



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Industrial

Diseño de un sustituto óseo de estructura triplemente
periódica para el tratamiento de defectos óseos de grandes
dimensiones

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Ingeniería Biomédica

AUTOR/A: Fresquet Monter, Andrea

Tutor/a: Vercher Martínez, Ana

Cotutor/a: Belda González, Ricardo

CURSO ACADÉMICO: 2022/2023



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



ESCOLA TÈCNICA
SUPERIOR ENGINYERIA
INDUSTRIAL VALÈNCIA

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS
INDUSTRIALES

MÁSTER EN INGENIERÍA BIOMÉDICA
TRABAJO FIN DE MÁSTER

**DISEÑO DE UN SUSTITUTO ÓSEO DE
ESTRUCTURA TRIPLEMENTE
PERIÓDICA PARA EL TRATAMIENTO
DE DEFECTOS ÓSEOS DE GRANDES
DIMENSIONES**

AUTORA

ANDREA FRESQUET MONTER

TUTORES

RICARDO BELDA GONZÁLEZ

ANA VERCHER-MARTÍNEZ

CURSO ACADÉMICO 2022/23

AGRADECIMIENTOS

Ante todo, quiero agradecer a mi familia su infinito apoyo y confianza. Gracias por enseñarme a ser quien soy, por creer en mí, por hacer cada recuerdo eterno. Simplemente, gracias.

En segundo lugar, quiero agradecer a mis tutores, Ricardo Belda y Ana Vercher-Martínez, su constante ayuda, paciencia y motivación. Gracias por compartir vuestros conocimientos conmigo y ofrecerme esta gran oportunidad.

Por último, pero no menos importante, quiero agradecer a mis mejores amigos por cada aventura, risa y lágrima. Gracias por entendernos sin palabras.

Danke für ein blühendes Leben.

RESUMEN

La osteoporosis es la enfermedad más común del hueso y se produce debido a una descompensación en la remodelación ósea, predominando la reabsorción frente a la formación ósea, lo que produce una disminución de la masa de hueso junto con un deterioro y alteración de la microarquitectura ósea. En consecuencia, provoca la reducción de la resistencia mecánica del hueso y, por ende, el aumento del riesgo de fracturas. Para poder ralentizar los síntomas de la osteoporosis, existen tratamientos farmacológicos que promueven la formación ósea e inhiben la reabsorción, potenciando así el aumento de masa ósea. No obstante, se ha estimado que un 40 % de mujeres postmenopáusicas y un 30 % de hombres sufrirán en algún momento de su vida una fractura osteoporótica.

Además de las fracturas causadas por la osteoporosis, también se pueden producir defectos óseos de gran tamaño por traumatismos, resecciones tumorales o infecciones. El gran problema de estas fracturas reside en que, al ser tan grandes, los mecanismos de regeneración ósea inherentes del hueso no pueden combatir y reparar esos defectos. De esta manera, existen estrategias terapéuticas para combatir este tipo de fracturas. Entre ellos, se encuentran los mecanismos de fijación externa e interna, pero, al no estar adaptados a la microestructura del hueso, pueden dar lugar a consolidaciones óseas defectuosas, a cicatrizaciones inadecuadas o incluso a falta de unión ósea. En consecuencia, los injertos óseos son la terapia por excelencia en el tratamiento de defectos óseos de gran tamaño. Sin embargo, éstos han sido asociados a infecciones, fallos estructurales y faltas de unión ósea. De este modo, debido a los límites que presentan los tratamientos actuales, el punto de mira de la ingeniería de tejidos está focalizada en el desarrollo de sustitutos óseos porosos y sintéticos.

Dentro de las diferentes estructuras porosas, las estructuras reticulares triplemente periódicas de mínima superficie (TPMS) han demostrado mejorar la migración celular y preservar en alta medida la integridad mecánica y estructural. Además, poseen una interesante interconectividad de poros en su configuración, la cual ha sido asociada con una alta regeneración ósea, vascularización y reabsorción del material. Asimismo, las estructuras TPMS poseen una geometría de curvas suaves y curvatura media nula, lo que ha demostrado disminuir la concentración de tensiones, permitiendo así distribuir más uniformemente los esfuerzos mecánicos entre el hueso y el implante, cosa que puede ser beneficiosa en el proceso de remodelación ósea.

De este modo, este Trabajo Fin de Máster va a diseñar andamios paciente-específicos basados en estructuras TPMS, con el fin de optimizar su microestructura y comportamiento mecánico y así proporcionar un ambiente mecánico estable para la regeneración de hueso en defectos óseos de gran tamaño.

Palabras clave: Defectos óseos; fracturas óseas; estructura TPMS; andamio TPMS; PLA; morfometría; ensayos mecánicos; rigidez aparente; elementos finitos.

RESUM

L'osteoporosi és la malaltia més comuna de l'os i es produeix a causa d'una descompensació en la remodelació òssia, predominant la reabsorció enfront de la formació òssia, la qual cosa produeix una disminució de la massa d'os juntament amb una deterioració i alteració de la microarquitectura òssia. En conseqüència, provoca la reducció de la resistència mecànica de l'os i, per tant, l'augment del risc de fractures. Per a poder alenir els símptomes de l'osteoporosi, existeixen tractaments farmacològics que promouen la formació òssia i inhibeixen la reabsorció, potenciant així l'augment de massa òssia. No obstant això, s'ha estimat que un 40 % de dones postmenopàusiques i un 30 % d'homes patiran en algun moment de la seua vida una fractura osteoporòtica.

A més de les fractures causades per l'osteoporosi, també es poden produir defectes ossis de gran tamany per traumatismes, reseccions tumorals o infeccions. El gran problema d'aquestes fractures resideix en què, en ser tan grans, els mecanismes de regeneració òssia inherents de l'os no poden combatre i reparar aqueixos defectes. D'aquesta manera, existeixen estratègies terapèutiques per a combatre aquest tipus de fractures. Entre elles, es troben els mecanismes de fixació externa i interna, però, al no estar adaptats a la microestructura de l'os, poden donar lloc a consolidacions òssies defectuoses, a cicatritzacions inadequades o fins i tot faltant unió òssia. En conseqüència, els empelts ossis són la teràpia per excel·lència en el tractament de defectes ossis de gran tamany. No obstant això, aquests han sigut associats a infeccions, fallades estructurals i faltes d'unió òssia. D'aquesta manera, a causa dels límits que presenten els tractaments actuals, el punt de mira de l'enginyeria de teixits està focalitzat en el desenvolupament de substituïts ossis porosos i sintètics.

Dins de les diferents estructures poroses, les estructures reticulars triplement periòdiques de mínima superfície (TPMS) han demostrat millorar la migració cel·lular i preservar en alta mesura la integritat mecànica i estructural. A més, posseeixen una interessant interconnectivitat de porus en la seua configuració, la qual ha sigut associada amb una alta regeneració òssia, vascularització i reabsorció del material. Així mateix, les estructures TPMS posseeixen una geometria de corbes suaus i curvatura mitjana nul·la, la qual cosa ha demostrat disminuir la concentració de tensions, permetent així distribuir més uniformement els esforços mecànics entre l'os i l'implant, cosa que pot ser beneficiosa en el procés de remodelació òssia.

D'aquesta manera, aquest Treball de Fi de Màster dissenyarà bastides pacient-específiques basats en estructures TPMS, amb la finalitat d'optimitzar la seua microestructura i comportament mecànic i així proporcionar un ambient mecànic estable per a la regeneració d'os en defectes ossis de gran tamany.

Paraules clau: Defectes ossis; fractures òssies; estructura TPMS; bastida TPMS; PLA; morfometria; assajos mecànics; rigidesa aparent; elements finits.

ABSTRACT

Osteoporosis is the most common bone disease and is caused by an imbalance in bone remodelling, with resorption predominating over bone formation, resulting in a decrease in bone mass together with a deterioration and alteration of bone microarchitecture. As a result, it leads to a reduction in the mechanical strength of the bone and, therefore, an increased risk of fractures. In order to slow down the symptoms of osteoporosis, there are pharmacological treatments that promote bone formation and inhibit bone resorption, thus enhancing the increase in bone mass. However, it has been estimated that 40 % of postmenopausal women and 30 % of men will suffer an osteoporotic fracture at some point in their lives.

In addition to fractures caused by osteoporosis, large bone defects can also be caused by trauma, tumour resection or infection. The main complication with these fractures is that because they are so large, the bone's inherent bone regeneration mechanisms cannot repair these defects. Therefore, there exist therapeutic strategies to fight these types of fractures. These include external and internal fixation mechanisms, but because they are not adapted to the bone microstructure, they can lead to defective bone consolidation, inadequate healing or even bone non-union. Consequently, bone grafts are the therapy of choice for the treatment of large bone defects. However, they have been associated with infection, structural failure, and bone non-union. Thus, due to the limits of current treatments, the focus of tissue engineering is on the development of porous and synthetic bone substitutes.

Among the different porous structures, triple periodic minimum surface area (TPMS) reticular structures have been shown to improve cell migration and to preserve mechanical and structural integrity to a high degree. In addition, they possess an interesting pore interconnectivity in their configuration, which has been associated with high bone regeneration, vascularisation, and material resorption. Furthermore, TPMS structures have a geometry with smooth curves and zero mean curvature, which has been shown to decrease stress concentration, thus allowing mechanical stresses to be more homogeneously distributed between the bone and the implant, which may be beneficial in the bone remodelling process.

Thus, this Master's Thesis will design patient-specific scaffolds based on TPMS structures in order to optimise their microstructure and mechanical behaviour and thus, provide a stable mechanical environment for bone regeneration in large bone defects.

Keywords: Bone defects; bone fractures; TPMS structure; TPMS scaffold; PLA; morphometry; mechanical tests; apparent stiffness; finite elements.

CONTENIDO TRABAJO FIN DE MÁSTER

DOCUMENTO I: MEMORIA

DOCUMENTO II: ANEXOS

DOCUMENTO III: PRESUPUESTO

DOCUMENTO I: MEMORIA

**DISEÑO DE UN SUSTITUTO ÓSEO DE
ESTRUCTURA TRIPLEMENTE
PERIÓDICA PARA EL TRATAMIENTO
DE DEFECTOS ÓSEOS DE GRANDES
DIMENSIONES**

AUTORA

ANDREA FRESQUET MONTER

TUTORES

RICARDO BELDA GONZÁLEZ

ANA VERCHER-MARTÍNEZ

CURSO ACADÉMICO 2022/23

ÍNDICE

DOCUMENTO I: MEMORIA

LISTA DE ECUACIONES	III
LISTA DE FIGURAS.....	IV
LISTA DE TABLAS	VII
LISTA DE ABREVIATURAS	VIII
CAPÍTULO 1.....	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1. MOTIVACIÓN.....	1
1.2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS TRABAJO FIN DE MÁSTER.....	4
1.3. ORGANIZACIÓN TRABAJO FIN DE MÁSTER	5
CAPÍTULO 2.....	7
ESTADO DEL ARTE	7
2.1. EL TEJIDO ÓSEO.....	7
2.2. OSTEOPOROSIS	10
2.3. DEFECTOS ÓSEOS	13
2.4. ESTRUCTURAS TRIPLEMENTE PERIÓDICAS DE MÍNIMA SUPERFICIE	16
CAPÍTULO 3.....	20
METODOLOGÍA.....	20
CAPÍTULO 4.....	21
ESTUDIO 1: CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA DE HUESO TRABECULAR.....	21
4.1. INTRODUCCIÓN	21
4.2. IMÁGENES μ CT DE HUESO TRABECULAR	21
4.3. SEGMENTACIÓN	21
4.4. ANÁLISIS MORFOMÉTRICO DEL HUESO TRABECULAR.....	22
4.4.1. Fracción en volumen (BV/TV)	22
4.4.2. Relación superficie-volumen (BS/BV).....	23
4.4.3. Espesor trabecular medio (Tb.Th).....	23
4.4.4. Separación media trabecular (Tb.Sp)	24
4.4.5. Número de trabéculas (Tb.N)	24
4.4.6. Grado de anisotropía (DA)	24
4.4.7. Dimensión fractal (D).....	26
4.4.8. Densidad de conectividad (Conn.D)	26
4.5. RESULTADOS ESTUDIO 1: CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA HUESO TRABECULAR	27
4.6. CONCLUSIONES ESTUDIO 1: CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA HUESO TRABECULAR	28
CAPÍTULO 5.....	29
ESTUDIO 2: EVALUACIÓN DEL TAMAÑO DE CELDA UNIDAD EN TPMS	29
5.1. INTRODUCCIÓN	29
5.2. DEFINICIÓN DE LA GEOMETRÍA Y TAMAÑO DE LAS CELDAS UNIDAD.....	29
5.3. GENERACIÓN DE MODELOS Y ANÁLISIS MORFOMÉTRICO ESTRUCTURAS TPMS	31
5.4. RESULTADOS ESTUDIO 2: EVALUACIÓN DEL TAMAÑO DE CELDA UNIDAD EN TPMS	31

5.5. CONCLUSIONES ESTUDIO 2: EVALUACIÓN DEL TAMAÑO DE CELDA UNIDAD EN TPMS	34
CAPÍTULO 6.....	35
ESTUDIO 3: ANÁLISIS DEL EFECTO DE LA FRACCIÓN EN VOLUMEN EN LA MORFOMETRÍA Y RESPUESTA MECÁNICA DE ESTRUCTURAS TPMS.....	35
6.1. INTRODUCCIÓN	35
6.2. DISEÑO ESTRUCTURAS TPMS	35
6.3. GENERACIÓN DE LOS MODELOS Y ANÁLISIS MORFOMÉTRICO ESTRUCTURAS TPMS	37
6.4. PREPARACIÓN ESTRUCTURAS TPMS	38
6.4.1. Fabricación aditiva (AM).....	38
6.4.2. Procedimiento de impresión 3D.....	40
6.5. CARACTERIZACIÓN MECÁNICA EXPERIMENTAL DE LAS ESTRUCTURAS TPMS	41
6.6. CARACTERIZACIÓN MECÁNICA NUMÉRICA DE LAS ESTRUCTURAS TPMS	42
6.6.1. Análisis y resultados de la sensibilidad de malla	43
6.6.2. Procedimiento caracterización numérica	45
6.7. RESULTADOS ESTUDIO 3: ANÁLISIS DEL EFECTO DE LA FRACCIÓN EN VOLUMEN EN LA MORFOMETRÍA Y RESPUESTA MECÁNICA DE ESTRUCTURAS TPMS	46
6.7.1. Resultados morfométricos	46
6.7.2. Resultados mecánicos	50
6.8. CONCLUSIONES ESTUDIO 3: ANÁLISIS DEL EFECTO DE LA FRACCIÓN EN VOLUMEN EN LA MORFOMETRÍA Y RESPUESTA MECÁNICA DE ESTRUCTURAS TPMS	54
CAPÍTULO 7:	57
ESTUDIO 4: EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN ANDAMIO TPMS-HUESO.....	57
7.1. INTRODUCCIÓN	57
7.2. CORTES DE HUESO TRABECULAR	57
7.2.1. Obtención cortes	57
7.2.2. Análisis morfométrico	58
7.2.2.1. Resultados análisis morfométrico	58
7.2.3. Caracterización mecánica numérica	58
7.2.3.1. Resultados caracterización mecánica numérica.....	59
7.3. CALIBRACIÓN RIGIDEZ Y ELECCIÓN ESTRUCTURAS TPMS.....	60
7.4. CONSTRUCTO TPMS-HUESO TRABECULAR	62
7.4.1. Generación de modelos TPMS-hueso trabecular	62
7.4.2. Caracterización mecánica numérica	63
7.5. RESULTADOS ESTUDIO 4: EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN ANDAMIO TPMS-HUESO	64
7.6. CONCLUSIONES.....	68
CAPÍTULO 8.....	70
CONCLUSIONES.....	70
CAPÍTULO 9.....	72
DIRECCIONES FUTURAS	72
BIBLIOGRAFÍA.....	74

LISTA DE ECUACIONES

Ecuación 2.1. Función matemática para la geometría diamante.....	17
Ecuación 2.2. Función matemática para la geometría primitiva.....	18
Ecuación 4.1. Fracción en Volumen.....	23
Ecuación 4.2. Relación superficie-volumen (BS/BV).	23
Ecuación 4.3. Número de trabéculas.....	24
Ecuación 4.4. Cálculo de la longitud de intersección media (MIL).....	25
Ecuación 4.5. Ecuación Euler-Poincaré.....	26
Ecuación 4.6. Densidad de conectividad.....	26
Ecuación 6.1. Función matemática AFM_1	35
Ecuación 6.2. Función matemática AFM_2	35
Ecuación 6.3. Función matemática AFM_3	35
Ecuación 6.4. Cálculo del factor de calibración.....	46
Ecuación 6.5. Cálculo del módulo de Young real de PLA.....	46
Ecuación 6.6. Cálculo rigidez aparente numérica real a compresión de cada estructura TPMS.	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Estructura del hueso.....	1
Figura 1.2. Estructura microscópica de hueso trabecular normal y osteoporótico.	2
Figura 1.3. Diagrama de los estudios junto con sus propósitos con la finalidad de obtener un posible sustituto óseo TPMS.	5
Figura 2.1. Mecanismo celular de remodelación ósea.....	7
Figura 2.2. Anatomía macroscópica del fémur.	8
Figura 3.3. Geometría macroscópica de una cabeza de fémur (A), microarquitectura del tejido trabecular (B) y estructura microscópica del tejido cortical (C).	9
Figura 2.4. Imágenes μ CT de hueso trabecular del centro de la vértebra lumbar L2 de una mujer sana y otra con osteoporosis.....	11
Figura 2.5. Radiografía de una fractura atípica de fémur en mitad de la diáfisis.....	12
Figura 2.6. Mecanismo de regeneración y autorreparación ósea frente a defectos de pequeño tamaño.	13
Figura 2.7. Utilización de un injerto óseo autólogo para rellenar un defecto tibial tras producirse falta de unión ósea resultante de un mecanismo de fijación ósea.....	15
Figura 2.8. Estructuras TPMS tipo <i>sheet</i> diamante obtenidas con el software <i>MSLattice</i>	17
Figura 2.9. Estructuras TPMS tipo <i>sheet</i> y <i>solid</i> primitiva obtenidas con el software <i>MSLattice</i>	19
Figura 3.1. Metodología seguida en el TFM.	20
Figura 4.1. Proceso de segmentación de una imagen μ CT de hueso trabecular sano mediante el software <i>ScanIP</i> seguido en el TFM.....	22
Figura 4.2. Definición de Tb.Th de una trabécula.....	23
Figura 4.3. Corte 2D del espécimen óseo sano representando Tb.Th.....	24
Figura 4.4. Corte 2D del espécimen óseo sano representando Tb.Sp.....	24
Figura 4.5. Método de longitud de intersección media (MIL).....	25
Figura 4.6. Aplicación del método MIL a una imagen μ CT de hueso trabecular.	26
Figura 4.7. Algoritmo de conteo de cajas.....	26
Figura 4.8. Cortes 2D de imágenes de hueso trabecular sano y osteoporótico obtenidos con <i>ImageJ-BoneJ</i>	28
Figura 5.1. Interfaz de <i>MSLattice</i> en la creación de estructuras TPMS giroides	30
Figura 5.2. Diseños de las 5 estructuras TPMS giroides obtenidas con el programa <i>MSLattice</i>	31
Figura 5.3. Relaciones entre las características morfométricas de las TPMS con el tamaño de las celdas unidad.	34
Figura 6.1. Interfaz <i>MSLattice</i> para el diseño de AFM ₁ con una fracción del 10 %.	37
Figura 6.2. Estructuras TPMS con una fracción en volumen de 10 %.	37

