las dimensiones de sus unidades estructurales básicas. El análisis biomecánico del hueso entero

debe acompañarse siempre del análisis de su geometría. El comportamiento mecánico de este tipo de muestras es el que más se aproxima al comportamiento del hueso *in vivo*; sin embargo, no resulta conveniente calcular parámetros materiales a este nivel, ya que debido a la compleja geometría y propiedades materiales del hueso entero, no se pueden identificar alteraciones de la microestructura o de la matriz extracelular, que deben ser investigados en niveles microscópicos⁵. No obstante, los ensayos con hueso entero se pueden utilizar para analizar las propiedades mecánicas del componente estructural, resultando de utilidad en el análisis de los efectos que diversos factores, como la edad, las enfermedades osteodegenerativas y sus correspondientes tratamientos, etc., provocan en las propiedades biomecánicas del hueso.

Se han llevado a cabo muchos trabajos para conocer el comportamiento mecánico de huesos enteros, en los cuales se emplean ensayos de compresión y de flexión en tres o cuatro puntos y en menor medida, ensayos de torsión.

Figura 1. Esquema representativo de los distintos niveles de la estructuración jerárquica del hueso

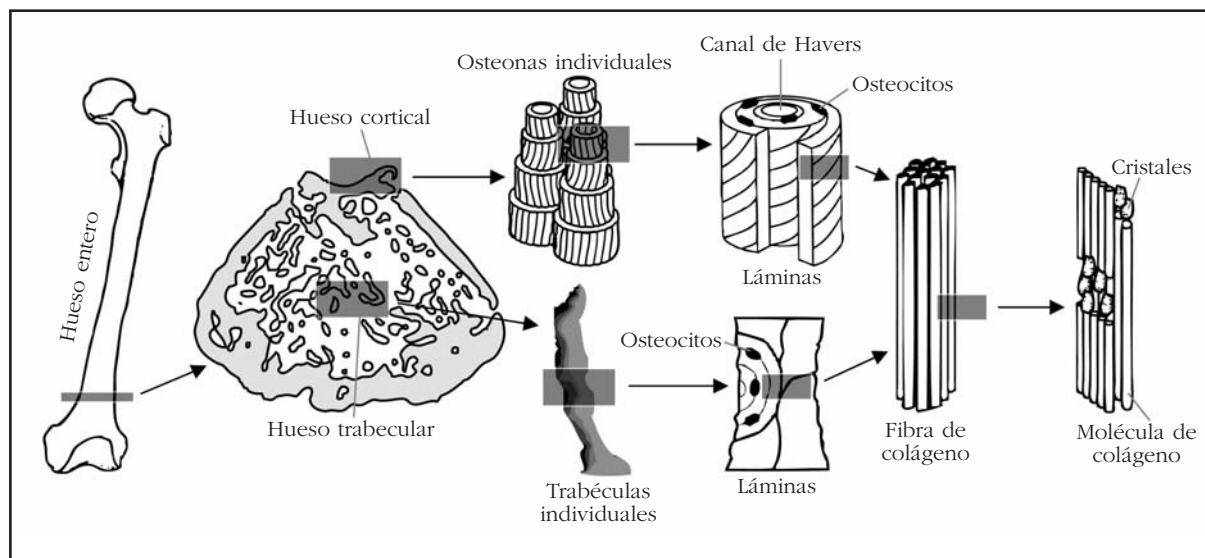
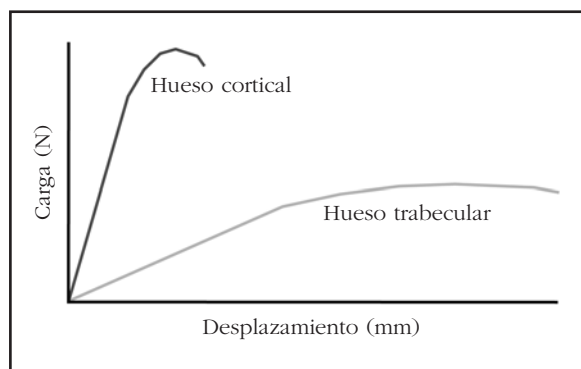


Figura 2. Curva carga-desplazamiento del comportamiento biomecánico característico de los distintos tipos tisulares



En las pruebas de flexión, las medidas consisten en simples valores de cargas de vencimiento y de fractura, y rigidez (pendiente de la zona elástica). Se puede obtener también un valor del módulo de Young, pero estos cálculos ignoran la heterogeneidad y la compleja geometría del hueso, ya que asumen que el hueso es un tubo hueco perfecto, por lo que el valor obtenido es simplemente aproximado⁷. No obstante, es el método más comúnmente usado para estimar las propiedades mecánicas del material óseo en el hueso entero. El hueso es más resistente a la compresión que a la tracción, y es todavía más débil frente a fuerzas de corte⁸. Por ejemplo, cuando un hueso largo se carga en dirección perpendicular a su eje longitudinal sufre una carga de flexión, ya que la cara impactada se carga por compresión, mientras que la cara opuesta se carga por tracción. Como resultado, el hueso empezará a fracasar mecánicamente por el lado opuesto al impacto (la cara sometida a tracción), ya que alcanzará primero su resistencia máxima que el lado sometido a compresión.

Biomecánica de los componentes tisulares

En función de la estructura del hueso y de su comportamiento biomecánico, podemos encontrar dos subtipos tisulares: el hueso cortical y el hueso trabecular o esponjoso. Las diferencias morfológicas entre hueso cortical y trabecular producen importantes implicaciones biomecánicas. El hueso cortical posee un módulo elástico mayor, por lo que su curva de esfuerzo-deformación presenta una mayor pendiente. Esto implica que es capaz de soportar un alto grado de carga por unidad de superficie con un bajo índice de deformación, lo que le confiere una gran rigidez. Sin embargo, el hueso trabecular presenta un módulo de Young menor y biomecánicamente describe una curva más aplanada, lo que se traduce en que la carga soportable por unidad de superficie es menor, pero con un mayor índice de deformación, lo que conlleva mayor flexibilidad (Figura 2).

