



Distribuciones de Microfracturas en Hueso: Efectos de Estrés y Densidad Mineral

Gerardo Presbítero Espinosa, PhD

Investigador Postdoctoral
CINVESTAV, Unidad Monterrey

Esta investigación se desarrolla en la macroestructura y microestructura del hueso, realizando pruebas mecánicas de fatiga en probetas de parte cortical de tibia de bovino (compresión) y tibias enteras de ovino (flexión).

Objetivos de la investigación:

1. Efectos que las variaciones en estreses aplicados y cantidades de materia tienen en el desarrollo de microfracturas en hueso bajo fatiga.
2. Establecer si la generación y crecimiento de microfracturas provoca fractura en hueso, dando las condiciones experimentales y estadísticas para las afirmaciones.
3. Elaboración de un nuevo modelo teórico que involucre factores importantes en el comportamiento mecánico del hueso, como número de ciclos a la fractura, volumen y estrés aplicado, con el uso de descripciones estadísticas y teóricas de desarrollo de microfracturas en huesos.
4. Descripción teórica del comportamiento mecánico y resistencia hacia el desenvolvimiento de fracturas en hueso, considerando la influencia de cantidades de materia bajas y osteoporosis al ser fatigados bajo estreses excesivos.



Una microfractura de hueso puede ser definida como una fisura en la matriz de hidroxiapatita, y estudios dirigidos hacia el análisis de desarrollo de microfracturas en hueso así como diferentes tipos de materiales, han sido realizados por un número considerable de investigaciones. Esta investigación emplea el uso de la técnica chelating agents, para la observación de microfracturas en hueso.

Pruebas de compresión.

Se emplearon pruebas de compresión por fatiga, en probetas de parte cortical de tibia de bovino. 70 MPa a 3 Hz fue el estrés aplicado y comparado con pruebas que realizó el mismo grupo de investigación anteriormente a 80 MPa. Se aplicaron tres colorantes: alizarin complexone, xylenol orange y calcein. La probeta se dejó sumergida en alizarin complexone una noche anterior a la prueba, para asegurar la detección de microfracturas desarrolladas en condiciones *in vivo*. Xylenol orange desde el comienzo de la prueba hasta 50000 ciclos, seleccionando este rango de ciclos entre cambios de tintes para observar el desarrollo de microfracturas a instancias iniciales del proceso de fatiga. Calcein se empleó a partir de los 50000 ciclos hasta la fractura de la probeta o al alcanzar el millón de ciclos, en caso de no fracturar al alcanzarse este rango de ciclos.

El análisis de microfracturas una vez finalizado el proceso de fatiga se realizó tomando cortes transversales de aproximadamente 100-150 μm sobre la parte central de las probetas y observando por microscopía de fluorescencia a $\times 125$ de magnificación. Este análisis se desarrolló:

- Número medio de microfracturas por sección.
- Densidad numérica de microfracturas (número de fracturas por mm^2).
- Densidad superficial de microfracturas (μm de longitud de microfracturas ocurriendo por mm^2).
- Longitud media de microfractura (μm).
- Distribución porcentual de microfracturas.



El correspondiente análisis de microfracturas permitió observar un gradual aumento en las densidades de microfracturas al incrementar el número de ciclos de fatiga, alcanzando un promedio de $105.69 \pm 20.13 \mu\text{m}$ de longitud al fracturar o detener el proceso de fatiga. Bajo fatiga normalizada comparando resultados entre 70 y 80 MPa, se observaron resultados similares entre las longitudes medias entre ambos tipos de estreses aplicados. Una observación adicional en este análisis fue una acumulación importante de microfracturas hasta antes de llegar a los 50000 ciclos, mostrando que existe una generación alta de microfracturas en instancias iniciales del proceso de fatiga.

DXA, Densidad Mineral de Hueso y Pruebas de flexión.

Uso de X-ray absorptiometry (DXA) es efectivo para obtener información de Densidad Mineral de Hueso (BMD). BMD se define como la cantidad de materia contenida en un hueso por unidad de área [g/cm^2]. De huesos escaneados previamente para obtención de BMD, se seleccionaron diez radios de ovino para pruebas de flexión monotónicas y otros diez radios de ovino para pruebas de fatiga. Para ambos casos se hizo una separación de rango de niveles de BMD, tomando tres grupos: contenido de BMD bajo, BMD medio y BMD alto.

Flexión por carga monotónica:

Los diez huesos seleccionados para pruebas monotónicas, se sometieron bajo flexión en tres puntos hasta la fractura a una velocidad de 1 mm/min. Los resultados de estas pruebas permitieron observar fuerzas máximas aplicadas necesarias para fracturar huesos con contenidos bajos de BMD mucho menores a las fuerzas que deben aplicarse para provocar la fractura de huesos con contenidos altos de BMD.