Figura 6.3. Procedimiento de generación de la estructura TPMS AFM ₃ con una fracción en volumen de 31 % seguido en este TFM.....	38
Figura 6.4. Método de impresión 3D basado en extrusión.....	39
Figura 6.5. Fabricación estructuras TPMS AFM ₃	41
Figura 6.6. Ensayo estático a compresión de una estructura TPMS Giroide con una fracción en volumen de 40 %.....	42
Figura 6.7. Parámetros mecánicos determinados mediante la gráfica tensión-deformación de la muestra 1 de la estructura TPMS Giroide con una fracción en volumen de 40 %.....	42
Figura 6.8. Relación entre la norma energética de ALLIE y el tamaño característico del elemento de malla.....	44
Figura 6.9. Malla escogida tras el análisis de sensibilidad de malla.....	45
Figura 6.10. Modelos 3D de elementos finitos de las estructuras Giroide, AFM ₁ , AFM ₂ , AFM ₃ de izquierda a derecha con una fracción en volumen de 40 %.....	45
Figura 6.11. Variación de las características microestructurales de AFM ₁ cambiando la fracción en volumen.....	48
Figura 6.12. Relación superficie-volumen reticular en función de la fracción en volumen de las 16 configuraciones TPMS.....	49
Figura 6.13. Espesor reticular medio en función de la fracción en volumen.....	49
Figura 6.14. Número reticular en función de la fracción en volumen.....	50
Figura 6.15. Separación media trabecular en función de la fracción en volumen.....	50
Figura 6.16. Intento de fabricación de estructura TPMS AFM ₁ con una fracción en volumen de 10 %.....	51
Figura 6.17. Relación entre la tensión de fallo y rigidez aparentes a compresión para las estructuras TPMS fabricadas y analizadas.....	52
Figura 6.18. Imagen tomada con el programa <i>VIC-2D Digital Image Correlation</i> de la estructura TPMS AFM ₁ con una fracción en volumen de 40 % sometida a un ensayo a compresión.....	54
Figura 6.19. Modelos de elementos finitos antes (izquierda) y después (derecha) de aplicar un desplazamiento del 5 % en dirección z en el modelo 3D de una estructura AFM ₁ con fracción en volumen de 40 %.....	54
Figura 6.20. Relación lineal entre la fracción en volumen y la rigidez y tensión de fallo promedio aparentes a compresión.....	56
Figura 7.1. Localizaciones 2D de los cortes tomados de los especímenes de hueso trabecular.....	58
Figura 7.2. Modelos 3D de los cortes de hueso trabecular sano (izquierda) y osteoporótico (derecha).....	59
Figura 7.3. Generación de un modelo 3D del constructo osteoporótico AFM ₁ de 10 % mediante <i>ScanIP</i>	63
Figura 7.4. Modelos 3D de constructos de hueso trabecular sano.....	64
Figura 7.5. Distribución de tensiones de von Mises en el constructo sano con AFM ₃ de 40 % de la cara más crítica.....	65

Figura 7.6. Distribución de tensiones de von Mises en el constructo sano con AFM ₁ de 31 % de la cara más crítica.....	66
Figura 7.7. Distribución de la tensión de von Mises en dos modelos 3D de constructos de hueso trabecular osteoporótico en sus caras más críticas.	67
Figura 7.8. Distribución de la tensión de von Mises en dos modelos 3D de constructos de hueso trabecular sano y osteoporótico en sus caras más críticas.	68

LISTA DE TABLAS

Tabla 4.1. Resultados caracterización morfométrica hueso trabecular sano y osteoporótico ...	27
Tabla 5.1. Resultados análisis morfométrico TPMS giroide	32
Tabla 6.1. Isovalores c para la definición de las geometrías TPMS	36
Tabla 6.2. Resultados análisis de sensibilidad de malla	43
Tabla 6.3. Parámetros de malla utilizados para la caracterización numérica de las estructuras TPMS	44
Tabla 6.4. Resultados del análisis morfométrico del Estudio 3	48
Tabla 6.5. Resultados mecánicos experimentales Estudio 3	51
Tabla 6.6. Comparación rigideces aparentes numéricas y experimentales	53
Tabla 7.1. Resultados morfométricos de los cortes de hueso trabecular y las muestras completas	58
Tabla 7.2. Rigidez aparente numérica cortes de hueso trabecular	60
Tabla 7.3. Rigidez aparente estructuras TPMS de PLA y PLA40Cáñamo y de cortes de hueso trabecular	61
Tabla 7.4. Resumen de la morfometría y propiedades mecánicas de AFM ₁ 10 % y 31 % y AFM ₃ 40 %	62
Tabla 7.5. Rigidez total constructos hueso-TPMS.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS

Ácido poliláctico	PLA
Ácido poliglicólico	PGA
Densidad de conectividad	Conn.D
<i>Digital Image Correlation</i>	DIC
Dimensión fractal	D
Espesor medio trabecular	Tb.Th
Espesor medio reticular	Ret.Th
Estereolitografía	STL
Estructura triplemente periódica de mínima superficie	Estructura TPMS
Fabricación aditiva	AM
Fracción en volumen	BV/TV
Fracción en volumen reticular	TPMS_V/TV
Grado de anisotropía	DA
Instituto de Ingeniería Mecánica y Biomecánica	I2MB
Longitud de intersección media	MIL
Modelos de elementos finitos	Modelos EF
Número de trabéculas	Tb.N
Número de retículas	Ret.N
PLA con 40 % en peso de cáñamo	PLA40Cáñamo
Policaprolactona	PCL
Relación superficie-volumen óseo	BS/BS
Relación superficie-volumen reticular	TPMS_S/TPMS_V
Separación media trabecular	Tb.Sp
Separación media reticular	Ret.Sp
Trabajo Fin de Máster	TFM

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1. MOTIVACIÓN

El hueso es un tejido conectivo mineralizado que brinda al cuerpo funciones como la locomoción, el soporte mecánico, la protección a los órganos y el almacenamiento de calcio y fósforo [1]. En el esqueleto se pueden diferenciar dos tipos de tejido óseo: el hueso cortical y el hueso trabecular. El hueso cortical es un tejido óseo compacto de baja porosidad, que se caracteriza por una alta resistencia, mientras que el hueso trabecular es un tejido óseo altamente poroso formado por unas estructuras horizontales y verticales denominadas trabéculas, las cuales le confieren un aspecto esponjoso [2, 3]. Éstas son fundamentales en la microarquitectura del hueso, ya que permiten la distribución y transmisión de cargas mecánicas, además de la absorción de energía, contribuyendo así a la función de soporte mecánico del hueso [3]. De esta manera, aunque tanto el tejido cortical como trabecular tienen la misma composición, difieren en estructura y, por tanto, en función [3]. En la Figura 1.1., se puede observar la macroestructura de los dos tejidos óseos de un hueso largo, así como la arquitectura trabecular del hueso esponjoso.

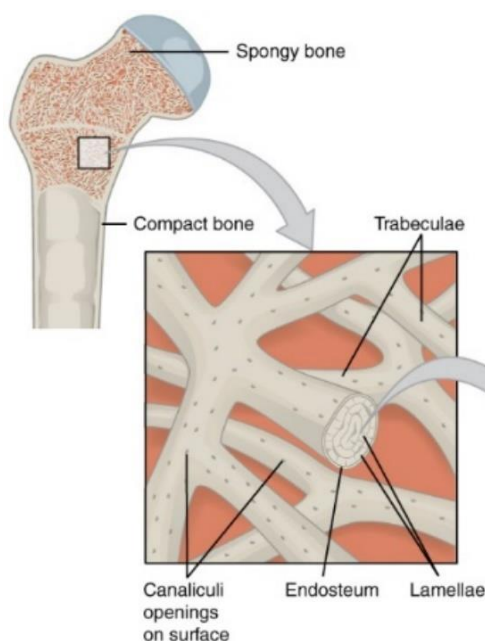


Figura 1.1. Estructura del hueso. En la imagen se puede observar la macroestructura cortical y trabecular (arriba) y la microestructura trabecular (abajo en el recuadro). *Adaptado de [4].*

A pesar de su apariencia, el hueso es un órgano en continuo cambio a causa de un mecanismo biológico denominado remodelación ósea [1]. Éste es un proceso cíclico que consiste en la reabsorción y formación de hueso, siendo especialmente necesario para la cicatrización de fracturas y la adaptación del esqueleto a cargas mecánicas, además de para la conservación de la homeostasis de calcio [1]. Sin embargo, se pueden producir desequilibrios entre estos dos mecanismos, apareciendo de este modo enfermedades como, por ejemplo, la osteoporosis [1].

La osteoporosis es la enfermedad ósea más común en la sociedad y tiene lugar debido a una mayor actividad de reabsorción que formación de hueso en el proceso de remodelación ósea, resultando en una reducción de la masa ósea y un deterioro y alteración de la microarquitectura del hueso (ver Figura 1.2.) [1, 5]. Estas tres características provocan la disminución de la resistencia mecánica del hueso y, por consiguiente, el aumento del riesgo de fracturas óseas [5]. Aunque la osteoporosis puede surgir a cualquier edad en ambos géneros, en su mayoría es una enfermedad ligada a la edad que afecta típicamente más a mujeres que a hombres [6]. En concreto en la Unión Europea, se ha estimado que cerca de 5.5 millones de hombres y 22 millones de mujeres tienen osteoporosis, provocando anualmente 3.5 millones de fracturas óseas, las cuales disminuyen significativamente la calidad de vida de los que las padecen y pueden incluso producir la muerte en casos severos [7, 8]. Dichas fracturas pueden ocurrir en cualquier zona del esqueleto, pero primordialmente se localizan en los extremos proximales del fémur¹ y húmero², el extremo distal del radio y la columna vertebral [9]. Para prevenir las fracturas por fragilidad ósea se recomienda, inicialmente, tener un estilo de vida activo, realizar actividades con soporte de peso, tomar suplementos nutricionales adecuados (como calcio y Vitamina D) y dejar de fumar y tomar alcohol [10]. Posteriormente, dependiendo de la densidad ósea, existen diferentes tratamientos farmacológicos que aumentan la masa y resistencia ósea, inhibiendo la actividad osteoclástica y potenciando la formación ósea [10]. El fármaco por excelencia para el tratamiento de la osteoporosis es el bifosfonato, aunque su uso está limitado a 10 años vía oral y a 6 años con ácido zoledrónico vía intravenosa debido a efectos secundarios. Otra terapia farmacológica es la teriparatida, pero su uso está aprobado para 2 años, ya que su efecto disminuye pasado ese periodo de tiempo [11]. De esta manera, debido a que las terapias farmacológicas de corto-medio plazo no consiguen parar la disminución de masa ósea causada por la osteoporosis, se estima que 1 de cada 3 mujeres mayores de 50 años y 1 de cada 5 hombres sufrirán fracturas osteoporóticas a lo largo de su vida [5].

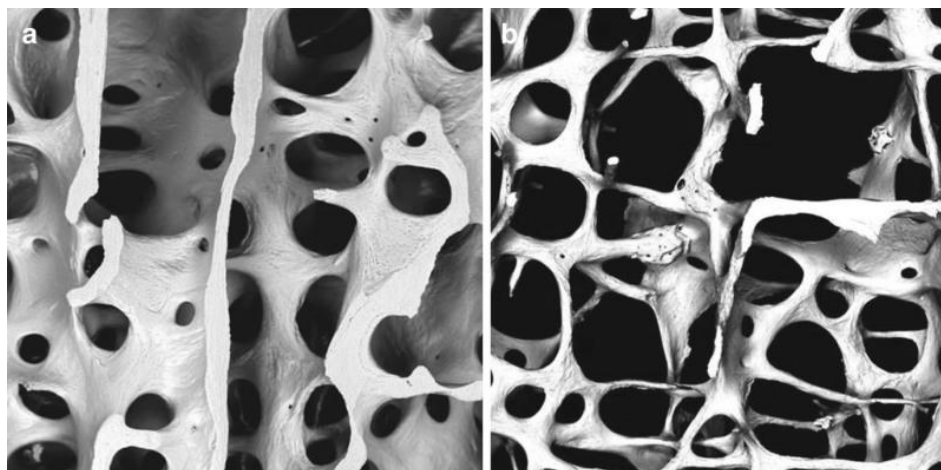


Figura 1.2. Estructura microscópica de hueso trabecular normal y osteoporótico. (a) Hueso sano. (b) Hueso osteoporótico. Extraído de [12].

¹ El extremo proximal del fémur engloba la cabeza y el cuello del fémur, zona que conecta con la articulación de la cadera.

² El extremo proximal del húmero engloba la cabeza del húmero, donde articula con la escápula.

Aparte de las fracturas causadas por enfermedades como la osteoporosis, también se pueden producir defectos óseos de gran tamaño por traumatismos, resecciones tumorales o infecciones [13]. Estos defectos se caracterizan por tener un tamaño mayor de 2 cm y una pérdida ósea del tejido circundante de más del 50 %, siendo demasiado grandes como para ser combatidos por los mecanismos intrínsecos de regeneración y autorreparación del hueso [14]. Dentro de las estrategias terapéuticas para defectos óseos de gran tamaño, se encuentran primeramente los mecanismos de fijación externa e interna, como los tornillos óseos, las placas óseas o los tornillos intramedulares [15]. El gran inconveniente de éstos es que no están adaptados a la estructura porosa curvada del hueso de cada paciente, por lo que finalmente aumentan la incidencia de complicaciones durante y después de la operación [15]. Entre éstas destacan las consolidaciones óseas defectuosas, la cicatrización inadecuada o incluso la falta de unión ósea, la cual representa el 5 % - 10 % de los casos [16, 17]. Además, la mayor parte de estos implantes son rígidos y sólidos, poseyendo así propiedades mecánicas desfavorables para el tejido óseo adyacente [15]. En consecuencia, los injertos óseos son actualmente la terapia por excelencia de defectos óseos de gran tamaño [13]. Dichos injertos se pueden clasificar en autólogos (del propio paciente), alogénicos (de otro humano) o xenogénicos (derivado de un animal), cuya selección depende de factores como la geometría, tamaño o las características mecánicas y biológicas del injerto [13]. Sin embargo, tanto los injertos autólogos como los alogénicos están asociados con altas tasas de falta de unión ósea, infecciones y fallos estructurales del injerto, además de la imposibilidad de conseguir la forma anatómica precisa del defecto óseo [18]. Por su lado, los injertos xenogénicos pueden transmitir enfermedades y producir rechazo inmunológico [13]. En consecuencia, el punto de mira de la ingeniería de tejidos actualmente está focalizada en sustitutos sintéticos efectivos y fáciles de fabricar [19, 20].

El sustituto óseo perfecto debe proporcionar tanto un soporte mecánico como un microambiente adecuado para la adhesión, proliferación y diferenciación celular, permitiendo así finalmente la osteointegración del sustituto óseo en el hueso [21]. Para ello, es necesario optimizar las propiedades mecánicas, de porosidad y de permeabilidad del andamio [22]. Dentro de las diferentes estructuras porosas para conseguir tales andamios, las estructuras triplemente periódicas de mínima superficie (TPMS) están en el punto de mira como posibles sustitutos óseos, ya que han demostrado mejorar la migración celular y conservar un alto grado de rigidez mecánica y estructural [22]. Las TPMS son un tipo de estructuras reticulares³ que poseen una interesante interconectividad de poros en su configuración, la cual ha sido asociada con una rápida regeneración ósea, vascularización y reabsorción del material [21]. Además, sus geometrías son idóneas para fabricarse con impresión 3D y, al ser ligeras, permiten utilizar menores cantidades de material en la fabricación, luego suponen bajos costes de producción [22]. Además, desde un punto de vista mecánico, las TPMS cuentan con menos concentradores de tensiones que otras estructuras reticulares convencionales, lo que permite una distribución más uniforme de los esfuerzos, cosa que puede ser beneficiosa en el proceso de remodelación ósea.