Biomecánica del hueso cortical o compacto

El análisis biomecánico de hueso cortical se lleva a cabo en cubos o cilindros que contengan el número suficiente de sistemas de Havers y huecos intersticiales para considerarse representativo. El límite superior del tamaño de la muestra vendrá determinado por la región anatómica de la que se ha extraído⁹. Las propiedades mecánicas del hueso cortical dependen del tipo de ensayo al que se someta. En la Tabla 2 se muestran los valores de resistencia y módulo elástico para el hueso cortical humano¹⁰⁻¹⁴. Las variaciones de los valores se deben principalmente a la región de procedencia y a la edad de la muestra.

Aunque la prueba de referencia para determinar las propiedades biomecánicas del hueso cortical es el ensayo de tracción, la que se emplea con mayor frecuencia es el ensayo de flexión. La resistencia a la tracción es menor que la resistencia a la compresión, y en el ensayo de torsión el valor del módulo de Young es mucho menor que en el resto de casos. Debido a la orientación longitudinal de

las fibras de colágeno y las osteonas, el hueso cortical presenta una mayor resistencia a la aplicación de cargas longitudinales (0° de inclinación) que transversales (90° de inclinación), y para valores intermedios de inclinación se obtendrán valores intermedios de resistencia. Además, su resistencia biomecánica en sentido longitudinal es también mayor que la provocada por cargas de torsión. Mientras que las propiedades de un hueso largo entero son función de su forma tubular y su densidad, las del

hueso cortical aislado dependen de su densidad y de la orientación de las osteonas. Debido a esto, los valores de resistencia del hueso cortical suponen un 60% de la resistencia del hueso entero, lo que implica una mayor resistencia mecánica de este componente tisular¹⁵.

La densidad del hueso cortical depende de su porosidad y de la mineralización del material, y en el hueso humano posee un valor aproximado de $1,9 \text{ g/cm}^2$, prácticamente constante debido a que la estructura cortical es bastante compacta¹⁶. Se ha llegado a la conclusión de que existe una correlación positiva entre la densidad cortical y sus propiedades biomecánicas, de forma que si aumenta la primera mejoran las segundas. La porosidad se define como la relación entre el volumen óseo y el volumen total de tejido, y se determina normalmente sobre una sección transversal de hueso cortical. La porosidad y la mineralización explican el 84% de la variación en la rigidez del hueso cortical¹⁷, e incluso se han encontrado experimentalmente fórmulas que relacionan la mineralización con el módulo de Young, de forma que un aumento de la mineralización implica una disminución del módulo elástico¹⁸.

El grosor y el diámetro del hueso cortical son los principales factores que afectan a su biomecánica. Un aumento de cualquiera de estas características provoca un aumento de la resistencia ósea. Un hueso largo se puede modelar como un cuerpo cilíndrico, y según las leyes básicas de la mecánica la resistencia a la deformación de cualquier cuerpo cilíndrico sometido a una fuerza es directamente proporcional a su diámetro. Por otro lado, el grosor de la región cortical y la cantidad de masa ósea están estrechamente relacionados, de manera que, con masa ósea constante, una variación en su distribución modifica también la resistencia del hueso. La disminución del grosor cortical que se produce con la edad o en algunas enfermedades osteodegenerativas lleva asociado un aumento del riesgo de fractura.

Biomecánica del hueso trabecular o esponjoso

En el caso del hueso trabecular, el análisis mecánico se lleva a cabo también en cubos o cilindros de este subtipo tisular, de las dimensiones suficientes para que el componente microestructural no influya en las propiedades biomecánicas. Las

Tabla 2. Valores de resistencia máxima y módulo elástico del hueso cortical humano para los distintos tipos de ensayos mecánicos¹⁰⁻¹⁴

Ensayos de compresión	Resistencia	167 – 213 MPa
	Módulo de Young	14,7 – 34,3 GPa
Ensayos de tracción	Resistencia	107 – 170 MPa
	Módulo de Young	11,4 – 29,2 GPa
Ensayos de flexión	Resistencia	103 – 238 MPa
	Módulo de Young	9,8 – 15,7 GPa
Ensayos de torsión	Resistencia	65 – 71 MPa
	Módulo de Young	3,1 – 3,7 GPa

propiedades estructurales del hueso trabecular se determinan habitualmente mediante ensayos de compresión, tracción o flexión.

Con los resultados obtenidos en estos distintos ensayos se ha observado que el hueso trabecular, de la misma manera que el cortical, presenta una mayor resistencia ante la carga de compresión que ante cualquier otro tipo¹⁹. La resistencia en ensayos de compresión varía entre 1,5 y 9,3 MPa y el módulo de Young entre 10 y 1.058 MPa, en función de la región del esqueleto. La densidad del hueso trabecular humano es de aproximadamente $0,43 \text{ g/cm}^2$. Experimentalmente se llegó a la conclusión de que tanto la resistencia como el módulo de Young son función del cuadrado de la densidad, de forma que un pequeño aumento en la densidad produce grandes incrementos en los dos parámetros anteriores²⁰.