Flexión por fatiga:

Los diez huesos seleccionados para pruebas de flexión por fatiga, se sometieron bajo flexión en cuatro puntos a una carga de 0.9 kN, con la separación de rango de niveles de



BMD similar a como se realizó con los huesos de la pruebas de flexión monotónicas. Similarmente a como se realizó con las probetas de hueso de bovino, se utilizó alizarin complejone para detectar microfracturas *in vivo*, xilenol orange hasta los 300000 ciclos y calcein hasta llegar al millón de ciclos (punto donde se detuvieron las pruebas). Ninguno de estos huesos llegó a la fractura y se hicieron cortes transversales en la parte media del hueso para observar por microscopía de fluorescencia.

Utilizando la ecuación de conversión estrés – fuerza aplicada, se hicieron separaciones de estreses aplicados sobre la parte transversal, para observar microfracturas desarrolladas sobre las áreas en las que estos estreses seleccionados se aplicaron. Los estreses seleccionados para observar desarrollo de microfracturas fueron: $40 \pm 20\%$ MPa, $60 \pm 20\%$ MPa y $80 \pm 20\%$ MPa.

Después de aparecer las microfracturas entre los distintos niveles de BMD sin ninguna separación en condiciones *in vivo*, los resultados obtenidos en densidades de microfracturas con estas pruebas de flexión fue una tendencia de separación entre los distintos niveles de BMD a los 300000 ciclos, llegando a una separación considerable al llegar al millón de ciclos. A contenidos de BMD menores, hubo una mayor densidad de microfracturas generada, apareciendo esta misma tendencia al incrementar los niveles de estrés aplicados sobre los cortes transversales: a mayores estreses aplicados, mayor generación de densidades de microfracturas.

Distribución de longitudes de microfracturas en hueso *in vivo* e *in vitro*.

Se realizó un análisis estadístico de crecimiento de microfracturas por el proceso de fatiga. Utilizando la información experimental de longitudes de microfracturas del presente trabajo y con mediciones de investigadores, quienes cordialmente colaboraron con proporcionar su información, se realizó un análisis por medio de dos distribuciones: Weibull y Gaussiana. La información de microfracturas obtenida incluyó distintas especies de animales, distintos estreses aplicados y números de ciclos (incluyendo condiciones *in vivo*).



La precisión entre la información experimental y las distribuciones mencionadas se realizó utilizando la aproximación Anderson-Darling (AD), donde la aproximación con valor menor aseguraba una mayor precisión. Comparando la información por esta aproximación, se observó un valor AD menor para todos los valores experimentales con distribución Weibull, por lo que se determinó la aproximación Weibull como la distribución más precisa para determinar el crecimiento de microfracturas en la información experimental utilizada.

Distribución Weibull con dos parámetros:

$$P = 1 - e^{-\left(\frac{a}{a_0}\right)^\alpha} \quad \dots(1) \quad a_0 \text{ y } \alpha \text{ constantes.}$$

P es la probabilidad acumulativa, variando entre 0 y 1, α representa la dispersión de la distribución y a_0 representa la longitud característica de microfractura bajo la probabilidad especificada.

Ejecutando una relación lineal sobre la distribución Weibull (1), se calcularon las constantes de ésta, observando una disminución en los valores de α , así como un aumento en los valores de a_0 , al incrementar los valores de número de ciclos de fatiga. Adicionalmente, se determinó un valor a_{max} , en el que se realizó el cálculo de longitud a una probabilidad $P=0.9$. Se obtuvo un valor similar en los valores de a_0 y a_{max} entre estreses distintos (70 y 80 MPa) al finalizar el ciclo de fatiga, indicando valores similares en las constantes de longitud característica al detener el proceso de fatiga entre estos dos estreses distintos.



Microfracturas en hueso: Nuevo modelo teórico en predicciones de fatiga.

Siguiendo un proceso por medio de sustituciones, empleando los siguientes planteamientos:

Una muestra de hueso, volumen (V), contiene un número determinado de microfracturas, n , dando una densidad n/V .

La distribución Weibull (1) puede ser expresada en una relación que depende del estrés aplicado ($\Delta\sigma$), número de ciclos (N), densidad de microfracturas (n/mm^3), valor característico de longitud de microfractura (a_0) y tipo de hueso (especie).