³ Las estructuras reticulares son estructuras 3D porosas compuestas por una o más celdas unidad repetidas periódicamente, pero sin una estructura interpenetrada como las TPMS [23, 24]

Debido a los grandes inconvenientes y limitaciones que poseen las terapias curativas actuales para defectos óseos de gran tamaño y fracturas óseas, este Trabajo de Fin de Máster pone su punto de mira en las estructuras TPMS como posibles sustitutos óseos. Para ello, se diseñarán y caracterizarán tanto morfológica como mecánicamente diferentes andamios TPMS, con el objetivo de generar sustitutos óseos con un comportamiento mecánico y una microestructura idóneas para el tratamiento de defectos óseos de gran tamaño.

1.2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS TRABAJO FIN DE MÁSTER

El objetivo principal de este Trabajo fin de Máster (TFM) es diseñar sustitutos óseos TPMS con una rigidez a compresión y morfometría óptimas, con el fin de proporcionar un ambiente mecánico estable para la regeneración de hueso en defectos óseos de gran tamaño y evitar así fenómenos mecánicos como el *stress shielding*⁴. Además, se propone una metodología de evaluación ósea para la definición de la alternativa de diseño más adecuada, ofreciendo soluciones paciente-específicas.

Para poder alcanzar este propósito, esta Tesis de Máster se comprende de 4 estudios, donde los dos primeros asientan las bases de los dos siguientes:

1. **Caracterización morfológica hueso trabecular (solución paciente-específica):** Por un primer lado, se ha verificado que la morfometría del tejido óseo trabecular tiene una influencia significativa en el comportamiento mecánico del hueso [25]. De esta manera, se propone primeramente analizar la morfometría del hueso trabecular para el posterior correcto diseño de las estructuras TPMS.
2. **Evaluación del tamaño de celda unidad TPMS:** Por otro lado, se ha demostrado que el comportamiento mecánico de las estructuras TPMS dependen tanto de la geometría como del tamaño de las celdas unidad que las forman [26]. Por consiguiente, el segundo estudio plantea comprender la relación del tamaño de las celdas unidad con la morfometría de las estructuras TPMS a partir del diseño de 5 andamios TPMS, cada uno con diferentes tamaños de celdas unidad. Se hipotetiza que así podría ser posible encontrar el tamaño óptimo de celda unidad que mejor se ajuste a las características morfológicas del hueso trabecular y, en consecuencia, a sus propiedades mecánicas.
3. **Análisis del efecto de la fracción en volumen en la morfometría y respuesta mecánica de estructuras TPMS:** En tercer lugar, se ha demostrado que la fracción en volumen⁵ es una característica morfológica que posee una gran influencia sobre las propiedades mecánicas de estructuras porosas como los andamios TPMS [25]. De este modo, una vez seleccionado el tamaño de celda unidad, se plantea en este tercer estudio diseñar 4 estructuras TPMS diferentes, cada una con 4 fracciones en volumen distintas, con el propósito de observar y analizar las propiedades mecánicas y morfológicas en función de la fracción en volumen. A partir de ensayos mecánicos experimentales y numéricos, es posible caracterizar mecánicamente las estructuras TPMS y obtener la rigidez a compresión de estas. Este estudio proporciona leyes de evolución de propiedades mecánicas y morfometría que permiten generar un marco de trabajo para

⁴ El *stress shielding*, en español protección contra la tensión, es un proceso biomecánico que causa cambios en la resistencia y rigidez mecánica debido a un implante, lo que puede causar el aflojamiento del implante [27].

⁵ La fracción en volumen es el volumen de la estructura de interés por unidad de volumen total. Más información en el Subcapítulo 4.4.

la selección de la configuración y fracción en volumen más adecuada para cada paciente.

4. **Evaluación de la interacción andamio-hueso:** Por último, cuando una estructura reticular se usa como implante óseo se puede producir *stress shielding* debido a una diferencia de rigidez entre hueso e implante [28]. De esta manera, el último estudio tiene como propósito caracterizar mecánicamente un constructo formado por un corte de hueso trabecular y una estructura TPMS. Para ello se van a utilizar andamios TPMS de diferentes rigideces, siendo estas parecidas y diferentes al tejido óseo trabecular, para posteriormente medir numéricamente la rigidez total del constructo y los picos de tensiones y así analizar su estabilidad mecánica como sustituto óseo.

De esta manera, a partir de los 4 estudios se pretende obtener una o más estructuras TPMS, cuya microestructura y propiedades mecánicas sean óptimas para proporcionar un ambiente mecánico estable, con el fin de utilizarse como sustitutos óseos en el tratamiento de defectos óseos de gran tamaño. En la Figura 1.3., se resume en un diagrama los diferentes estudios con sus respectivos propósitos.

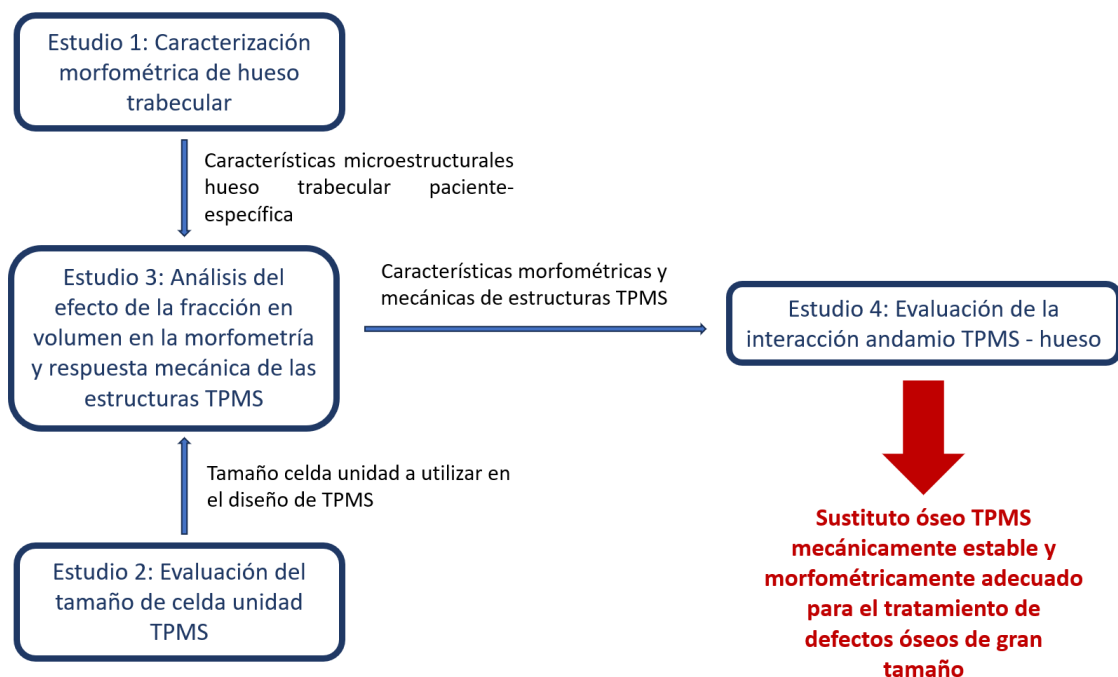


Figura 1.3. Diagrama de los estudios junto con sus propósitos con la finalidad de obtener un posible sustituto óseo TPMS.

1.3. ORGANIZACIÓN TRABAJO FIN DE MÁSTER

Esta Tesis de Máster está organizada de la siguiente manera:

El primer capítulo hace una introducción del tema a tratar con una pequeña motivación que relata la razón de estudio de estructuras TPMS como sustitutos óseos. Por último, se describe el objetivo de esta tesis junto con los estudios realizados para alcanzarlo.

El Capítulo 2 expone en profundidad las características morfológicas y mecánicas del hueso, el problema que la osteoporosis provoca en la estabilidad mecánica del mismo y las diferentes posibilidades de tratamiento que existen actualmente para las fracturas óseas y defectos de

gran tamaño. Por último, se plantea el gran potencial de las propiedades mecánicas y celulares de las estructuras reticulares TPMS como sustitutos óseos.

En el tercer capítulo se describe esquemática y brevemente la metodología seguida en este TFM para poder tener un primer conocimiento de las actividades realizadas en este trabajo.

El cuarto capítulo contiene la evaluación de un conjunto de dos huesos trabeculares (uno sano y otro osteoporótico) ofreciendo una caracterización ósea paciente-específica.

En el Capítulo 5 se realiza el análisis de dimensión de las celdas unidad de las estructuras TPMS con el fin de encontrar la dimensión que mejor se adapte a la morfometría de hueso trabecular sano analizado.

En el sexto capítulo se lleva a cabo el tercer estudio, diseñándose las estructuras TPMS y estudiando su morfometría y comportamiento mecánico en función de la fracción en volumen.

En el Capítulo 7 se realiza el último estudio, que consiste en evaluar mecánicamente un constructo andamio TPMS - hueso trabecular.

Las conclusiones de esta tesis y sus contribuciones a la investigación se relatan en el Capítulo 8.

Por último, en el Capítulo 9 se presentan los trabajos futuros de esta tesis.

CAPÍTULO 2

ESTADO DEL ARTE

2.1. EL TEJIDO ÓSEO

El hueso es un tejido conectivo dinámico y mineralizado que se caracteriza por su particular durabilidad y resistencia mecánica, además de poseer múltiples funciones fisiológicas [2, 29]. Entre éstas destacan el soporte mecánico que brinda al cuerpo, la protección que concede a órganos vitales internos o los puntos de unión que proporciona a los músculos, lo que permite que se produzca el movimiento de hueso a hueso [2, 3]. Asimismo, el tejido óseo está en constante actividad y es capaz de adaptarse a requisitos cambiantes [3]. Tal como se muestra en la Figura 2.1., esto se logra a través de procesos de remodelación por medio de mecanismos de reabsorción ósea, esto es, la eliminación de hueso por osteoclastos, y su posterior reemplazo por procesos de formación ósea, es decir, la creación de hueso nuevo por parte de los osteoblastos durante el crecimiento y desarrollo [2]. De esta manera, a nivel celular, el hueso se compone por: osteoblastos, que median la formación y mineralización de la matriz ósea; osteoclastos, que regulan la reabsorción ósea; los osteocitos, que provienen de los osteoblastos y se diferencian de estos una vez atrapados en la matriz ósea; y las células de revestimiento óseo, que son osteoblastos inactivos que recubren superficies óseas donde no se produce procesos de reabsorción ni formación ósea [1, 2, 3].

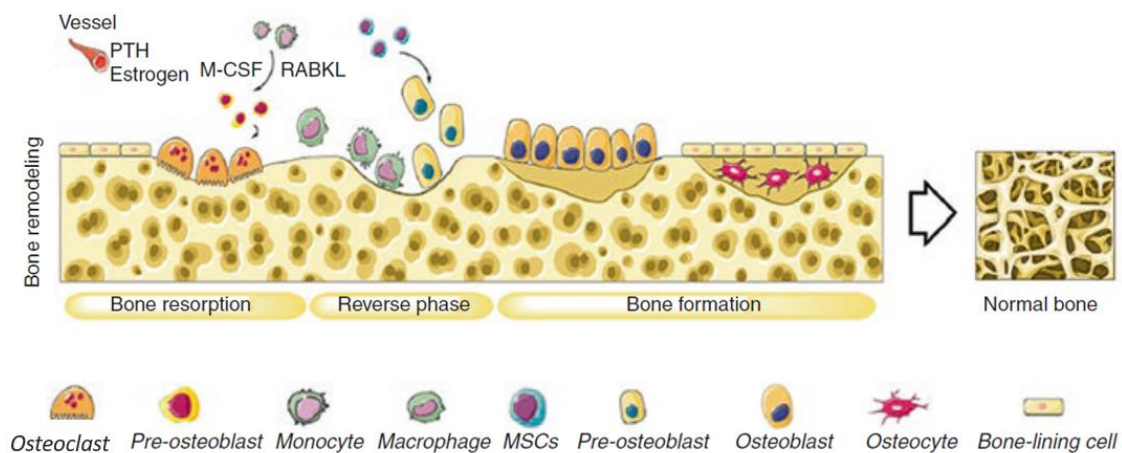


Figura 2.1. Mecanismo celular de remodelación ósea. A la izquierda del todo se representa la reabsorción ósea, es decir, la eliminación de hueso por parte de los osteoclastos. Posteriormente, está la transición del proceso de reabsorción ósea a formación ósea, por lo que, finalmente, a la derecha se representa el mecanismo formación de hueso por parte de los osteoblastos. *Adaptado de [9].*

Macroscópicamente, el esqueleto puede clasificarse en dos tipos de tejido óseo: el tejido óseo cortical y el trabecular, que difieren en estructura, función, propiedades mecánicas y localización dentro del hueso (mirar Figura 2.2.) [3]. Por un lado, el hueso cortical se encuentra mayoritariamente en las diáfisis (el tallo) de los huesos largos y consiste en un tejido compacto y denso, donde se pueden encontrar vasos sanguíneos [2]. Por otro lado, el hueso trabecular – también denominado esponjoso –, es un tejido jerárquico y altamente poroso que se

encuentra en las epífisis⁶ y metáfisis⁷ de los huesos largos, como el fémur, y en los cuerpos vertebrales [30, 31]. Macroestructuralmente, el tejido trabecular está compuesto por unas construcciones verticales y horizontales denominadas trabéculas, que le confieren rigidez y ductilidad [30]. Sin embargo, su elevada porosidad y baja masa de matriz mineralizada por unidad de volumen producen que su resistencia a la compresión sea aproximadamente 10 veces menor que la del hueso cortical a escala macroscópica [3]. No obstante, el tejido óseo trabecular facilita al hueso la distribución de cargas y la absorción de energía, particularmente en la vecindad de las articulaciones, contribuyendo así a la función mecánica de soporte [3]. Además, su alta porosidad le confiere una mayor área de superficie por volumen, lo que permite que haya un mayor contacto entre el hueso y la médula ósea, los vasos sanguíneos y otros tejidos conectivos, favoreciendo así la hematopoyesis⁸ y la homeostasis mineral [3].

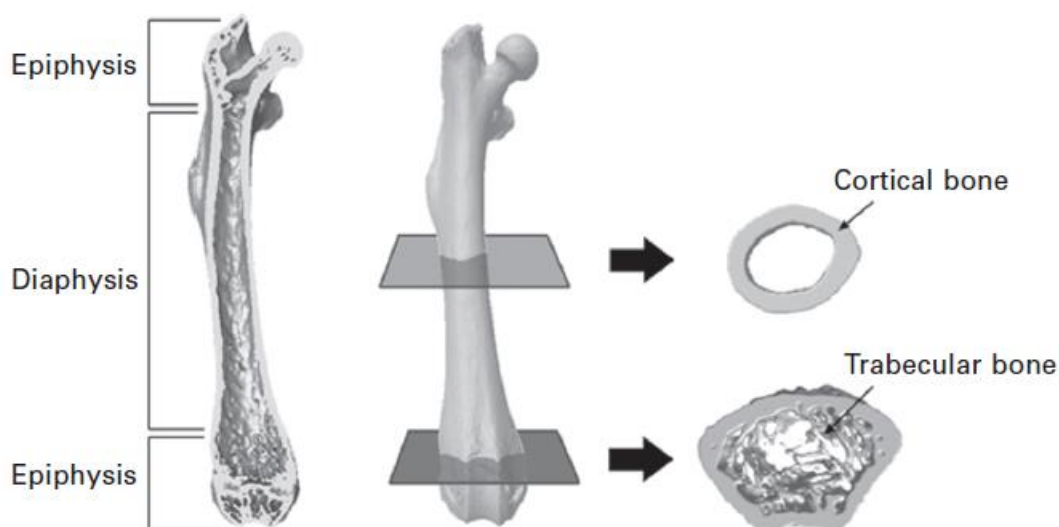


Figura 2.2. Anatomía macroscópica del fémur. Como se muestra en esta ilustración, la diáfisis está compuesta primordialmente por hueso cortical, mientras que la epífisis tiene mayor proporción de hueso trabecular recubierto por una fina capa de hueso cortical. *Extraído de [3].*

Morfológicamente, el hueso trabecular y cortical son similares, ya que están compuestos por una matriz orgánica de proteínas de colágeno, proteínas no colágenas y factores de crecimiento; y por sales inorgánicas, que en su mayoría son iones de fosfato y calcio, cuya asociación da lugar a cristales de hidroxapatita [1]. El colágeno junto con las proteínas no colágenas de la matriz forman un andamio para la deposición de cristales de hidroxapatita, dando lugar así a la rigidez y resistencia típicas del tejido óseo [1]. Sin embargo, el hueso trabecular está organizado en ‘paquetes’ de tejido laminar como se representa en la Figura 3.3. [32]. Esta microestructura trabecular está típicamente orientada en una dirección deseada, a través de la cual el hueso trabecular posee su mayor rigidez y resistencia mecánica [32]. Esto se debe a la adaptación del hueso a cargas que soporta, lo que le confiere propiedades anisotrópicas [32]. De este modo, desde un punto de vista material, el tejido trabecular se

⁶ Partes de los extremos en los huesos largos [33]

⁷ Región de unión de la diáfisis con la epífisis de los huesos largos [34].

⁸ La hematopoyesis consiste en la generación de las células sanguíneas. Tiene lugar en los huesos, aunque cada vez se restringe más a la médula ósea [35].

clasifica como un sólido poroso, anisótropo y heterogéneo, donde dicha heterogeneidad es responsable de las variaciones de las propiedades mecánicas del hueso [32].