La relación volumétrica ósea trabecular (cociente entre el volumen de hueso trabecular y el volumen de tejido total, BV/TV) juega un papel muy importante en la resistencia mecánica del hueso. Si la BV/TV disminuye por debajo del 15% peligrará seriamente la integridad estructural del tejido, siendo éste mucho más propenso a la fractura. El número de trabéculas y la conectividad también presentan una importancia muy significativa en el comportamiento biomecánico del hueso esponjoso. Las trabéculas están dispuestas vertical y horizontalmente, siendo esta última disposición de vital importancia a nivel de resistencia. Se puede modelar el tejido esponjoso como un conjunto de vigas (trabéculas horizontales) y pilares (trabéculas verticales), de forma que en las primeras recae la función de conexión y sujeción de la estructura. Un descenso en el número de trabéculas disminuye la resistencia, siendo esta disminución más importante si se trata de trabéculas horizontales. Una resistencia disminuida por un estrechamiento de las trabéculas es reversible con un tratamiento adecuado; sin embargo, si desaparece la conectividad entre trabéculas, la pérdida de resistencia se vuelve irreversible ya que no se puede recuperar su elasticidad original. Por lo tanto, una estructura con mayor número, grosor y conectividad entre trabéculas será más resistente que otra con menor número, menor grosor y mayor separación, aunque ambas presenten la misma masa ósea.

La orientación de las trabéculas define el grado de anisotropía. Existe una correlación entre el riesgo de fractura y la anisotropía del hueso que no depende de la masa trabecular. Las trabéculas se orientan de manera que son más resistentes en la dirección en la que habitualmente soportan la carga, produciendo así una heterogeneidad o anisotropía en su estructura. Por lo tanto, si una región soporta normalmente cargas longitudinales (como, por ejemplo, el cuello femoral) sus trabéculas se dispondrán geoméricamente de la forma que mejor puedan soportar estos esfuerzos, siendo muy resistentes a cargas en esta dirección (cargas de compresión), pero presentando un alto riesgo de fractura ante una carga en otra dirección (por ejemplo, una carga transversal debida a una caída). El hueso cortical también sigue un comportamiento anisotrópico debido a la disposición de los conductos de Havers, pero su relevancia mecánica es mucho menor que en el caso del hueso esponjoso.

Biomecánica de osteonas y trabéculas individuales

El análisis biomecánico a este nivel describe las propiedades materiales del tejido independientemente de su geometría, ya que se realiza sobre muestras lo suficientemente pequeñas para que la arquitectura del hueso no tenga influencia en el resultado. En el caso de hueso cortical, los ensayos se realizarían en un bloque de unas pocas osteonas o incluso solamente en una, mientras que para hueso trabecular se emplearía un paquete de trabéculas sin su típica arquitectura porosa, ya que en un tamaño mayor de muestra la geometría jugaría un importante papel en las propiedades biomecánicas.

El uso de pruebas de nanoindentación para el análisis de las propiedades mecánicas de muestras de tamaño muy reducido se ha ido desarrollando en la última década, permitiendo el análisis en profundidad de estructuras como trabéculas u osteonas individuales²¹. Las técnicas de nanoindentación emplean un indentador rígido con el fin de presionar la superficie del material ensayado, provocando de esta manera una deformación local de dicha superficie. La fuerza aplicada y la profundidad a la que penetra el indentador se registran tanto durante la aplicación de la fuerza como una vez liberada la muestra, generando de este modo una curva carga-desplazamiento de la que se pueden obtener las propiedades materiales (Figura 3).

Los equipos para ensayos de nanoindentación miden normalmente la fuerza por medios electromagnéticos o electrostáticos, y el desplazamiento mediante un sensor capacitivo o un dispositivo láser. Estos métodos permiten medidas de fuerza entre 1 y 500.000 μN , y de desplazamiento entre 0,2 y 20.000 nm^2 .

Para llevar a cabo el análisis de las osteonas deben aislarse primero. Aunque es posible aislar una sola osteona individual, la forma de la misma provoca ensayos mecánicos erróneos e imposibilita la comparación de resultados. Por ello, la mejor opción es obtener mediante un micrótopo que

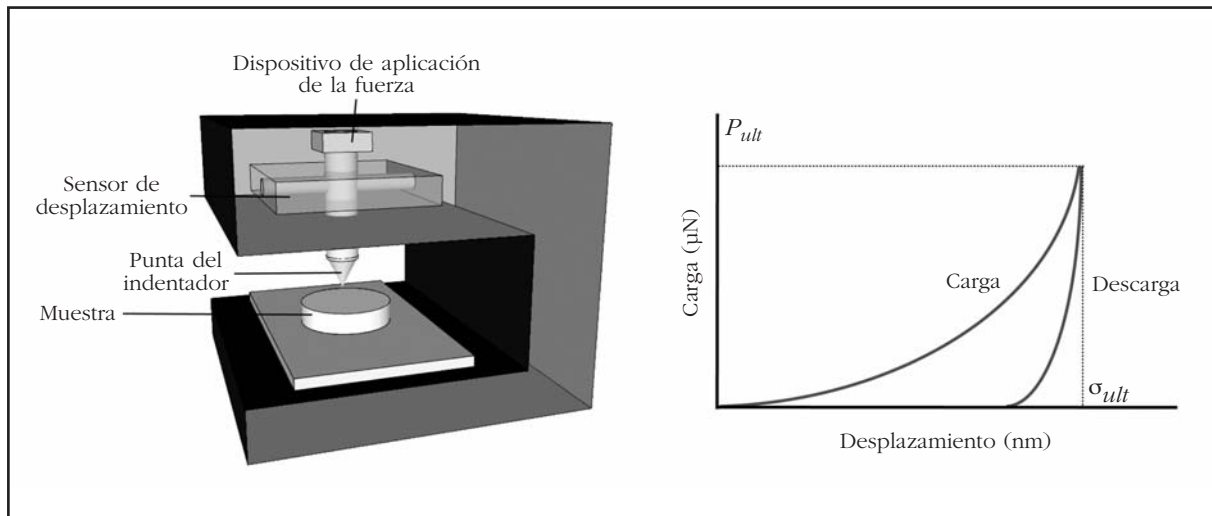
refrigere continuamente el hueso una muestra de forma definida, siendo el cilindro el que mejor representa las propiedades de las osteonas. El aislamiento de las osteonas es un proceso complejo, en el que se tiene en cuenta la orientación de las láminas, la mineralización de las mismas, la distancia entre el canal vascular y la superficie externa, etc.¹⁷.