Dadas n microfracturas en un volumen V , la longitud de la fractura más larga, a_{max} , será una función de n :

$$a_{max} = f(n) \text{ o alternativamente: } n = g(a_{max})$$

La densidad numérica de microfracturas ($\#$) es el número de microfracturas por unidad de volumen: $\# = n/V$.

Densidad numérica es una relación potencial con número de ciclos (N):

$$\#^k = \beta N \quad \dots (2)$$

β es una constante actuando como función de $\Delta\sigma$.

Se obtiene la siguiente relación:

$$N_f = \frac{1}{\beta} \left(\frac{g(a_{max})}{V} \right)^k = \frac{1}{\beta} \left\{ \frac{\ln \varphi}{V} \left[\ln \left[1 - e^{-\left(\frac{a_{max}}{a_0} \right)^\alpha} \right] \right]^{-1} \right\}^k \quad \dots (3)$$

Y con el uso de rango de intensidad de estrés (ΔK) es aplicado con el uso de (a_{max}):

$$\Delta K = F \Delta \sigma \sqrt{\pi a}$$

La fractura ocurre cuando ésta alcanza un valor crítico ΔK_{max}



Se obtienen las siguientes relaciones:

$$N_f = \frac{1}{\beta} \left[\frac{\ln \varphi}{V \ln \Phi} \right]^k \quad \dots (4)$$

Siendo:

$$\Phi = 1 - e^{-\left(\frac{\Delta K_{\max}^2}{a_0 \pi \Delta \sigma^2} \right)^\alpha}$$

$$V = \frac{\ln \varphi}{(N_f \beta)^{1/k}} [\ln \Phi]^{-1} \quad \dots (5)$$

Estas ecuaciones dan relaciones precisas para las variables N_f , V y σ_0 , relacionando con valores experimentales para la predicción de fractura de huesos, siendo utilizadas las constantes Weibull de los huesos fracturados en la presente investigación.

Microfracturas en hueso: Predicciones con influencia de BMD y osteoporosis en fractura de hueso.

Se realizó un análisis de variabilidad de microfracturas comparando los huesos con bajos y altos niveles de BMD.

Bajo el siguiente planteamiento:

$$\#^k = \gamma N$$

γ es una constante actuando como función de niveles BMD conteniendo el hueso en caso, siguiendo un comportamiento potencial. Con el uso de las ecuaciones recién presentadas (4, 5) se obtienen relaciones $\Delta\sigma$ vs N_f y se dan relaciones con variabilidad de niveles de BMD bajo la constante γ .

El número de microfracturas desarrolladas en huesos con bajos niveles de BMD, será considerablemente mayor a las desarrolladas en niveles de BMD altos, con el uso de las ecuaciones (4, 5) y las constantes Weibull al momento de la fractura de los huesos utilizados en los experimentos desarrollados en el presente estudio, se observó que las fracturas en hueso por fatiga no son provocadas por acumulación de microfracturas de longitudes cortas, sino por una microfractura que alcanzará una longitud característica,



provocando la fractura del mismo. Al aumentar la longitud característica (disminución de niveles de BMD), las propiedades mecánicas del hueso se reducirán.

Con el uso del modelo presentado, se permite elaborar predicciones de resistencia de hueso integrado por niveles de BMD considerablemente bajos, como son huesos afectados por osteoporosis. Las fracturas por fatiga evolucionan en afectaciones más serias y lesiones en las que incluso se arriesga la vida, por tal razón el modelo teórico podrá ser empleado para desarrollar tratamientos clínicos y prevención de fracturas por fatiga en humanos afectados por osteoporosis.

Conclusiones de la investigación:

1. Estreses por fatiga causan generación de microfracturas en hueso, desarrollando acumulaciones de densidades de microfracturas e incrementos en las longitudes.
2. Incremento en los estreses aplicados y reducción en los niveles BMD resultan en incremento en las acumulaciones de microfracturas.
3. La fractura en el hueso es provocada por una microfractura que crece hacia una longitud característica.
4. Se presenta un modelo teórico novedoso que predice número de ciclos a la fractura, volumen y estrés aplicado, en una sola ecuación.
5. Niveles considerablemente bajos de BMD y huesos con osteoporosis desarrollarán fracturas por fatiga en condiciones *in vivo*, al ser sometidos a regímenes excesivos de ejercicio.
6. El modelo presentado permite la creación de tratamientos clínicos para prevenir regímenes de ejercicio excesivos en huesos de humanos afectados por osteoporosis.
7. Se pueden desarrollar predicciones de fractura por fatiga involucrando número de ciclos a la fractura, estrés y volumen para cualquier material en general, con el uso del modelo presentado y su correspondiente análisis de microfracturas.