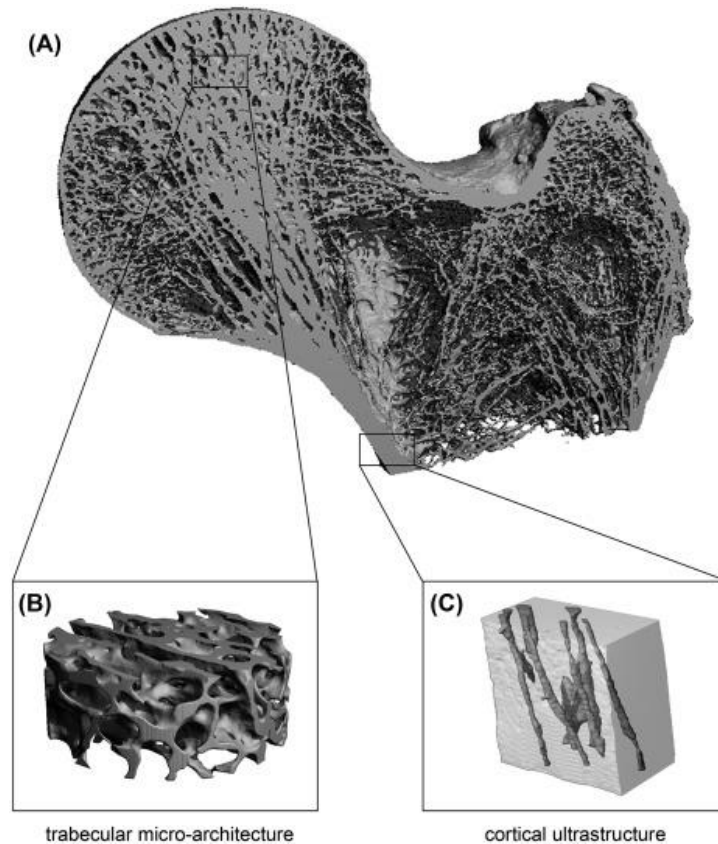


Figura 3.3. Geometría macroscópica de una cabeza de fémur (A), microarquitectura del tejido trabecular (B) y estructura microscópica del tejido cortical (C). Extraído de [36].

Para cumplir las funciones fisiológicas y mecánicas mencionadas anteriormente, el hueso ha de ser lo suficientemente rígido como para resistir las deformaciones y no romperse bajo cargas, al igual que lo suficientemente flexible para absorber energía [2, 3]. La capacidad mecanosensitiva del tejido óseo para ajustar su masa, arquitectura y propiedades mecánicas en respuesta a cargas, le permite adaptar su resistencia mecánica para poder soportar cargas sin fracturarse y, al mismo tiempo, tener un margen de seguridad lo suficientemente amplio como para tolerar ocasionalmente cargas supranormales [2, 4]. A nivel celular, el esfuerzo mecánico es un regulador clave de la actividad de los osteoblastos y osteoclastos, de manera que cuando las cargas mecánicas aumentan, el tejido óseo crece para soportar dicho incremento de carga, mientras que cuando el hueso no está sometido a cargas o éstas son más bajas de lo usual, se elimina hueso en repuesta a esa descarga o desuso [30, 37]. A este fenómeno de adaptación se le denomina Ley de Wolff [3].

No obstante, el envejecimiento junto con otros factores intrínsecos y extrínsecos producen un deterioro en la composición, estructura y función ósea [38]. Entre los factores intrínsecos se encuentran la genética, la acumulación máxima de masa ósea en la juventud y las alteraciones en componentes hormonales y celulares, entre otros [38]. Dentro de los factores extrínsecos se incluyen la nutrición, la actividad física, las enfermedades y los fármacos [38]. La combinación de todos estos factores acelera el deterioro óseo y, por consiguiente, la predisposición a las fracturas o a la osteoporosis [38]. De hecho, se ha demostrado que la edad, nutrición y las enfermedades provocan variaciones en la concentración de proteínas de la matriz ósea, lo cual

puede contribuir a la deformación y fractura del hueso [1]. De este modo, como se puede observar en literatura, la investigación en torno a los mecanismos de pérdida ósea ha aumentado significativamente en los últimos años.

2.2. OSTEOPOROSIS

La osteoporosis es la enfermedad ósea más frecuente y tiene lugar debido a un desequilibrio entre los mecanismos de formación y eliminación ósea, predominando estos últimos [6, 39]. La remodelación ósea es un proceso continuo a lo largo de la vida, donde el pico de masa y tamaño óseo se alcanzan alrededor de los 15-20 años de vida en mujeres y después en hombres [38]. Tras alcanzar este pico, la remodelación ósea continúa a un ritmo más lento, predominando la reabsorción sobre la formación ósea y pudiendo dar lugar a osteoporosis [38]. De esta manera, como se refleja en la Figura 2.4., el avance de la edad produce un adelgazamiento del hueso cortical y de las trabéculas, aumento de la porosidad cortical y pérdida de la conectividad trabecular, todo ello provocando una reducción en la calidad de hueso y, por consiguiente, en la resistencia ósea [38]. Otro factor que puede dar lugar a este desequilibrio es la deficiencia de estrógenos, como sucede en las mujeres postmenopáusicas [40]. Se ha demostrado que la falta de estrógenos afecta al comportamiento de los osteoclastos de manera que cuando los niveles de estrógenos disminuyen, la frecuencia de activación de los osteoclastos aumenta, mientras que su tasa de apoptosis⁹ disminuye, lo cual puede conducir a una eliminación excesiva de hueso [40]. Por último, la diferenciación predominante de células mesenquimales en adipocitos (adipogénesis) en vez de en osteoblastos produce la interrupción de formación de hueso y la acumulación de grasa en la médula ósea [38]. En consecuencia, la osteoporosis supone la disminución de masa ósea y el deterioro de la microarquitectura del hueso, aumentándose así el riesgo de fracturas óseas [38]. De hecho, las fracturas en el cuello del fémur y las microfracturas vertebrales ocurren comúnmente, produciendo un gran impacto social y de salud para quienes las padecen [40]. Además, se ha demostrado que en las zonas fracturadas de pacientes ancianos osteoporóticos existe una disminución del área del callo óseo¹⁰ en un 20 % - 40 % y de la densidad mineral ósea, indicativos de un retraso o falta de unión de la fractura de hueso debido a la escasa capacidad de regeneración ósea [9].

⁹ La apoptosis es la muerte programada de células [41]

¹⁰ El callo óseo es el último paso en el proceso de regeneración natural del hueso que une una fractura o defecto óseo pequeño. Ver Subcapítulo 2.3. para más información.

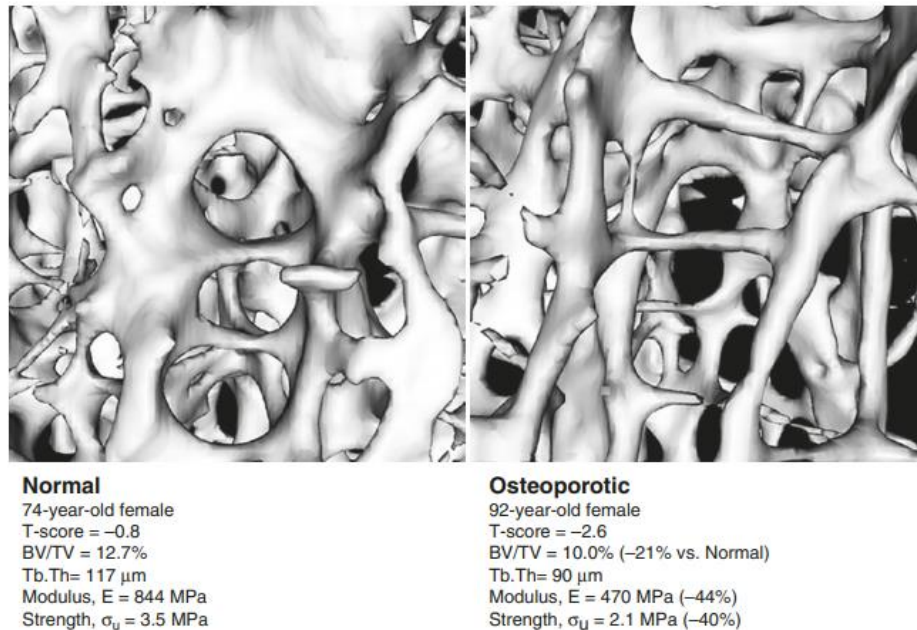


Figura 2.4. Imágenes μCT de hueso trabecular del centro de la vértebra lumbar L2 de una mujer sana y otra con osteoporosis. En la figura quedan reflejadas la fracción de volumen óseo (BV/TV), el espesor medio trabecular (Tb.Th) y el módulo (E) y resistencia (σ_u) aparentes, así como las diferencias en porcentaje de la mujer con osteoporosis (derecha) en relación con la sana (izquierda). Se puede comprobar el aumento de porosidad y, por ende, la disminución de la cantidad ósea en BV/TV de un 12.7 % a un 10 %, el adelgazamiento de las trabéculas de 117 a 90 μm con Tb.Th y la reducción de un 40 % de la resistencia ósea debido a la osteoporosis. *Extraído de [42].*

Al principio, el tratamiento de la osteoporosis se focaliza en realizar deporte y actividad física con pesos, mejorar el equilibrio, tomar una dieta rica en vitamina D y calcio, dejar de fumar y limitar el uso del alcohol [6]. Posteriormente, comienza el tratamiento farmacológico [6]. A diferencia de otras enfermedades musculoesqueléticas como la osteoartritis, la osteoporosis sí posee tratamientos que interfieren con los procesos metabólicos patogénicos, pudiendo prevenir las fracturas óseas [6]. Basándose en los mecanismos subyacentes a la pérdida ósea, los principales objetivos del tratamiento incluyen la inhibición o restricción de la actividad osteoclástica, la potenciación de la actividad osteoblástica y la regulación de la adipogénesis de la médula ósea [38]. De esta manera, las terapias actuales farmacológicas se dividen en antirresortivas, como los bifosfonatos, estrógenos o calcitonina, y en terapias de agentes anabólicos, como la teriparatida [38, 43]:

- Dentro de las terapias antirresortivas, los bifosfonatos son los agentes de referencia en el tratamiento y prevención de la osteoporosis [38]. Estos tienen una alta afinidad por la matriz mineralizada del hueso e inhiben la reabsorción ósea induciendo la apoptosis osteoclástica y, por tanto, dando lugar a una disminución del recambio óseo y una ganancia neta de masa ósea [38, 43]. Sin embargo, existen complicaciones asociadas al uso de bifosfonatos: en pacientes con terapia prolongada de estos agentes y sometidos a procedimientos dentales invasivos (como extracciones dentales), se ha presenciado osteonecrosis de mandíbula, es decir, hueso expuesto y necrótico en la región maxilofacial, con incapacidad de cicatrización durante 8 semanas; otra complicación

por su uso a largo plazo es el aumento de riesgo de fracturas de fémur atípicas¹¹ por traumatismo leve (mirar Figura 2.5.) [43]. Además, los bifosfonatos orales producen efectos secundarios gastrointestinales, como náuseas, esofagitis y la posibilidad de desarrollar úlceras gástricas [43]. De este modo, debido al riesgo de padecer efectos secundarios raros, la toma de bifosfonatos orales está limitada a 10 años e intravenosamente con ácido zoledrónico a 6 años [44].



Figura 2.5. Radiografía de una fractura atípica de fémur en mitad de la diáfisis. Extraída de [11].

- Por otro lado, la teriparatida es el primer agente anabólico para tratar la osteoporosis [43]. Debido a que su función es análoga a la de la hormona paratiroidea, su acción fisiológica consiste en inducir la formación de hueso nuevo en la superficie ósea a partir de la estimulación osteoblástica [43]. No obstante, cabe destacar que no tiene un uso permanente, ya que después de varios años, el efecto anabólico de la teriparatida desaparece, momento en el cual la reabsorción ósea vuelve a sus niveles pretratamiento [45]. De esta manera, el uso de teriparatida está aprobado para máximo 2 años [11].

De este modo, debido a estas posibilidades de tratamiento y de prevención de fracturas óseas a corto-medio plazo, se ha estimado que un 40 % de mujeres postmenopáusicas y un 30 % de hombres experimentarán una fractura osteoporótica en algún momento de su vida, siendo la cirugía el tratamiento estándar de dichas fracturas [5, 9]. Sin embargo, estas terapias quirúrgicas se enfrentan a diferentes desafíos para lograr una fijación firme y estable, como fracturas en pacientes de edad avanzada con baja capacidad de regeneración ósea o fracturas en pacientes con una resistencia y calidad óseas bajas [8]. De hecho, a menudo se requiere una nueva cirugía por una falta de consolidación ósea debido a una fijación interna fallida [8]. En consecuencia, es necesario mejorar y estudiar con un enfoque novedoso los dispositivos y estrategias terapéuticas actuales para así lograr resultados favorables, sobre todo ahora que se

¹¹ Una fractura de fémur atípica se caracteriza por producirse en la diáfisis del hueso y tener una apariencia radiográfica específica [43].

prevé que el número de personas que sufren esta enfermedad aumente drásticamente y, por ende, se produzcan más fracturas óseas [6, 8, 40].

2.3. DEFECTOS ÓSEOS

Las fracturas óseas, también denominadas osteotomías, son traumatismos ortopédicos que se caracterizan por la discontinuidad ósea, produciendo así la inestabilidad mecánica del hueso dañado y, en la mayor parte de los casos, del sistema locomotor [46]. Para combatir defectos óseos de pequeño tamaño, el hueso posee mecanismos de regeneración y autorreparación que restauran la estructura anatómica y la integridad mecánica del hueso [46, 47]. Éstos se pueden resumir en 3 procesos altamente coordinados y secuenciales: inflamación, reparación y remodelación (ver Figura 2.6.) [47]. En primer lugar, durante la primera semana, se produce la inflamación mediada por factores de crecimiento liberados por plaquetas, macrófagos y fibroblastos en la zona dañada [47]. Posteriormente, durante la fase de reparación, los osteoclastos eliminan el hueso necrótico y las células mesenquimales se diferencian en condrocitos para formar un callo cartilaginoso, que a lo largo de los meses se osificará para formar tejido óseo [46, 47]. Por último, este tejido óseo se va sustituyendo en la fase de remodelación por hueso lamelar, el cual es primordial para la restauración de la estabilidad mecánica del hueso dañado [46, 47].

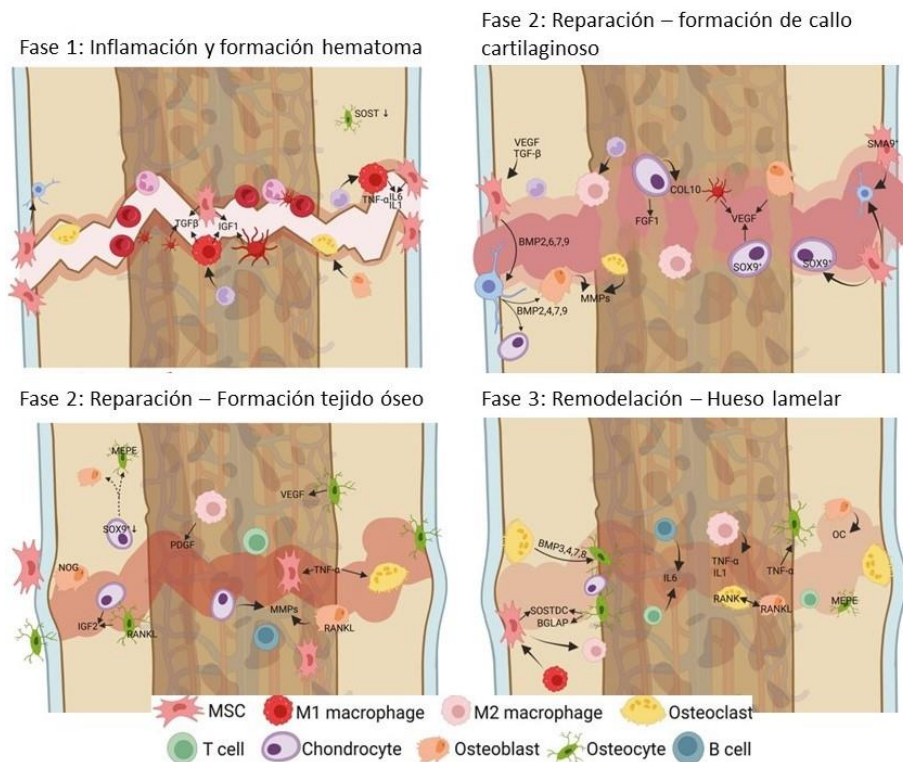


Figura 2.6. Mecanismo de regeneración y autorreparación ósea frente a defectos de pequeño tamaño. Adaptado de [48].

No obstante, cuando los defectos óseos exceden los 2 cm de tamaño y suponen más de un 50 % de pérdida ósea, esta capacidad intrínseca de regeneración del hueso alcanza su límite [14]. Por consiguiente, la reparación ósea se retrasa y se ve afectada, dando lugar a fracturas óseas patológicas, falta de unión ósea o incorrecta unión ósea a causa de una escasa estabilidad mecánica o actividad biológica [13, 14, 46, 49]. De hecho, se ha demostrado que el 5 % - 10 %

de las fracturas óseas están asociadas a la falta de cohesión ósea o al retraso en la cicatrización, mientras que las fracturas óseas segmentarias¹² por pérdida ósea resultan en fracturas sin unión [16]. Este tipo de defectos se denominan defectos óseos de gran tamaño y surgen por traumatismos de alta energía, resecciones tumorales, infecciones, defectos congénitos o complicaciones por fracturas previas (como por osteoporosis u osteomielitis¹³) y representan la mayor parte de casos clínicos en ortopedia [50, 47, 51]. Cabe destacar que estos defectos óseos se consideran críticos debido a su improbable curación espontánea, por lo que es necesaria la intervención médica [14].