Las osteonas del hueso humano se pueden clasificar en función de la orientación de las fibras de colágeno de las láminas que las componen. Cuando las fibras de colágeno de todas las láminas que forman la osteona se orientan en sentido longitudinal se habla de osteonas longitudinales. Si las fibras de una lámina se orientan longitudinalmente y las de la lámina adyacente se orientan transversalmente, se habla de osteonas alternas. Mucho menos frecuente es un tercer tipo de osteona en el que las fibras de colágeno de todas las láminas se orientan transversalmente, llamadas osteonas transversales o circulares.

Se han empleado ensayos de compresión, tracción, flexión y torsión para estudiar las propiedades mecánicas de las osteonas, además del denominado *pin test*, empleado comúnmente en mecánica de materiales tubulares. Las láminas longitudinales resisten mejor a la tracción y la torsión, mientras que las láminas transversales ofrecen mayor resistencia a cargas de compresión, flexión y corte. Además, se ha comprobado que la distribución de las láminas en las osteonas de los huesos largos no es aleatoria, sino que hay una alta incidencia de láminas longitudinales en los sectores del hueso que soportan cargas de tracción, y una alta incidencia de láminas transversales en los sectores que soportan principalmente cargas de compresión²³⁻³⁴. No se ha encontrado un efecto de la edad, el género o el índice de masa corporal en el módulo elástico o la dureza de las láminas^{21,31,32,35}, por lo que puede deducirse entonces que el módulo elástico y la dureza de la matriz del hueso es independiente de estas variables, por lo que las reducciones de la integridad mecánica del hueso entero podrían ser debidas a otros factores, como cambios en la masa y la organización del tejido³¹.

La mayoría de estudios que analizan la mecánica de hueso trabecular emplean muestras de dimensiones lo suficientemente grandes para que las propiedades biomecánicas estén influenciadas por la arquitectura trabecular además de por las propiedades materiales del hueso. Tradicionalmente se consideraba el hueso trabecular como hueso cortical más poroso y se asumía que tenían el mismo módulo elástico, pero realmente para conocer la influencia mecánica del tejido trabecular por sí mismo deben realizarse ensayos con trabéculas individuales. Al igual que en el caso de osteonas individuales, el análisis mecánico de las trabéculas es un proceso complicado que requiere, incluso, el diseño de equipos específicos. Se han realizado pruebas de flexión en tres puntos^{36,37} y tracción^{38,39}. En los últimos años, los avances en la microtomografía computarizada han permitido la obtención de modelos de trabéculas individuales que posteriormente se

Figura 3. Representación esquemática de los distintos componentes de un sistema de nanoindentación y de la curva carga-desplazamiento típica obtenida en este tipo de ensayos, en la que se diferencian claramente los ciclos de carga y descarga. P_{ult} corresponde a la carga máxima y σ_{ult} al desplazamiento máximo. De la tangente a la curva de descarga puede obtenerse la rigidez



analizan mediante elementos finitos⁴⁰. Los resultados muestran que el módulo de Young del hueso trabecular de manera independiente es considerablemente menor que el del hueso cortical, probablemente debido al menor grado de organización que presenta el primero. Recientemente, dos grupos de investigación independientes analizaron mediante microtomografía computarizada muestras de hueso trabecular humano procedentes de distintas zonas anatómicas, realizando una descomposición completa de las muestras en placas y tubos individuales y calcularon su contribución al módulo elástico mediante elementos finitos. Los resultados obtenidos mostraron un predominio de placas longitudinales y tubos transversales en las tres zonas anatómicas, y que las cargas axiales del hueso trabecular las sostiene principalmente el volumen trabecular alineado axialmente. Además, se sugiere que las trabéculas en forma de placa dominan las características elásticas totales del hueso trabecular⁴¹⁻⁴⁶.

Biomecánica de los componentes moleculares óseos

El hueso a nivel molecular está compuesto por proteínas, glicoproteínas y minerales; composición que se conoce como matriz extracelular. En este nivel es interesante estudiar las propiedades mecánicas de las fibrillas de colágeno y los componentes minerales. La heterogeneidad de la matriz hace todavía más difícil el análisis biomecánico a este nivel, y la influencia de las variaciones en la estructuración de los componentes no se conoce hoy en día.

En 1997 Luo y colaboradores presentaron un estudio en el que medían la rigidez de moléculas de colágeno obtenidas de precolágeno tipo I (que no forma enlaces intermoleculares) mediante un sistema de pinzas ópticas y bajo microscopio óptico⁴⁷. Casi una década después, mediante un dispositivo electromecánico se presentaban medidas de

la resistencia a la tracción, rigidez, y comportamiento frente a la fatiga de una fibrilla de colágeno, a la vez que se mostraba por primera vez una curva esfuerzo-deformación de la misma⁴⁸. Una nueva técnica experimental mediante microscopía de fuerza atómica y microscopía electrónica de barrido se ha utilizado para manipular y medir las propiedades mecánicas de fibrillas de colágeno mineralizadas individuales de tejido óseo. La curva esfuerzo-deformación de la fibrillas individuales bajo esfuerzos de tracción muestra una región inicial de deformación lineal para todas las fibrillas, seguido por la deformación no homogénea por encima de una deformación crítica. Esta deformación no homogénea sugiere posibles cambios en la composición mineral dentro de cada fibrilla⁴⁹.

Las propiedades mecánicas intrínsecas de los cristales de hidroxiapatita se han determinado mediante técnicas de nanoindentación. Las caras basales de los cristales presentaron mayor dureza y módulo de elasticidad que las caras laterales, pero estas últimas resultaron ser más resistentes. Estos resultados sugieren que los cristales son menos propensos a agrietarse y resisten mejor las microfracturas en las caras laterales, lo cual evidencia la anisotropía de los cristales de hidroxiapatita, que puede tener implicaciones en la anisotropía observada a mayores escalas⁵⁰.

La mecánica del nivel molecular está influenciada por todo tipo de interacciones químicas y desgraciadamente, hasta la fecha no se han podido llevar a cabo ensayos biomecánicos fiables y reproducibles a este nivel. Los métodos de análisis *in situ*, que combinan herramientas de determinación estructural de alta resolución como la difracción de rayos X con ensayos micromecánicos, comienzan a proporcionar información sobre la deformación real que tiene lugar en los niveles molecular y fibrilar de colágeno tanto mineralizado como no mineralizado^{51,52}.

Técnicas biomecánicas alternativas a los ensayos clásicos

Análisis cuantitativo por ultrasonidos (QUS)

Hace ya tiempo que se comenzaron a emplear técnicas de ultrasonidos para la evaluación de las propiedades mecánicas del hueso^{53,54}. Dichas técnicas presentan varias ventajas frente a los ensayos mecánicos clásicos en la determinación de las propiedades elásticas óseas, ya que pueden emplear muestras muy pequeñas y de diversas formas. Aunque el análisis cuantitativo por ultrasonidos no produce una imagen de la estructura del hueso, existe cierta evidencia de que las medidas de QUS pueden proporcionar información relacionada con la organización estructural y las características materiales del tejido⁵⁵. Las ventajas del QUS residen en que no implican exposición a radiación, además de realizarse con sistemas relativamente baratos y portátiles. Por el contrario, su principal inconveniente es la falta de sensibilidad, por lo que actualmente está relegada a utilizarse como herramienta auxiliar en el diagnóstico de osteoporosis, que se confirma posteriormente mediante densitometría ósea (DXA). Sin embargo, resulta muy útil en labores de investigación⁵⁶⁻⁵⁹.

Análisis mediante elementos finitos (FEA)

El análisis mecánico mediante simulación numérica, y en especial el método de elementos finitos, se ha convertido en una herramienta de gran valor a la hora de estudiar las respuestas biomecánicas del hueso ante diversas condiciones de carga. El primer paso para llevar a cabo el análisis mediante elementos finitos es la adquisición de las imágenes de la región anatómica o muestra ósea, normalmente mediante técnicas de tomografía computarizada (CT) o de resonancia magnética nuclear (MRI). Los sets de imágenes obtenidos se procesan mediante complejos algoritmos y sofisticadas técnicas informáticas con el fin de obtener una malla o modelo de elementos finitos del volumen de interés seleccionado. Sobre estos modelos se puede realizar tanto un análisis morfológico de la estructura como un análisis biomecánico simulado que proporcionará datos de la resistencia y el módulo de Young del objeto analizado⁶⁰. El análisis FEA más común es el lineal estático, que calcula la resistencia mecánica a cargas estáticas (que no varían con el tiempo) y que asume que el material es isotrópico y homogéneo. Sin embargo, el desarrollo en los últimos años de tecnologías que permiten la adquisición de imágenes de alta resolución del hueso (micro-CT, HR-MRI, etc.), junto con el uso de nuevos algoritmos que representan la estructura ósea con mayor precisión, ha permitido crear modelos con los que calcular cargas en el tejido y sus propiedades elásticas anisotrópicas⁶¹. El FEA proporciona cada vez datos más exactos, convirtiéndose en una poderosa herramienta para el conocimiento del comportamiento biomecánico del hueso, y en una de las más utilizadas en los últimos años⁶²⁻⁶⁴.

Image-guided failure analysis (IGFA)

En 1998 se presentaba el primer dispositivo para realizar ensayos mecánicos de compresión y trac-

ción en el interior de un equipo de microtomografía computarizada (micro-CT), de forma que el ensayo podía seguirse paso a paso mediante imágenes de alta resolución⁶⁵. Los autores denominaron esta técnica como IGFA (*Image-Guided Failure Analysis*). El IGFA resulta muy útil en el análisis biomecánico de muestras de hueso trabecular, ya que permite observar la progresión de la fractura, monitorizando su inicio y avance, a la vez que determina la influencia de la microarquitectura de la muestra, permitiendo conocer las propiedades microestructurales locales de las regiones fracturadas frente a las que permanecen intactas^{66,67}. Recientemente se ha desarrollado un dispositivo similar para la realización de ensayos de torsión⁶⁸.