A partir de mecanismos de fijación externa e interna, es posible alinear e inmovilizar las fracturas agudas [52]. Por un lado, la fijación externa es un mecanismo no invasivo, es decir, que produce mínimo daño en el tejido blando, y se utiliza para estabilizar el hueso durante el proceso biológico de reconstrucción ósea [52]. Por otro lado, la fijación interna es un proceso quirúrgico en el que mayormente se implantan placas óseas con el fin de mantener unidos los fragmentos óseos [52]. Además de las placas, también se pueden utilizar tornillos unidos al hueso de manera que se restrinja el movimiento de los fragmentos óseos, protegiendo así el lugar de la osteotomía de tensiones y permitiendo la cicatrización [52]. Sin embargo, los mecanismos de fijación externa e interna producen consolidaciones defectuosas o faltas de unión, provocadas por una cicatrización inadecuada de la fractura o directamente por la falta de cicatrización [52]. Dependiendo de su localización, las uniones óseas incorrectas pueden precisar de una nueva osteotomía y un nuevo dispositivo de fijación para corregir y alinear de nuevo la fractura, mientras que la falta de unión en una fractura necesita ser tratada en algunos casos con injertos óseos [52].

De este modo, el tratamiento estándar para defectos óseos de gran tamaño es el trasplante de injertos óseos, es decir, injertos estructurales con los que poder promover la regeneración ósea a partir de procesos de osteoinducción¹⁴, osteoconducción¹⁵ y osteogénesis [13, 18]. Actualmente, existen tres tipos de injertos óseos: autólogos (del propio paciente), alogénicos (de otro donante humano) y xenogénicos (derivado de un animal), aunque el tratamiento por excelencia de estos defectos es el trasplante de hueso autólogo [18, 53]. Este tipo de trasplante consiste en obtener tejido óseo de otra zona anatómica del paciente, utilizarlo como material de trasplante y colocarlo en el lugar del defecto [53]. Los injertos óseos autólogos reúnen todas las propiedades claves para la reparación ósea, tales como células osteogénicas, factores de crecimiento y el andamio óseo (en inglés, *scaffold*), además de reducir la estancia hospitalaria y la necesidad de una nueva operación [13, 54, 55]. Sin embargo, también tienen sus límites: el volumen de hueso necesario para tratar este tipo de defectos, el dolor subyacente del paciente debido a la cirugía adicional para la extracción de injerto óseo y el riesgo de infección, que provoca la reabsorción del injerto y, por consiguiente, evita la unión ósea [54]. Además, incluso después de una correcta cicatrización, sigue existiendo el riesgo de desarrollar posteriormente osteomielitis [54]. En el caso de los injertos alogénicos, se pueden encontrar reacciones inmunogénicas y el riesgo de transferencia de enfermedades [13]. Los injertos xenogénicos, en su mayoría de origen bovino, porcino y de coral, presentan ventajas por su alta disponibilidad, su porosidad favorable para el crecimiento de hueso y su resistencia mecánica similar a la del

¹² Las fracturas segmentarias son aquellas en las que el mismo hueso se rompe en 2 puntos, de manera que un trozo de hueso queda separado [56].

¹³ La osteomielitis es la infección de los huesos.

¹⁴ Proceso que estimula la osteogénesis [57].

¹⁵ Proceso por el cual se provee un ambiente, estructura o material apropiado para la formación de hueso nuevo [57].

hueso nativo [13]. No obstante, también existe la posibilidad de transmisión de enfermedades zoonóticas y de rechazo inmunitario, además de las preocupaciones éticas que conllevan [13]. Por último, cabe destacar que la gran parte de injertos clínicos fracasan a causa de una vascularización inadecuada, reduciéndose así el intercambio de nutrientes, gases y de residuos entre el tejido y el injerto, lo cual produce necrosis interna de este último[13]. En la Figura 2.7. se puede observar una fractura ósea tratada primeramente con un mecanismo de fijación interna y, secundariamente, con un injerto óseo autólogo.

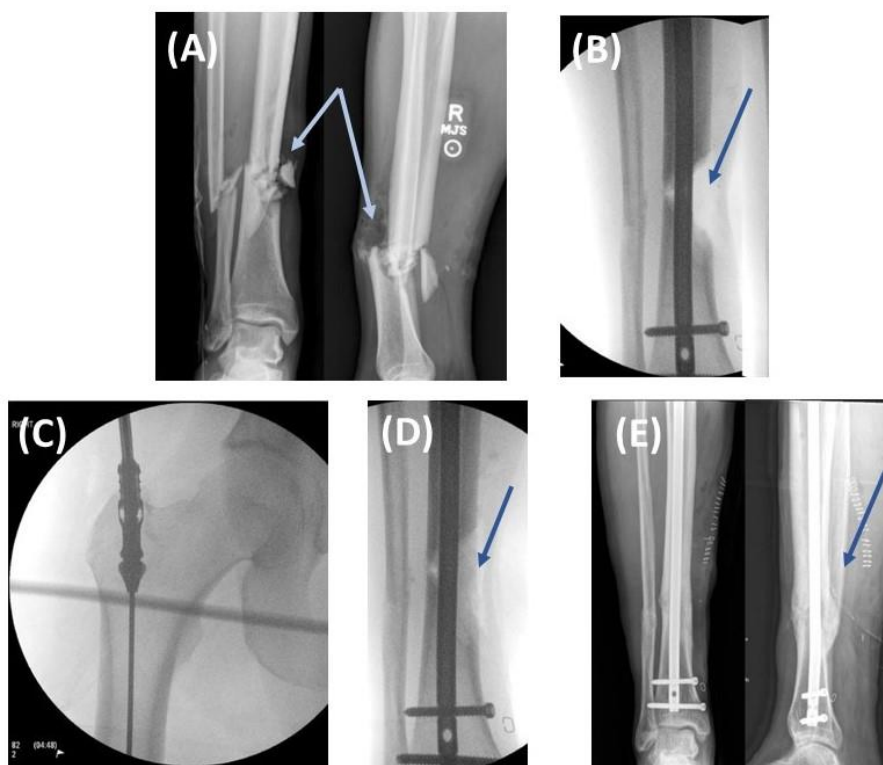


Figura 2.7. Utilización de un injerto óseo autólogo para rellenar un defecto tibial tras producirse falta de unión ósea resultante de un mecanismo de fijación ósea (A) Radiografías anteroposterior y lateral de la tibia derecha de un varón de 30 años tras un accidente de moto señalado con flechas azules. (B) Imagen intraoperativa de la falta de unión ósea tras la utilización de un mecanismo de fijación interna indicado nuevamente con una flecha azul. (C) Imagen intraoperativa de la obtención de injerto óseo autólogo. (D) Imagen intraoperativa del relleno del defecto con injerto óseo autólogo. Con la flecha azul se muestra el defecto óseo de gran tamaño rellenado con injerto óseo autólogo (E) Radiografías anteroposterior y lateral de la tibia derecha tras 1 año de la intervención, mostrándose con la flecha la formación del callo óseo. Adaptado de [58].

Debido a los límites que presentan los tratamientos de defectos óseos de gran tamaño a partir de injertos de hueso, se han desarrollado sustitutos sintéticos mediante la ingeniería tisular ósea [19, 20]. Estos andamios sirven de igual manera para rellenar los huecos del defecto óseo y para proporcionar un ambiente idóneo para la proliferación, migración, diferenciación y mineralización celular durante la remodelación del hueso, además de una adecuada resistencia mecánica [19]. Estos *scaffolds* deben cumplir diferentes características: ser biocompatibles, para favorecer la unión de las células al andamio y así favorecer su proliferación; biodegradables, para garantizar el reemplazo del andamio con tejido regenerado; poseer suficiente resistencia mecánica; y tener una microestructura porosa para simular la matriz extracelular nativa [19]. Para la fabricación de estos sustitutos óseos existen diferentes técnicas como el electrohilado (*electrospinning* en inglés), método de gas espumado (en inglés *gas foaming*) o la separación de fases, entre otros [19]. Sin embargo, estos métodos están limitados a estructuras 2D o estructuras 3D muy simples, no pudiéndose diseñar

configuraciones geométricas complejas [19]. De esta manera, los métodos de fabricación aditiva (también denominada impresión 3D) son una excelente solución ya que son económicos y permiten imprimir estructuras complejas con una gran variedad de materiales [19]. Además, cabe mencionar que la impresión 3D permite desarrollar sustitutos óseos personalizados, pudiéndose así crear un andamio diseñado específicamente para un determinado defecto del hueso dañado [15].

Con el reciente desarrollo y avance de la fabricación aditiva, ha surgido un gran candidato como sustituto óseo: las estructuras triplemente periódicas de mínima superficie (TPMS) [59]. La capacidad de ajuste de sus parámetros arquitectónicos, como la porosidad o el tamaño de poro, y las excelentes propiedades mecánicas y de permeabilidad de las TPMS, permiten obtener sustitutos con excelentes respuestas celulares y mecánicas para la regeneración ósea [59].

2.4. ESTRUCTURAS TRIPLEMENTE PERIÓDICAS DE MÍNIMA SUPERFICIE

En la naturaleza se pueden encontrar diferentes estructuras porosas, como la de los huesos o la de los panales de abejas [60]. Recientemente, las estructuras porosas han adquirido gran relevancia en diferentes campos industriales debido a sus altas prestaciones mecánicas: alta rigidez, capacidad de carga y absorción de energía [60]. En el campo biomédico, se ha focalizado el uso de estas estructuras porosas como sustitutos óseos a causa del gran aumento actual y futuro de fracturas y defectos óseos [60, 61]. Dentro de las estructuras porosas, las estructuras reticuladas, formadas por barras rectas distribuidas, han sido evaluadas como andamios por su facilidad de fabricación. Sin embargo, dichas estructuras reticuladas suelen presentar esquinas y cambios angulares abruptos, lo que provoca concentración de tensiones en la zona, cosa que debilita el andamio y resulta perjudicial para la transmisión de esfuerzos y la remodelación ósea, produciendo *stress shielding*. En cambio, las estructuras TPMS cuentan con una evolución suave de su geometría, con curvas suaves y curvatura media nula, lo que aporta importantes ventajas desde el punto de vista mecánico. Estas estructuras no solo permiten distribuir más homogéneamente las cargas aplicadas entre el hueso y el implante, por lo que se evita el *stress shielding*, sino que también posibilitan el crecimiento celular [61].

Durante los últimos años, dentro de las configuraciones porosas, las estructuras triplemente periódicas de mínima superficie (TPMS) se han convertido en el nuevo enfoque de aplicación biomédica para diseñar andamios porosos, gracias a su capacidad de controlar la porosidad y el tamaño del poro, además de la disminución de los concentradores de tensiones [17, 60]. Se ha observado que estas estructuras TPMS tienen una microarquitectura similar al hueso trabecular, de manera que pueden integrarse correctamente con el tejido circundante y pueden promover procesos celulares como la difusión de oxígeno, el intercambio iónico y el transporte de nutrientes, mecanismos esenciales para la diferenciación y proliferación celular [59, 60]. Además, las TPMS proporcionan una gran área de superficie e interconectividad de poros, lo que también favorece la adherencia y el crecimiento celular [59, 62]. Mecánicamente, las estructuras porosas TPMS son lo suficientemente resistentes para soportar la formación de hueso, aunque se ven significativamente afectadas por sus topologías, por lo que ajustarlas mejora el rendimiento mecánico de la estructura TPMS [59, 60]. De este modo, las características mecánicas y morfológicas que poseen los andamios TPMS permiten optimizar la regeneración ósea [59].

Las estructuras TPMS se basan en superficies de mínima área, donde cada celda unidad da espesor a la superficie y luego se combinan unas con otras para formar el andamio final

triplemente simétrico, el cual contiene una repetición periódica de celdas unidad produciendo una interesante interconectividad de poros como en el hueso trabecular [59]. Las estructuras porosas TPMS se definen mediante funciones matemáticas en las tres dimensiones y se expresan como $f(x,y,z) = C$, donde C controla la geometría de la superficie [59, 60]. Dentro de las numerosas estructuras TPMS que existen, las más utilizadas como sustitutos óseos son la giroide, diamante y primitiva. En la Ecuación 2.1. se muestra la función de la TPMS diamante, donde L representa la longitud de la celda unidad a lo largo de la correspondiente dirección y N el número de repeticiones en el curso de una dimensión [59]. De este modo, modificando estos valores, se modifican a su vez los parámetros arquitectónicos de los andamios (el tamaño de los poros, la porosidad y las propiedades de superficie), generándose así diseños de estructuras TPMS muy versátiles con distintas propiedades como, por ejemplo, diferentes resistencias mecánicas o permeabilidades, que a su vez afectan a la tasa de regeneración ósea, la respuesta celular y la estructura del hueso regenerado [59, 61, 63]. En la Figura 2.8. se muestran dos superficies TPMS diamante diferentes con sus correspondientes celdas unidad y estructuras porosas, habiendo utilizado la Ecuación 2.1.

$$f(x, y, z) = \cos\left(2 * \pi * \frac{Nx}{Lx} * x\right) * \cos\left(2 * \pi * \frac{Ny}{Ly} * y\right) * \cos\left(2 * \pi * \frac{Nz}{Lz} * z\right) - \sin\left(2 * \pi * \frac{Nx}{Lx} * x\right) * \sin\left(2 * \pi * \frac{Ny}{Ly} * y\right) * \sin\left(2 * \pi * \frac{Nz}{Lz} * z\right) = C \quad (2.1.)$$

Ecuación 2.1. Función matemática para la geometría diamante.

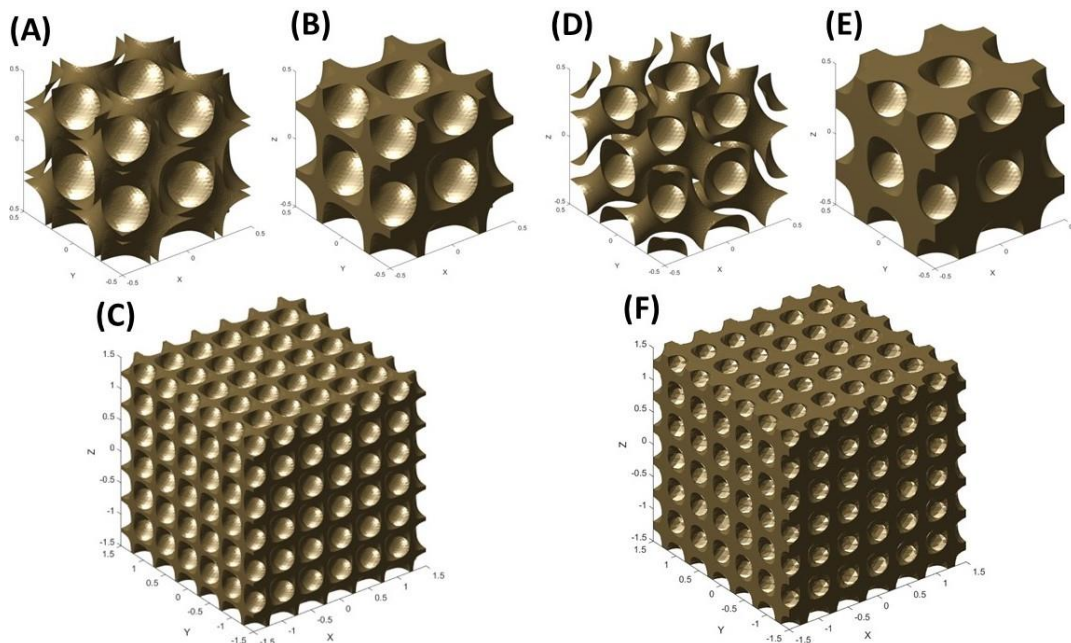


Figura 2.8. Estructuras TPMS tipo *sheet* diamante obtenidas con el software *MSLattice*. (A) Superficie TPMS diamante con C= 0.2, N=1 y L=1 aplicando la Ecuación 2.1. (B) Celda unidad TPMS diamante correspondiente a la superficie anterior. (C) Estructura TPMS diamante con 3 celdas unidad por dirección, obteniendo una porosidad del 77.66 %. (D) Superficie TPMS diamante con C= 0.4, N=1 y L=1 aplicando la Ecuación 2.1. (E) Celda unidad TPMS diamante correspondiente a la superficie anterior. (F) Estructura TPMS diamante con 3 celdas unidad por dirección, obteniendo una porosidad del 53.44 %. Se puede observar cómo al aumentar C de 0.2 a 0.4, disminuye la porosidad y el tamaño de poro de la estructura TPMS diamante y, por consiguiente, disminuye también el área de superficie.

Se pueden distinguir dos tipos de estructuras porosas TPMS: las configuraciones *sheet* y las *solid* [61]. Ambas poseen la misma arquitectura celular y una porosidad similar, pero difieren en sus propiedades mecánicas [61]. Aunque anteriormente las estructuras tipo *solid* estaban

en el punto de mira por parte de la comunidad científica, recientemente se está brindando especial atención a las configuraciones tipo *sheet* [64]. Ricardo Belda *et al.* (2022) exploraron la respuesta mecánica de diferentes configuraciones porosas tipo TPMS, así como su relación con la morfometría de estas estructuras, y concluyeron que las configuraciones tipo *sheet* poseían un área superficial mayor que las *solid* [65]. Estos resultados son respaldados por el estudio de Derya Karakaman *et al.* (2023) que, tras evaluar estas dos configuraciones en diferentes estructuras, concluyeron que el área superficial de la estructura porosa tipo *sheet* era el doble que la de la *solid*, una característica crucial en andamios óseos para promover la osteogénesis y la osteoinducción [61]. En referencia a las propiedades mecánicas, Ricardo Belda *et al.* (2023) analizaron experimentalmente el fallo a compresión de diferentes estructuras TPMS, cuyos resultados indicaron que las configuraciones tipo *sheet* poseían una mayor rigidez y carga de fallo que las de tipo *solid* [63]. Posteriormente, este mismo equipo de investigación demostró numéricamente que las estructuras *sheet* poseían un mayor módulo axial y de cizalladura en comparación con las *solid*, presuntamente debido a la distribución del material, ya que en las *solid* el material se encuentra más concentrado, mientras que en las *sheet* éste está organizado como una membrana, permitiendo un comportamiento más eficaz de la estructura [65]. En otras palabras, las estructuras *sheet* presentaban mayores propiedades elásticas para una misma fracción en volumen [65]. Otros estudios como el de At-ketan *et al.* (2018) también compararon andamios *solid* y *sheet*, concluyendo del mismo modo que las estructuras tipo *sheet* presentaban propiedades mecánicas superiores a las *solid* [61]. Por consiguiente, se puede deducir tras los diferentes estudios científicos, que las configuraciones *sheet* son un tipo de arquitectura TPMS que posee ventajas potencialmente significativas para la ingeniería de tejidos frente a las tipo *solid* [64]. En la figura 2.9. se puede observar la diferencia entre una configuración tipo *sheet* y *solid* de una estructura porosa TPMS primitiva obtenida mediante la Ecuación 2.2.

$$f(x, y, z) = \cos\left(2 * \pi * \frac{Nx}{Lx} * x\right) + \cos\left(2 * \pi * \frac{Ny}{Ly} * y\right) + \cos\left(2 * \pi * \frac{Nz}{Lz} * z\right) = C \quad (2.2.)$$

Ecuación 2.2. Función matemática para la geometría primitiva.

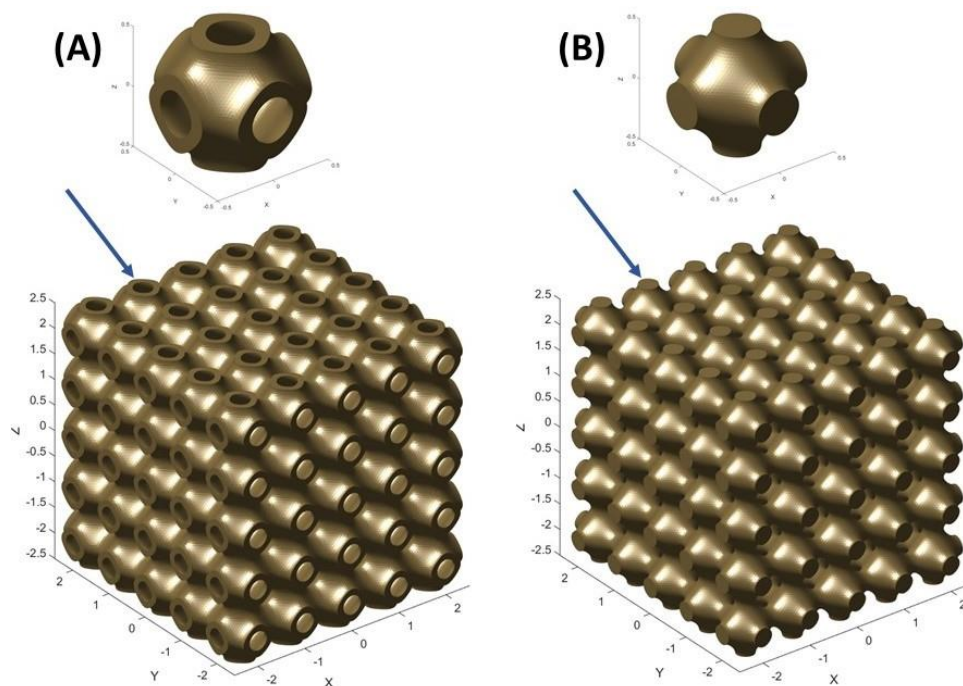


Figura 2.9. Estructuras TPMS tipo *sheet* y *solid* primitiva obtenidas con el software *MSLattice*. (A) Celda unidad tipo *sheet* primitiva utilizando la Ecuación 2.2. con $L=1$, $N=1$ y $C=0.4$ (arriba) y estructura porosa resultante tipo *sheet* TPMS primitiva con 5 celdas unidad por dirección y una porosidad 77.48 % (abajo). (B) Celda unidad tipo *solid* primitiva utilizando la ecuación 2 con $L=1$, $N=1$ y $C=0.4$ (arriba) y estructura porosa resultante tipo *solid* TPMS primitiva con 5 celdas unidad por dirección y una porosidad 61.52 %. Con las flechas azules se puede comprobar cómo, visualmente, la configuración tipo *sheet* posee un área superficial mayor que la *solid*.

Por consiguiente, las extraordinarias propiedades mecánicas, de adherencia y de crecimiento celular, ha hecho que la comunidad científica brinde especial atención a las estructuras porosas TPMS como posibles sustitutos óseos [59].

CAPÍTULO 3

METODOLOGÍA

En este capítulo se pretende dar una visión general de las actividades realizadas en cada estudio de este TFM y cómo sus resultados permiten alcanzar los propósitos de los siguientes estudios hasta poder obtener el objetivo final: un sustituto óseo tipo TPMS morfométrica y mecánicamente óptimo para su utilización en regeneración ósea de defectos óseos de gran tamaño. Esta metodología se va a plasmar en el siguiente diagrama de flujo (Figura 3.1.).

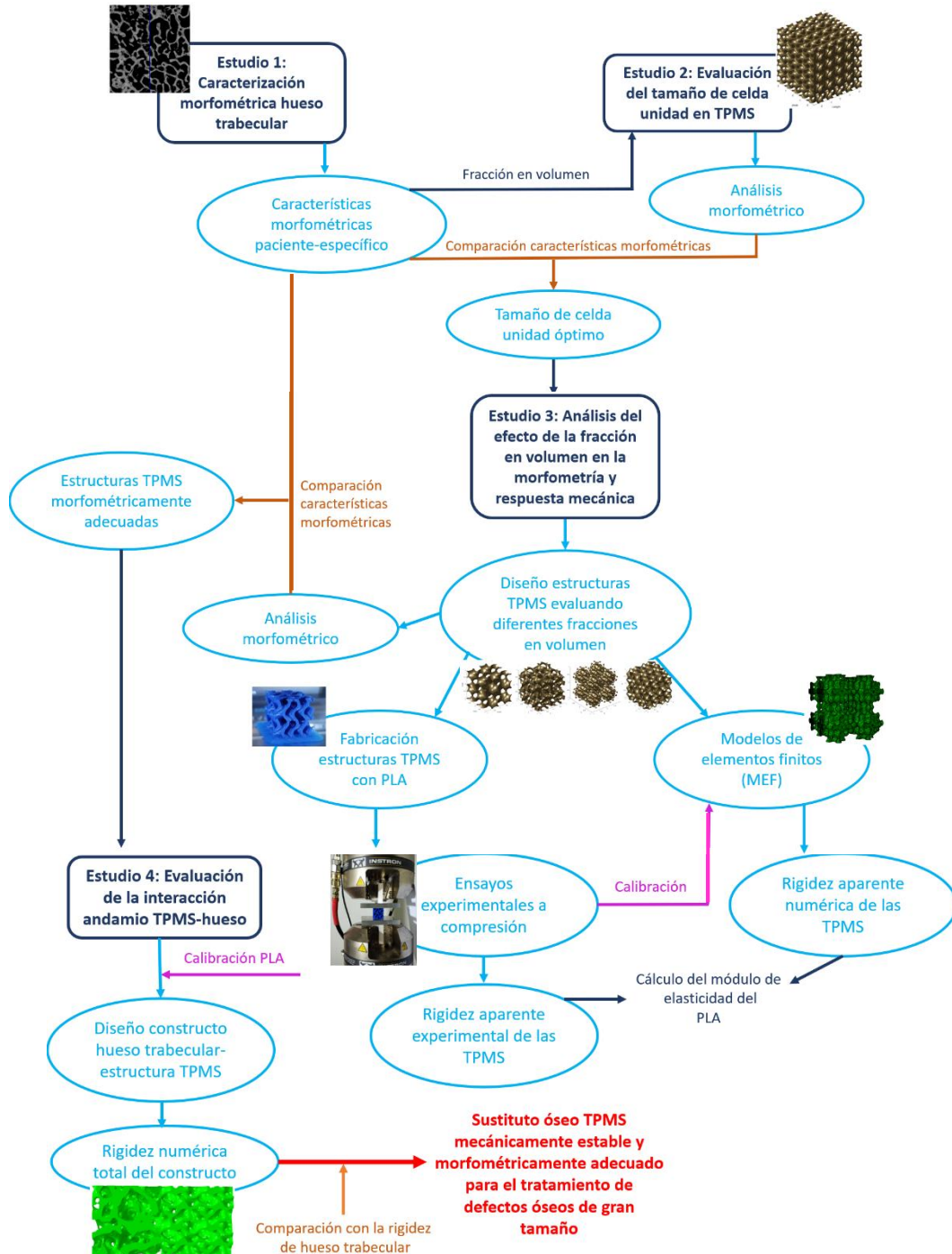


Figura 3.1. Metodología seguida en el TFM.

CAPÍTULO 4

ESTUDIO 1: CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA DE HUESO TRABECULAR

4.1. INTRODUCCIÓN

Se ha demostrado que la caracterización morfométrica del hueso trabecular es de gran importancia, ya que influye considerablemente en el comportamiento mecánico del hueso [25]. De esta manera, como el objetivo de este TFM es estudiar el comportamiento mecánico de un sustituto óseo óptimo para defectos de hueso esponjoso, es fundamental conocer la microestructura del tejido óseo trabecular para poder diseñar un andamio óseo de acuerdo con sus características morfométricas y, por ende, mecánicas.

4.2. IMÁGENES μ CT DE HUESO TRABECULAR

El proceso de obtención de las imágenes μ CT de hueso trabecular a analizar no ha sido objeto de estudio de este TFM. No obstante, se ha decidido hacer una breve explicación de este.

En primer lugar, en el marco del proyecto de investigación en el que se desarrolla este TFM, llamado FROSTEO, en el Hospital Universitario Infanta Leonor de Madrid se extraen las respectivas cabezas femorales de pacientes durante una cirugía de artroplastia total de cadera, en la cual se quita la cabeza femoral aproximadamente desde el cuello y se implanta una prótesis. Almacenadas en un congelador, las cabezas femorales son enviadas al Instituto de Ingeniería Mecánica y Biomecánica (I2MB) de la Universidad Politécnica de Valencia, donde se ha realizado esta Tesis de Máster. En el I2MB se cortan y se limpian con ultrasonidos las muestras de hueso trabecular para luego enviarlas a la Universidad de Santiago de Compostela en Ferrol, donde se escanean por μ CT con una resolución isotrópica de 13.5 μ m mediante el escáner Skyscan1172 (Bruker, Kontig, Bélgica). Esto permite caracterizar la morfometría de los especímenes de hueso trabecular. Por último, se devuelven las muestras al I2MB junto con las imágenes μ CT correspondientes.

En este Trabajo de Fin de Máster se han utilizado dos conjuntos de imágenes μ CT: de hueso trabecular sano y de hueso trabecular osteoporótico. En el caso de la muestra de hueso trabecular sano, la cabeza femoral provenía de un paciente menor de 65 años en proceso asistencial de patología mecánica, es decir, que había sufrido algún tipo de fractura (normalmente por impacto o caída). Además, destacar que el módulo de Young de esta muestra era de 11.819 GPa. Por otro lado, la muestra de hueso osteoporótico procedía de la cabeza femoral de un paciente mayor de 65 años tras haber sufrido una fractura subcapital desplazada con un módulo de Young de 14.765 GPa.

4.3. SEGMENTACIÓN

La segmentación es un proceso altamente utilizado en el procesamiento de imágenes biomédicas, ya que permite dividir una imagen en sus partes constituyentes hasta aislar las regiones de interés [66]. De hecho, este proceso se considera un requisito fundamental para la

identificación, análisis y cuantificación en 3D de las características del espécimen a segmentar, que en el caso de este TFM es el hueso trabecular [66].

El proceso de segmentación de las imágenes μ CT de hueso trabecular sano (ver Figura 4.1.) y osteoporótico de este TFM se realizó mediante el software *ScanIP* (Simpleware, Gran Bretaña) y se puede resumir en varios pasos según [25]:

1. En primer lugar, se definió manualmente un intervalo donde mejor se distinguía la microestructura del hueso trabecular, obteniendo así una máscara 3D del espécimen.
2. A continuación, se aplicó un filtro gaussiano para suavizar los contornos de la imagen.
3. Después, se realizó un análisis de conectividad de la máscara 3D resultante para comprobar si existían grupos de vóxeles inconexos a la estructura principal de hueso trabecular. En el caso de que existiesen tales vóxeles inconexos, éstos fueron eliminados. Esto es un punto muy importante para las simulaciones numéricas, ya que partes inconexas derivan en problemas numéricos.
4. Finalmente, se obtuvo una reconstrucción 3D de la máscara resultante de la segmentación, pudiendo observar la microarquitectura del hueso trabecular.

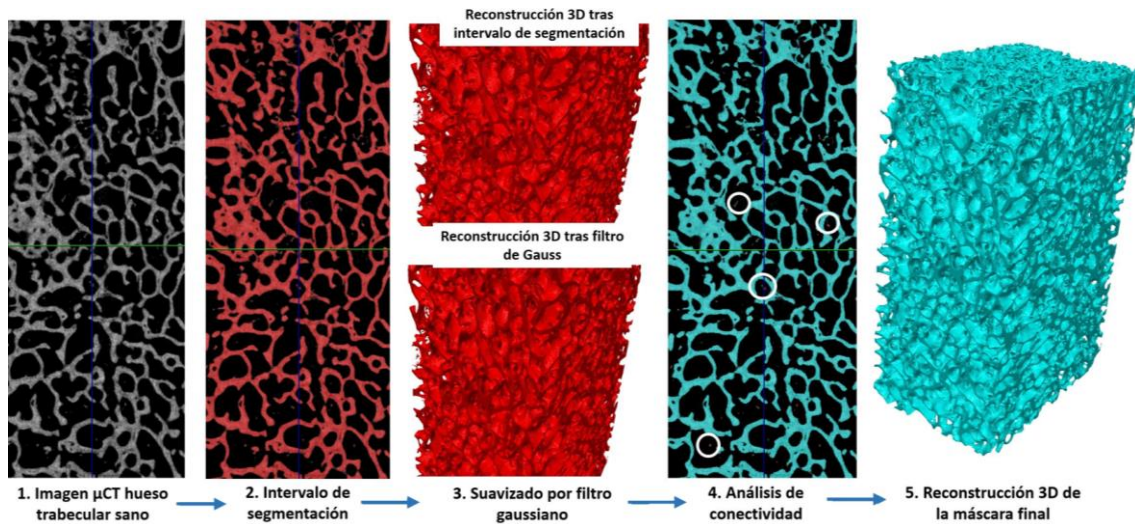


Figura 4.1. Proceso de segmentación de una imagen μ CT de hueso trabecular sano mediante el software *ScanIP* seguido en el TFM. Tras seleccionar un intervalo de segmentación y aplicar un filtro de suavizado tipo gaussiano, en la cuarta imagen empezando por la izquierda se indican con círculos blancos partes inconexas al hueso trabecular, que para la máscara 3D final han sido eliminadas tras el análisis de continuidad.

4.4. ANÁLISIS MORFOMÉTRICO DEL HUESO TRABECULAR

Tras obtener la máscara 3D de la microestructura trabecular, se realizó el análisis morfométrico de las muestras de hueso trabecular sano y osteoporótico mediante el software *ImageJ-BoneJ*. Cabe mencionar que las máscaras 3D resultantes de la segmentación han de ser primeramente binarizadas para poder ser utilizadas en *BoneJ*. Este software permite calcular diferentes características morfométricas, de las cuales esta Tesis de Máster ha tenido en cuenta las siguientes: fracción en volumen (BV/TV), relación superficie-volumen (BS/BV), espesor medio trabecular (Tb.Th), separación media trabecular (Tb.Sp), número de trabéculas (Tb.N), grado de anisotropía (DA), dimensión fractal (D) y densidad de conectividad (Conn.D). A continuación, se dará una breve explicación junto con la metodología de cálculo de cada una de las características.

4.4.1. Fracción en volumen (BV/TV)

La fracción en volumen es la división del número de vóxeles de hueso trabecular entre el número de vóxeles totales de la máscara 3D (Ecuación 4.1.) [25]. De esta manera, a partir de esta fracción se obtiene el porcentaje de volumen de hueso trabecular de la máscara segmentada [67].

$$\frac{BV}{TV} = \frac{\text{Número de vóxeles de hueso trabecular}}{\text{Número de vóxeles totales}} [\%] \quad (4.1.)$$

Ecuación 4.1. Fracción en Volumen

4.4.2. Relación superficie-volumen (BS/BV)

La relación superficie-volumen representa la cantidad de superficie ósea trabecular respecto al volumen óseo total. Para ello, *BoneJ* crea una malla a partir de la imagen del hueso y calcula el área de la superficie de dicha malla, asumiendo que todos los vóxeles del primer plano representan el hueso [25]. El volumen de hueso trabecular se calcula igual que en la fracción en volumen. BS/BV se expresa como en la Ecuación 4.2. y se mide en mm^{-1} .

$$\frac{BS}{BV} = \frac{\sum_{i=1}^N A_i}{\text{Número de vóxeles de hueso trabecular}} \left[\frac{1}{\text{mm}} \right] \quad (4.2.)$$

Ecuación 4.2. Relación superficie-volumen (BS/BV). A_i representa el área de la malla discretizada y N es el número de superficies.

4.4.3. Espesor trabecular medio (Tb.Th)

Tb.Th se define como el valor medio del espesor trabecular del espécimen de hueso trabecular, es decir, la distancia entre el esqueleto de la máscara ósea y su contorno tal y como se muestra en la Figura 4.2. [25]

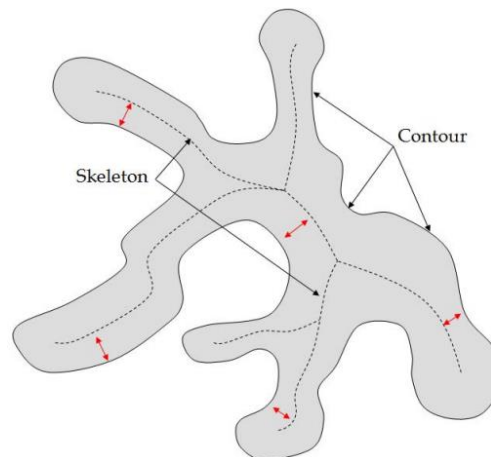


Figura 4.2. Definición de Tb.Th de una trabécula. *Extraído de [67].*

El espesor trabecular se calcula a partir del parámetro *Local Thickness* de Bob Dougherty, quien define el grosor en un punto como el diámetro de la esfera más grande que cabe dentro de la estructura y que contiene el punto [69]. Se suele expresar en mm [25]. En la Figura 4.3. se muestra el espesor trabecular medio de un corte 2D de la muestra de tejido óseo sano, donde los colores más vivos representan los espesores trabeculares más grandes (a la izquierda de la imagen).