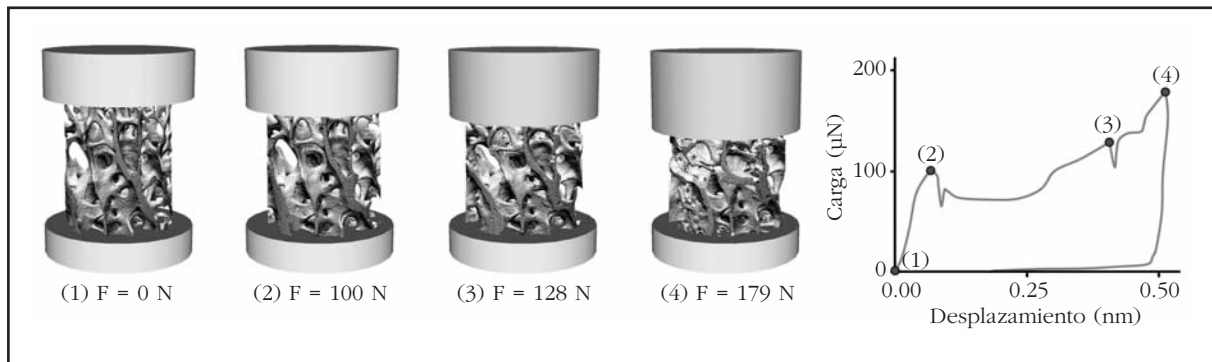
Nazarian y colaboradores⁶⁹ concluyen que el 76% de las muestras de hueso trabecular de vértebra lumbar humana analizadas mediante IGFA presentan valores mínimos de BV/TV, densidad conectiva y anisotropía en las regiones en las que se produce el fracaso mecánico con respecto a las regiones intactas, no observando diferencias significativas para otras variables microestructurales como el número trabecular (Tb.N), el grosor (Tb.Th) y la separación trabecular (Tb.Sp), etc. Por otro lado, nuestro grupo de investigación, en muestras obtenidas de cabezas femorales humanas osteoporóticas⁷⁰, ha encontrado que las regiones de fractura presentan peores valores de todas las variables microestructurales analizadas, excepto para el grado de anisotropía. Esto refleja que la región en la que se produce el fracaso mecánico contiene menos trabéculas, de menor grosor y peor interconectadas que la región que permanece intacta tras el ensayo; aunque en ambas las trabéculas están orientadas de forma similar. Además, en la región de fractura prevalecen las trabéculas en forma de tubo (teóricamente menos resistentes a la fractura) frente a las trabéculas en forma de placa, más abundantes en la región intacta. El grado de correlación entre σ_{ult} y una combinación lineal de variables microestructurales (BV/TV, Tb.Th y factor de patrón trabecular Tb.Pf) mejora significativamente cuando, en vez de utilizar los valores medios de toda la estructura, se emplean los valores de la región en la que se origina la fractura.

Gracias a esta tecnología se han podido observar los distintos mecanismos de fractura. Así, cuando se aplica una fuerza de compresión sobre hueso trabecular, las estructuras en forma de plato fracasan preferentemente en flexión, comenzando en una región del plato ya perforada. En el caso de estructuras en forma de barra, el modo de pandeo (manifestado por significativos desplazamientos transversales a la dirección principal de compresión) es la forma predominante de colapso.

Conclusiones

La compleja matriz orgánica mineralizada que constituye el tejido óseo se encuentra jerarquizada en distintos niveles estructurales que definirán las propiedades mecánicas del hueso. Cada uno de los niveles jerárquicos contribuye de distinta forma y con distinta magnitud al comportamiento

Figura 4. Representación tridimensional del inicio y progreso del fracaso mecánico por compresión de un cilindro de hueso trabecular de cabeza femoral humana osteoporótica, obtenido mediante la técnica IGFA, que permite escaneados de la muestra ensayada con un equipo de micro-CT durante la realización del ensayo mecánico. La curva carga-desplazamiento muestra los puntos de realización de cada uno de los escaneados



mecánico global del hueso, y esto ha de tenerse en cuenta a la hora de estudiar sus propiedades biomecánicas.

Son muchos los estudios que se están llevando a cabo hoy en día en los distintos niveles de estructuración, y cada día se avanza más en el entendimiento del comportamiento de cada una de las estructuras, tanto de manera individual como conjunta en la totalidad del tejido. Las técnicas alternativas a los clásicos ensayos mecánicos están ayudando ampliamente en la consecución de este objetivo. Dentro de estos métodos alternativos, encontramos técnicas no destructivas, como es el caso del FEA y del QUS, que permiten repetir el ensayo tantas veces como sea necesario y cambiando las variables que se consideren oportunas, por lo que abren grandes posibilidades en el campo de la biomecánica.