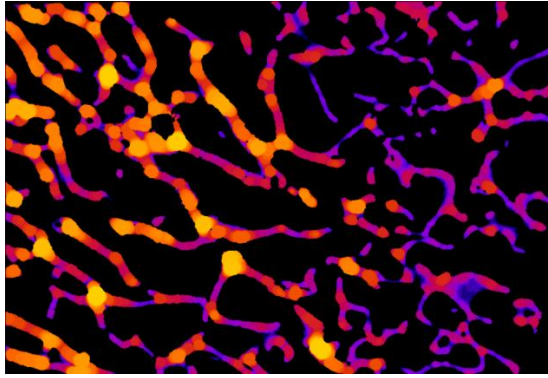


Figura 4.3. Corte 2D del espécimen óseo sano representando Tb.Th. Imagen obtenida con el software *ImageJ-BoneJ*.

4.4.4. Separación media trabecular (Tb.Sp)

Tb.Sp representa el valor medio de los huecos de médula ósea de la máscara segmentada en 3D, es decir, mide la porosidad. El método de cálculo es igual que el de Tb.Th pero aplicado de manera contraria, es decir, se calcula como el diámetro más grande de la esfera encontrada en los huecos de médula ósea [25]. Se suele también expresar en mm [25]. En la Figura 3.4. se representa un corte 2D del hueso trabecular con las esferas de mayor tamaño en los huecos óseos, donde, nuevamente, los colores más vivos hacen referencia a espesores mayores. Se puede observar por la Figura 4.3. y 4.4. que Tb.Th y Tb.Sp son inversas.

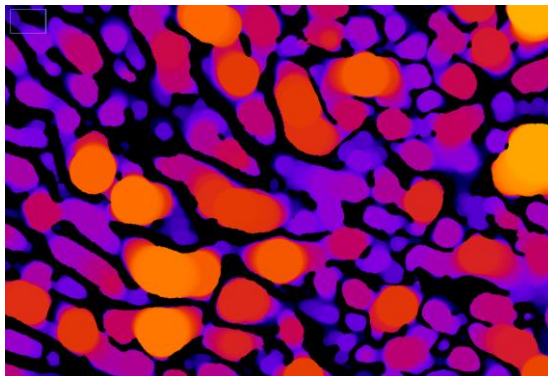


Figura 4.4. Corte 2D del espécimen óseo sano representando Tb.Sp. Imagen obtenida con el software *ImageJ-BoneJ*.

4.4.5. Número de trabéculas (Tb.N)

El número de trabéculas relaciona la fracción en volumen con el espesor medio trabecular según la Ecuación 3.3 y se mide nuevamente en mm^{-1} [25].

$$Tb.N = \frac{BV}{TV} \left[\frac{1}{Tb.Th} \right] \quad (4.3.)$$

Ecuación 4.3. Número de trabéculas.

4.4.6. Grado de anisotropía (DA)

El grado de anisotropía mide cuan ordenadas están las subestructuras dentro de un volumen respecto a una determinada dirección [70]. Esta característica es importante debido a que el hueso trabecular varía su orientación dependiendo de la carga mecánica y puede volverse

anisótropo [70]. Para su cálculo en una determinada dirección se utiliza el método de Longitud de Intersección Media (MIL), cuya implementación en 2D se describe por un conjunto de líneas paralelas de longitud h definidas por un ángulo Θ respecto a un eje de referencia y separadas una distancia d ; y por el número de intersecciones $C(\Theta)$ entre estas líneas y las trabéculas de la máscara segmentada para ese ángulo Θ determinado (mirar Figura 4.5.) [25]. Estos parámetros permiten calcular el MIL en 2D mediante la Ecuación 4.4.

$$MIL_{2D(\theta)} = \frac{h}{C(\theta)} \quad (4.4)$$

Ecuación 4.4. Cálculo de la longitud de intersección media (MIL).

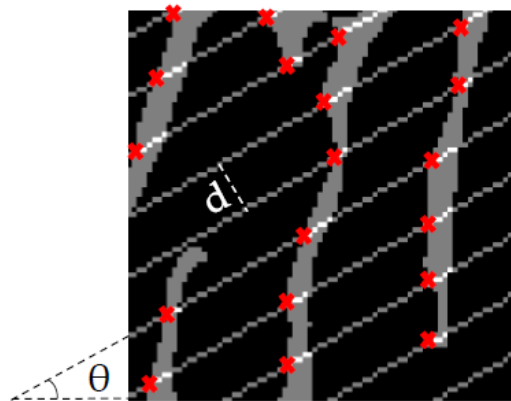


Figura 4.5. Método de longitud de intersección media (MIL). Por un lado, se puede observar un conjunto de líneas definidas por un ángulo Θ respecto a un eje de referencia y separadas una distancia d . Por otro lado, las cruces rojas indican las intersecciones entre las líneas y las trabéculas para ese ángulo Θ determinado. *Extraído de [25].*

De esta manera, si se dan menos intersecciones entre las líneas y las trabéculas, aumenta el valor de MIL, lo que indica que las trabéculas del hueso esponjoso siguen la orientación de esas líneas. De forma contraria, cuando la estructura no está orientada en la dirección de las líneas, el valor de MIL es más pequeño [25]. Este proceso se repite para un ángulo Θ que varía entre 0° y 180° obteniendo diferentes valores de MIL, que serán representados en un diagrama polar [25]. Así, mediante el método por mínimos cuadrados, los datos se ajustan a una elipse, lo que permite obtener la relación entre su eje largo y corto, que se denomina grado de anisotropía (DA) [25]. En la Figura 4.6. se muestra un ejemplo de aplicación del método MIL a una imagen segmentada y binarizada de hueso trabecular. En esta se puede observar mediante el gráfico polar que las trabéculas siguen una orientación preferente de 90° .

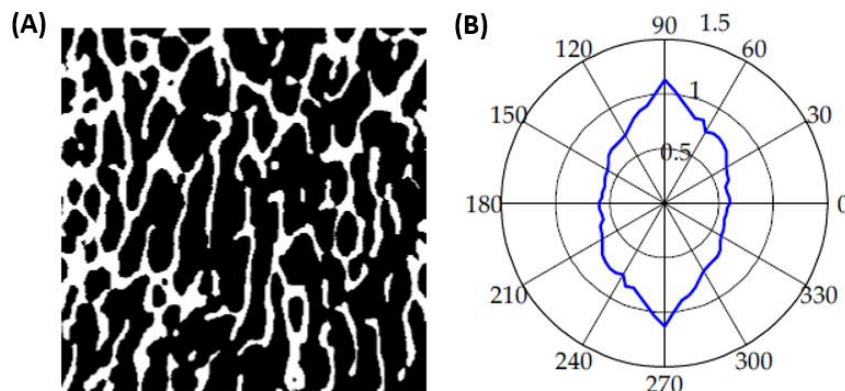


Figura 4.6. Aplicación del método MIL a una imagen μ CT de hueso trabecular. (A) Máscara segmentada de hueso trabecular. (B) Diagrama polar representando los valores MIL y una clara orientación de las trabéculas en 90°. *Extraído de [25].*

4.4.7. Dimensión fractal (D)

La dimensión fractal mide la complejidad de una estructura heterogénea, como la del hueso trabecular [25]. Esta característica morfométrica se estima mediante el algoritmo de conteo de cajas: cubriendo la imagen segmentada de cuadrados de una dimensión determinada, se cuenta el número de cuadrados que contienen hueso [25, 71]. Este proceso se repite para cuadrados de tamaño más pequeño, obteniendo así una relación logarítmica, cuya pendiente es la dimensión fractal. Cabe destacar que cuanto más pequeño es el tamaño de los cuadrados, la proporción de cuadrados que contienen hueso trabecular aumenta [71]. En la Figura 4.7. se muestra un ejemplo de aplicación del algoritmo de conteo de cajas disminuyendo el tamaño de éstas.

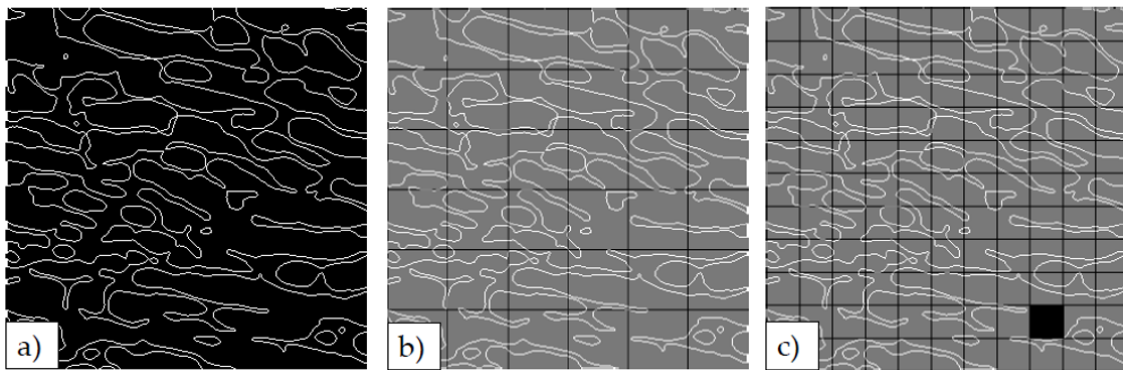


Figura 4.7. Algoritmo de conteo de cajas. (a) Máscara segmentada de hueso trabecular. (b) Aplicación del algoritmo de conteo de cajas con cuadrados de tamaño de 53 píxeles. (c) Aplicación del algoritmo de conteo de cajas con cuadrados de tamaño de 29 píxeles. *Extraído de [25].*

4.4.8. Densidad de conectividad (Conn.D)

La densidad de conectividad es una medida computacional de interconectividad entre trabéculas y puede ser un indicador del cambio de rigidez y resistencia mecánica debido a patologías como la osteoporosis [25, 72]. La conectividad de una estructura se calcula mediante la ecuación de Euler-Poincaré que depende a su vez de la característica topológica de Euler (X) siguiendo la Ecuación 4.5., donde β_0 es el número de partes de la estructura, β_1 es la conectividad y β_2 es el número de huecos que rodean al hueso [25]. En el caso del hueso trabecular se espera tener solo una estructura ($\beta_0=1$) y sin huecos ($\beta_2=0$) [25].

$$X = \beta_0 - \beta_1 - \beta_2 \quad (4.5)$$

Ecuación 4.5. Ecuación Euler-Poincaré.

Finalmente, la densidad de conectividad se calcula dividiendo la Ecuación 4.5. por el volumen, tal y como se muestra en la Ecuación 4.6 [25].

$$Conn. D = \frac{1 - X}{V} \quad (4.6)$$

Ecuación 4.6. Densidad de conectividad.

4.5. RESULTADOS ESTUDIO 1: CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA HUESO TRABECULAR

Como se mencionaba al principio de este capítulo, se ha analizado la morfometría de una muestra de hueso trabecular sano y otra de hueso trabecular osteoporótico. Las características microestructurales calculadas en ambos especímenes fueron: la fracción en volumen (BV/TV), la relación superficie ósea-volumen óseo (BS/BV), el espesor medio trabecular (Tb.Th), la separación media trabecular (Tb.Sp), el número de trabéculas (Tb.N), el grado de anisotropía (DA), la dimensión fractal (D) y la densidad de conectividad (Conn.D). Estos parámetros se utilizan comúnmente para caracterizar la microestructura trabecular [25]. En la Tabla 4.1. se recogen los resultados de cada parámetro para cada muestra.

TABLA 4.1. RESULTADOS CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA HUESO TRABECULAR SANO Y OSTEOPORÓTICO

Característica morfométrica	Muestra hueso trabecular sano	Muestra hueso trabecular osteoporótica
BV/TV [%]	30.630	16.379
BS/BV [mm ⁻¹]	13.092	19.750
Tb.Th [mm]	0.241	0.166
Tb.Sp [mm]	0.658	0.953
Tb.N [mm ⁻¹]	1.270	0.988
DA [-]	0.216	0.231
D [-]	2.519	2.466
Conn.D [mm ⁻³]	1.862·10 ⁻⁷	3.170·10 ⁻¹¹

Como se muestra en la tabla, la fracción en volumen de hueso sano y osteoporótico eran 30.630 % y 16.379 % respectivamente. Aunque se trataba de dos sujetos completamente distintos, cabe mencionar que el espécimen con osteoporosis poseía una fracción en volumen la mitad de pequeña que la muestra de cabeza femoral proveniente de un sujeto sin osteoporosis. En el caso de BS/BV era menor en el espécimen sano (13.092 mm⁻¹) que en el patológico (19.750 mm⁻¹), lo cual está relacionado con un menor volumen óseo. Al igual que con la fracción en volumen, también ocurría una disminución en Tb.Th y Tb.N en el espécimen osteoporótico. La muestra sana poseía un espesor trabecular medio de 0.241 mm y un número de trabéculas de 1.270 mm⁻¹, mientras que grosor trabecular osteoporótico medía 0.166 mm y poseía un valor de 0.988 mm⁻¹ en Tb.N. De forma contraria, Tb.Sp sufría un incremento en la muestra patológica, midiendo 0.953 mm, mientras que la sana tenía una separación media trabecular de 0.658 mm, cosa que resalta el aumento del tamaño de poro, relacionándose con una mayor posibilidad de fractura. La dimensión fractal y el grado de anisotropía tenían valores parecidos en ambas muestras, siendo de 2.519 y 0.216 para el hueso sano y 2.466 y 0.231 para la muestra osteoporótica, respectivamente. Por último, la conectividad del espécimen sano era de 1.862·10⁻⁷ mm⁻³ y de 3.170·10⁻¹¹ mm⁻³ en el osteoporótico.

Es preciso señalar que los resultados morfométricos obtenidos de la muestra sana se encuentran dentro de los rangos de hueso trabecular de cabezas femorales concluidos por Tor Hildebrand *et al.* (2009), excepto por el grado de anisotropía que es ligeramente menor a los de este estudio [73]. Del mismo modo, los valores de la caracterización morfométrica del espécimen osteoporótico son similares a los resultados de otros estudios, como el de Martin Frank *et al.* (2021) y L. Dalle Carbonare *et al.* (2019) [74, 75].

4.6. CONCLUSIONES ESTUDIO 1: CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA HUESO TRABECULAR

Como se ha mencionado en el Subcapítulo 2.2., la osteoporosis es una enfermedad ósea que es responsable del adelgazamiento de las trabéculas, del aumento de la porosidad y de la pérdida de conectividad trabecular, resultando todo ello en una disminución de la masa ósea. Mediante el análisis morfométrico, es posible observar las consecuencias de esta enfermedad en la microarquitectura ósea. En este TFM se ha deducido a partir de los resultados morfométricos, que una menor fracción en volumen podría deberse a la pérdida ósea, el adelgazamiento de las trabéculas podría ser responsable de la disminución de Tb.Th y Tb.N, el aumento de la porosidad podría causar el aumento en la separación media trabecular Tb.Sp y, por último, la pérdida de conectividad podría producir la disminución de Conn.D. Esta deducción se puede visualizar en la Figura 4.8. en la que se representan las dos muestras utilizadas en el análisis morfométrico. No obstante, no es posible obtener conclusiones significativas de estos resultados debido a la cantidad de muestras analizadas y a que hacen referencia a dos sujetos diferentes. Sin embargo, cabe señalar que en literatura se ha consensuado que la disminución tanto de BV/TV como de Tb.N junto con el un aumento de Tb.Sp son consecuencia de la osteoporosis [74].

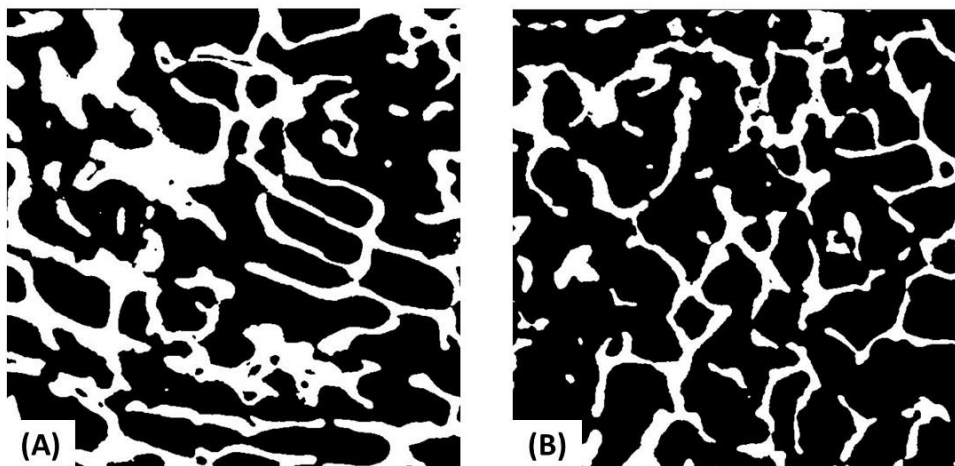


Figura 4.8. Cortes 2D de imágenes de hueso trabecular sano y osteoporótico obtenidos con *ImageJ-BoneJ*. (A) Corte 2D de la máscara segmentada de hueso trabecular sano. (B) Corte 2D de la máscara segmentada de hueso trabecular osteoporótico. Comparando ambos cortes, se puede observar una disminución del espesor de las trabéculas, así como una reducción de la conectividad trabecular en la muestra osteoporótica. De la misma manera, la separación trabecular es mayor en el caso patológico.