Bibliografía

- Faulkner KG. Bone matters: Are density increases necessary to reduce fracture risk? *J Bone Miner Res* 2000;15:183-7.
- Guede D, González P, Caeiro JR. Biomecánica y hueso (I): Conceptos básicos y ensayos mecánicos clásicos. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2013;5(1):43-50.
- Rho JY, Kuhn-Spearing L, Zioupos, P. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. *Med Eng Phys* 1998;20:92-102.
- Weiner S, Wagner HD. The material bone: Structure mechanical function relations. *Ann Rev Mater Sci* 1998;28:271-98.
- Hoffler CE, McCreadie BR, Smith EA, Goldstein SA. A hierarchical approach to exploring bone mechanical properties. En: An YH, Draughn RA, editors. *Mechanical testing of bone and the bone-implant interface*. CRC Press LLC (Boca Raton, USA) 2000;p.133-49.
- An YH. Mechanical properties of bone. En: An YH, Draughn RA, editors. *Mechanical testing of bone and the bone-implant interface*. CRC Press LLC (Boca Raton, USA) 2000;p.41-63.
- Sharir A, Barak MM, Shahar R. Whole bone mechanics and mechanical testing. *Vet J* 2008;177:8-17.
- Turner CH. Bone strength: Current concepts. *Ann NY Acad Sci* 2006;1068:429-46.
- Schaffler MB, Radin EL, Burr DB. Mechanical and morphological effects of strain rate on fatigue of compact bone. *Bone* 1989;10:207-14.
- Reilly DT, Burnstein AH, Frankel VH. The elastic modulus of bone. *J Biomech* 1974;7:271-2.
- Burnstein AH, Reilly DT, Martens M. Aging of bone tissue: Mechanical properties. *J Bone Joint Surg Am* 1976;58:82-6.
- Cezayirlioglu H, Bahniuk E, Davy DT, Heiple KG. Anisotropic yield behavior of bone under combined axial force and torque. *J Biomech* 1985;18:61-9.
- Keller TS, Mao Z, Spengler DM. Young's modulus, bending strength, and tissue physical properties of human compact bone. *J Orthop Res* 1990;8:592-603.
- Cuppone M, Seedhom BB, Berry E, Ostell AE. The longitudinal Young's modulus of cortical bone in the midshaft of human femur and its correlation with CT scanning data. *Calcif Tissue Int* 2004;74:302-9.
- Sedlin ED, Hirsch C. Factors affecting the determination of the physical properties of femoral cortical bone. *Acta Orthop Scand* 1966;37:29-48.
- Ashman RB. Experimental techniques. En: Cowin SC, editor. *Bone mechanics*. CRC Press LLC (Boca Raton, USA) 1989;p.91.
- Currey JD. The effects of drying and re-wetting on some mechanical properties of cortical bone. *J Biomech* 1988;21:439-41.
- Schaffler MB, Burr DB. Stiffness of compact bone: Effects of porosity and density. *J Biomech* 1988;21:13-6.
- Keaveny TM, Wachtel EF, Ford CM, Hayes WC. Differences between the tensile and compressive strengths of bovine tibial trabecular bone depend on modulus. *J Biomech* 1994;27:1137-46.
- Hayes WC, Bouxsein ML. Biomechanics of cortical and trabecular bone: Implications for assessment of fracture risk. En: Mow VC, Hayes WC, editors. *Basic Orthopaedic Biomechanics*. Lippincott-Raven (Philadelphia, USA) 1997.
- Rho JY, Zioupos P, Currey JD, Pharr GM. Variations in the individual thick lamellar properties within osteons by nanoindentation. *Bone* 1999;25:295-300.
- VanLandingham MR. Review of instrumented indentation. *J Res Natl Inst Stand Technol* 2003;108:249-65.
- Ascenzi A, Bonucci E. The tensile properties of single osteons. *Anat Rec* 1967;158:375-86.
- Ascenzi A, Bonucci E. The compressive properties of single osteons. *Anat Rec* 1968;161:377-91.
- Ascenzi A, Bonucci E. The shearing properties of single osteons 1972;172:499-510.
- Ascenzi A, Bonucci E. Relationship between ultrastructure and "pin test" in osteons. *Clin Orthop Relat Res* 1976;121:275-94.
- Frasca P, Harper RA, Katz JL. Strain and frequency dependence of shear storage modulus for human single osteons and cortical bone microsamples: Size and hydration effects. *J Biomech* 1981;14:679-81.
- Ascenzi A, Baschieri P, Benvenuti A. The bending properties of single osteons. *J Biomech* 1990;23:763-71.

29. Lakes R. On the torsional properties of single osteons. *J Biomech* 1995;28:1409-10.
30. Zysset PK, Guo XE, Hoffer CE, Moore KE, Goldstein SA. Elastic modulus and hardness of cortical and trabecular bone lamellae measured by nanoindentation in the human femur. *J Biomech* 1999;32:1005-12.
31. Hoffer CE, Moore KE, Kozloff K, Zysset PK, Goldstein SA. Age, gender, and bone lamellae elastic moduli. *J Orthop Res* 2000;18:432-7.
32. Hoffer CE, Moore KE, Kozloff K, Zysset PK, Brown MB, Goldstein SA. Heterogeneity of bone lamellar-level elastic moduli. *Bone* 2000;26:603-9.
33. Hoffer CE, Guo XE, Zysset PK, Goldstein SA. An application of nanoindentation technique to measure bone tissue lamellae properties. *J Biomech Eng-T Asme* 2005;127:1046-53.
34. Ascenzi MG, di Comite M, Mitov P, Kabo JM. Hysteretic pinching of human secondary osteons subjected to torsion. *J Biomech* 2007;40:2619-27.
35. Rho JY, Zioupos P, Currey JD, Pharr GM. Microstructural elasticity and regional heterogeneity in human femoral bone of various ages examined by nano-indentation. *J Biomech* 2002;35:189-98.
36. Kuhn JL, Goldstein SA, Choi K, London M, Feldkamp LA, Matthews LS. Comparison of the trabecular and cortical tissue moduli from human iliac crests. *J Orthop Res* 1989;7:876-84.
37. Choi K, Kuhn JL, Ciarelli MJ, Goldstein SA. The elastic moduli of human subchondral, trabecular, and cortical bone tissue and the size-dependency of cortical bone modulus. *J Biomech* 1990;23:1103-13.
38. Ryan SD, Williams JL. Tensile testing of rodlike trabeculae excised from bovine femoral bone. *J Biomech* 1989;22:351-5.
39. Rho JY, Ashman RB, Turner CH. Young's modulus of trabecular and cortical bone material: Ultrasonic and microtensile measurements. *J Biomech* 1993;26:111-9.
40. Muller R, Ruegsegger P. Analysis of mechanical properties of cancellous bone under conditions of simulated bone atrophy. *J Biomech* 1996;29:1053-60.
41. Stauber M, Muller R. Age-related changes in trabecular bone microstructures: Global and local morphometry. *Osteoporos Int* 2006;17:616-26.
42. Stauber M, Muller R. Volumetric spatial decomposition of trabecular bone into rods and plates—a new method for local bone morphometry. *Bone* 2006;38:475-84.
43. Stauber M, Rapillard L, van Lenthe GH, Zysset P, Muller R. Importance of individual rods and plates in the assessment of bone quality and their contribution to bone stiffness. *J Bone Miner Res* 2006;21:586-95.
44. Liu XS, Saha PK, Wehrli FW, Sajda P, Guo XE. A 3D morphological analysis of trabecular bone based on individual trabeculae segmentation. *Trans Orthop Res Soc* 2006;31:1783.
45. Liu XS, Sajda P, Saha PK, Wehrli FW, Guo XE. Quantification of the roles of trabecular microarchitecture and trabecular type in determining the elastic modulus of human trabecular bone. *J Bone Miner Res* 2006;21:1608-17.
46. Liu XS, Sajda P, Saha PK, Wehrli FW, Bevill G, Keaveny TM, et al. Complete volumetric decomposition of individual trabecular plates and rods and its morphological correlations with anisotropic elastic moduli in human trabecular bone. *J Bone Miner Res* 2008;23:223-35.
47. Luo ZP, Bolander ME, An KN. A method for determination of stiffness of collagen molecules. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;232:251-4.
48. Eppell SJ, Smith BN, Kahn H, Ballarini R. Nano measurements with micro-devices: Mechanical properties of hydrated collagen fibrils. *J R Soc Interface* 2006;3:117-21.
49. Hang F, Barber AH. Nano-mechanical properties of individual mineralized collagen fibrils from bone tissue. *J R Soc Interface* 2011;8:500-5.
50. Saber-Samandari S, Gross KA. Micromechanical properties of single crystal hydroxyapatite by nanoindentation. *Acta Biomaterialia* 2009;5:2206-12.
51. Gupta HS. Nanoscale deformation mechanisms in collagen. In: Fratzl P, ed. *Collagen: Structure and mechanics*. Springer (New York, USA) 2008;pp.155-73.
52. Buehler MJ. Hierarchical nanomechanics of collagen fibrils: Atomistic and molecular modeling. In: Fratzl P, ed. *Collagen: Structure and mechanics*. Springer (New York, USA) 2008;pp.175-247.
53. Yoon HS, Katz JL. Ultrasonic wave propagation in human cortical bone II: Measurements of elastic properties and microhardness. *J Biomech* 1976;9:459-62.
54. Ashman RB, Cowin SC, van Buskirk WC, Rice JC. A continuous wave technique for the measurement of the elastic properties of cortical bone. *J Biomech* 1984;17:349-61.
55. Pithioux M, Lasaygues P, Chabrand P. An alternative ultrasonic method for measuring the elastic properties of cortical bone. *J Biomech* 2002;35:961-8.
56. Nicholson PHF, Muller R, Lowet G, Cheng XG, Hildebrand T, Ruegsegger P, et al. Do quantitative ultrasound measurements reflect structure independently of density in human vertebral cancellous bone? *Bone* 1998;23:425-31.
57. Chaffai S, Peyrin F, Nuzzo S, Porcher R, Berger G, Laugier P. Ultrasonic characterization of human cancellous bone using transmission and backscatter measurements: Relationships to density and microstructure. *Bone* 2002;30:229-37.
58. Padilla F, Akrouf L, Kolta S, Latremouille C, Roux C, Laugier P. In vitro ultrasound measurement at the human femur. *Calcif Tissue Int* 2004;75:421-30.
59. Muller M, Moilanen P, Bossy E, Nicholson P, Kilappa V, Timonen T, et al. Comparison of three ultrasonic axial transmission methods for bone assessment. *Ultrasound Med Biol* 2005;31:633-42.
60. Saxena R, Keller TS. Computer modeling for evaluating trabecular bone biomechanics. In: An YH, Draughn RA, editors. *Mechanical testing of bone and the bone-implant interface*. CRC Press LLC (Boca Raton, USA) 2000;pp.407-36.
61. Ulrich D, van Rietbergen B, Weinans H, Ruegsegger P. Finite element analysis of trabecular bone structure: A comparison of image-based meshing techniques. *J Biomech* 1998;31:1187-92.
62. Bevill G, Eswaran SK, Gupta A, Papadopoulos P, Keaveny TM. Influence of bone volume fraction and architecture on computed large-deformation failure mechanisms in human trabecular bone. *Bone* 2006;39:1218-25.
63. Keaveny TM, Donley DW, Hoffmann PF, Mitlak BH, Glass EV, San Martin JA. Effects of teriparatide and alendronate on vertebral strength as assessed by finite element modeling of QCT scans in women with osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2007;22:149-57.
64. Schileo E, Taddei F, Malandrino A, Cristofolini L, Viceconti M. Subject-specific finite element models can accurately predict strain levels in long bones. *J Biomech* 2007;40:2982-9.
65. Müller R, Gerber SC, Hayes WC. Micro-compression: a novel technique for the nondestructive assessment of local bone failure. *Technol Health Care* 1998;6:433-44.
66. Nazarian A, Müller R. Time-lapsed microstructural imaging of bone failure behavior. *J Biomech* 2004;37:55-65.
67. Nazarian A, Stauber M, Müller R. Design and implementation of a novel mechanical testing system for cellular solids. *J Biomed Mater Res B - Appl Biomater* 2005;73B:400-11.
68. Nazarian A, Bauernschmitt M, Eberle C, Meier D, Müller R, Snyder BD. Design and validation of a testing system to assess torsional cancellous bone failure in conjunction with time-lapsed micro-computed tomographic imaging. *J Biomech* 2008;41:3496-501.
69. Nazarian A, Stauber M, Zurakowski D, Snyder BD, Müller R. The interaction of microstructure and volume fraction in predicting failure in cancellous bone. *Bone* 2006;39:1196-202.
70. Guede D, Dapía S, Caeiro JR. Relación entre las propiedades biomecánicas y las variaciones locales en la microestructura ósea en cabeza femoral humana osteoporótica. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2010;2(3):11.