Debido a la influencia que la microarquitectura del hueso esponjoso posee sobre las propiedades mecánicas del hueso, en este TFM ha sido relevante tener en cuenta los resultados morfométricos del espécimen sano para el correcto diseño y comportamiento mecánico del sustituto óseo TPMS estudiando casos paciente-específicos. Además, la caracterización morfométrica realizada permite diseñar alternativas de andamios óseos optimizados para cada muestra.

CAPÍTULO 5

ESTUDIO 2: EVALUACIÓN DEL TAMAÑO DE CELDA UNIDAD EN TPMS

5.1. INTRODUCCIÓN

Se ha demostrado que la morfometría y la fabricación de las estructuras reticulares TPMS dependen tanto de la geometría como del tamaño de las celdas unidad que las componen [26]. Por tanto, para lograr un diseño, fabricación y comportamiento mecánico óptimos de las TPMS, es necesario comprender primero la relación del tamaño de las celdas unidad con la morfometría y, por ende, con su rendimiento mecánico.

De esta manera, en este capítulo se ha evaluado la relación e influencia del tamaño de la celda unidad en la microestructura TPMS de un giroide con una fracción en volumen específica. El objetivo de este análisis de dimensión es encontrar el tamaño óptimo de celda unidad que mejor se ajuste a las características morfométricas del hueso trabecular, con el propósito de obtener sustitutos óseos TPMS con características morfológicas similares al hueso que favorezcan la osteointegración en el proceso de remodelación ósea. Es decir, que brinden un entorno mecánico estable en su implantación en defectos óseos de gran tamaño.

5.2. DEFINICIÓN DE LA GEOMETRÍA Y TAMAÑO DE LAS CELDAS UNIDAD

Antes de comenzar el análisis de dimensión, se seleccionó la geometría de las celdas unidad para formar la estructura TPMS. Dentro de la ingeniería de andamios óseos con estructuras TPMS, las geometrías más utilizadas son la giroide, diamante y primitiva, siendo la giroide la más popular debido a su robusto rendimiento mecánico [76]. Además, éstas se pueden encontrar en la naturaleza como, por ejemplo, en las membranas internas de la mitocondria o en las alas de las mariposas, y se ha sugerido que la curvatura de su arquitectura es beneficiosa para evitar la concentración de tensiones mecánicas [76]. Asimismo, en comparación con otras estructuras TPMS, las giroides presentan una alta permeabilidad y rigidez, lo cual es primordial para mantener un entorno mecánico estable [76]. De hecho, el estudio *in vitro* de Melches *et al.* (2010) demostró que la arquitectura giroide de un andamio óseo favorecía la adhesión celular [76]. Existen pocos estudios *in vivo*, pero Ekaterina Maevskaia *et al.* (2023) evaluaron las propiedades mecánicas y osteoconductoras de 3 estructuras TPMS (giroide, primitiva y diamante) y una reticular en defectos óseos calvarios de conejos, y concluyeron que las estructuras giroide y diamante mostraban las tasas más altas de crecimiento óseo [21]. Además, estas estructuras, una vez implantadas en el defecto óseo, permanecían prácticamente intactas, demostrándose así sus buenas propiedades mecánicas [21]. Por tanto, debido a sus grandes prestaciones mecánicas y celulares se seleccionó una arquitectura giroide para el análisis de dimensión. Además, cabe señalar que la configuración TPMS utilizada a lo largo de toda esta Tesis de Máster fue siempre tipo *sheet*, ya que posee ventajas potencialmente significativas para la ingeniería de tejidos frente a la tipo *solid*, tal y como se ha comentado en el Subcapítulo 2.4.

Tras elegir la geometría de la TPMS, el siguiente paso fue realizar el análisis del tamaño de las celdas unidad. Partiendo de que el tamaño global de las estructuras TPMS giroides era 3x3x3

mm³, se crearon 5 andamios TPMS con diferente número de celdas unidad y, por consiguiente, con distinto tamaño de celda unidad. Estas estructuras se diseñaron mediante el software de diseño asistido por computadora *MSLattice*, que permite generar estructuras reticulares de mínima superficie tipo *sheet* o *solid*, ya sea eligiendo las geometrías que ofrece por defecto o escribiendo una función matemática por el usuario. Además, también permite obtener las estructuras en volúmenes cuboides, cilíndricos o esféricos, seleccionar el número de celdas unidad por dirección y ajustar la fracción en volumen.

La relación BV/TV utilizada en las 5 TPMS giroides fue 30.6 %, el valor de la fracción en volumen óseo del hueso trabecular sano analizado (30.63 %), con el fin de asemejar lo máximo posible la microestructura TPMS a la trabecular. En la Figura 5.1., se muestra la interfaz de *MSLattice* utilizada para el diseño de una TPMS giroide formada por 3 celdas unidad por dirección y con una fracción en volumen de 30.6 %.

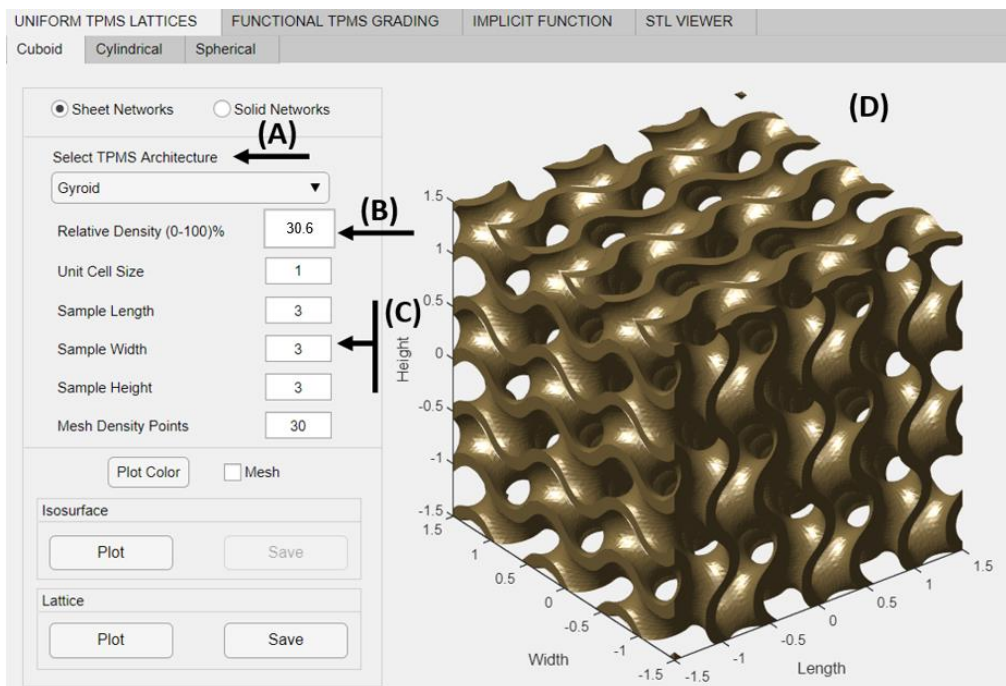


Figura 5.1. Interfaz de *MSLattice* en la creación de estructuras TPMS giroides. (A) Selección de una arquitectura giroide con configuración *sheet*. (B) Fracción en volumen de la estructura generada de un 30.6 %. (C) Especificación de 3 celdas unidad por dirección. (D) Estructura TPMS giroide resultante.

A partir de *MSLattice* se crearon las siguientes estructuras TPMS giroides (ver Figura 5.2.):

- **TPMS_Giroide_1:** estructura TPMS de 3 mm³ formada por una única celda unidad por dirección (1x1x1), luego la celda unidad medía 3 mm.
- **TPMS_Giroide_2:** estructura TPMS de 3 mm³ formada por dos celdas unidad por dirección (2x2x2), luego cada celda medía 1,5 mm.
- **TPMS_Giroide_3:** estructura TPMS de 3 mm³ formada por tres celdas unidad por dirección (3x3x3), luego cada celda unidad medía 1 mm.
- **TPMS_Giroide_4:** estructura TPMS de 3 mm³ formada por cuatro celdas unidad por dirección (4x4x4), luego cada celda unidad medía 0,75 mm.
- **TPMS_Giroide_5:** estructura TPMS de 3 mm³ formada por tres celdas unidad por dirección (5x5x5), luego cada celda unidad medía 0,6 mm.

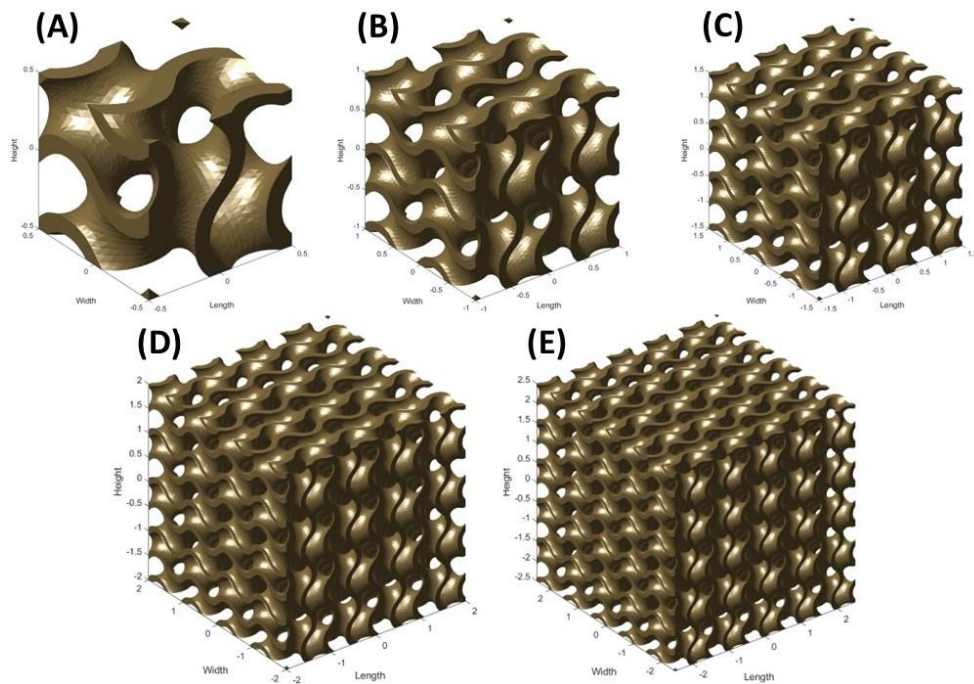


Figura 5.2. Diseños de las 5 estructuras TPMS giroides obtenidas con el programa *MSLattice*. (A) Estructura TPMS_Giroide_1 con una celda unidad. (B) Estructura TPMS_Giroide_2 con dos celdas unidad por dirección. (C) Estructura TPMS_Giroide_3 con 3 celdas unidad por dirección. (D) Estructura TPMS_Giroide_4 con 4 celdas unidad por dirección. (E) Estructura TPMS_Giroide_5 con 5 celdas unidad por dirección.

5.3. GENERACIÓN DE MODELOS Y ANÁLISIS MORFOMÉTRICO ESTRUCTURAS TPMS

Tras diseñar las diferentes estructuras TPMS giroides, se procedió a generar modelos sólidos de los andamios a partir de las geometrías superficiales mediante la herramienta *ScanIP*. Al importar el diseño, se generó una geometría superficial, que posteriormente se convirtió en una máscara superficial, es decir, en una máscara con píxeles únicamente en la superficie. De esta manera, el siguiente paso fue rellenar esa máscara superficial utilizando la opción *cavity fill*, obteniendo finalmente una máscara 3D sólida. Por último, se aplicó un filtro gaussiano y se realizó un análisis de conectividad para evitar regiones inconexas a la estructura principal, generando así el modelo final de cada uno de los andamios.

El siguiente paso fue analizar la morfometría de cada una de esas máscaras para así observar la influencia del tamaño de celda unidad en las características microestructurales de las TPMS. Las características morfométricas se calcularon de la misma forma explicada en el Subcapítulo 4.4. y fueron: la relación superficie-volumen reticular (TPMS_S/TPMS_V), el espesor medio reticular (Ret.Th), la separación media reticular (Ret.Sp), el número de retículas (Ret.N), el grado de anisotropía (DA), la dimensión fractal (D) y la densidad de conectividad (Conn.D).

5.4. RESULTADOS ESTUDIO 2: EVALUACIÓN DEL TAMAÑO DE CELDA UNIDAD EN TPMS

Habiendo definido la fracción en volumen como 30.6 % para todas las estructuras a partir de la muestra trabecular sana, se pudo observar los siguientes efectos microestructurales debidos al tamaño de la celda unidad (ver Tabla 5.1.).

En primer lugar, se observó que la disminución del tamaño de las celdas producía una mayor relación superficie-volumen reticular, al tener más celdas de menor tamaño relleno en total la misma fracción en volumen. Esto indica que existe una mayor área superficial, cosa que es beneficiosa para los procesos metabólicos relacionados con intercambios gaseosos, de nutrientes o de residuos. De esta manera, la TPMS_Giroide_5, con un tamaño de celda de 0.6 mm, presentaba el valor más alto: 36.439 mm⁻¹.

En segundo lugar, reduciendo las dimensiones de la celda unidad de las estructuras TPMS, se observó una disminución tanto del espesor como de la separación media reticular. Si se toman como ejemplo las estructuras TPMS_Giroide_1 y TPMS_Giroide_5, se observa que, para el mismo espacio volumétrico, en el primer caso solo hay una única celda unidad, mientras que en el segundo caso existen 5 por dirección. De esta manera, parece coherente pensar que una única celda unidad en un espacio de 3 mm³ proporcione un espesor y separación reticular mayor que 5 celdas unidad ajustadas en ese mismo espacio, donde al ser las celdas más pequeñas, los espacios y espesores reticulares se hacen en consecuencia también más pequeños. De este modo, los Ret.Th (0.319 mm) y Ret.Sp (1.169 mm) más altos se obtuvieron para la estructura TPMS_Giroide_1, con un tamaño de celda unidad de 3 mm.

En tercer lugar, de forma contraria a Ret.Th y Ret.Sp, al disminuir la dimensión de la celda unidad, se producía un aumento del número reticular, creciendo hasta 4.855 mm⁻¹ para la TPMS_Giroide_5.

En cuarto lugar, conforme disminuían el tamaño de las celdas unidad, la dimensión fractal crecía ligeramente (2.413 era la más alta para TPMS_Giroide_5 y 2.260 la más pequeña para TPMS_Giroide_1), lo que podría ser debido al aumento de la complejidad de las estructuras TPMS. Lo contrario ocurría con la densidad conectiva reticular, siendo mayor cuanto más grande era la celda unidad.

Por último, cabe señalar que el grado de anisotropía era en todos los casos muy pequeño y similar, independientemente del tamaño de la celda unidad, indicando isotropía (un DA de 0 indica isotropía), relacionada con la triple periodicidad de estas estructuras. El valor más grande lo presentaba la TPMS_Giroide_1 (0.0107), mientras que el más pequeño era de 0.0081 en TPMS_Giroide_2. Comparando estos valores con los recogidos en la Tabla 3.1., se pudo observar que los resultados de DA de las estructuras TPMS giroides eran significativamente más pequeños en comparación con la muestra de hueso trabecular sano, que tenía un grado de anisotropía de 0.22, lo que indica un comportamiento mecánico más direccional debido a la existencia de una dirección preferente.

TABLA 5.1. RESULTADOS ANÁLISIS MORFOMÉTRICO TPMS GIROIDE

Característica morfológica	TPMS_Giroide_1	TPMS_Giroide_2	TPMS_Giroide_3	TPMS_Giroide_4	TPMS_Giroide_5
Tamaño celda unidad [mm]	3	1.5	1	0.75	0.6
TPMS_V/TV [%]	30.6	30.6	30.6	30.6	30.6
TPMS_S/BV [mm ⁻¹]	8.449	15.442	22.455	29.448	36.439
Ret.Th [mm]	0.319	0.158	0.105	0.079	0.063
Ret.Sp [mm]	1.169	0.543	0.359	0.268	0.214
Ret.N [mm ⁻¹]	0.961	1.934	2.906	3.878	4.855

DA [-]*	0.0107	0.0081	0.0086	0.0098	0.0087
D [-]	2.260	2.364	2.376	2.420	2.413
Conn.D [mm ⁻³]	1.770·10 ⁻⁸	7.723·10 ⁻⁹	1.270·10 ⁻¹³	5.326·10 ⁻¹⁴	2.720·10 ⁻¹⁴

*Se ha decidido poner cuatro decimales al parámetro DA al ser sus valores tan pequeños.

Una vez comprendidas las relaciones entre las características microestructurales y el tamaño de la celda unidad, se procedió a hacer una comparación de estos valores morfométricos con la caracterización de hueso trabecular procedente de cabezas femorales de Tor Hildebrand *et al* (2009) [73]. Cabe señalar que los resultados de este equipo de investigación no incluían rangos de dimensión fractal ni densidad conectiva. Debido a esto y a que los valores obtenidos por el análisis morfométrico de hueso trabecular sano del Capítulo 4 son de una única muestra aislada, finalmente para el análisis de dimensión de las estructuras TPMS se tuvieron en cuenta los siguientes parámetros microestructurales: fracción en volumen reticular (TPMS_V/TV), relación superficie-volumen reticular (TPMS_S/TPMS_V), el espesor medio reticular (Ret.Th), la separación media reticular (Ret.Sp), el número de retículas (Ret.N) y el grado de anisotropía (DA).

Mediante los resultados del análisis de dimensión, se pudo comprobar que la celda unidad de 1.5 mm era la única que cumplía con los rangos de espesor medio, separación media, relación superficie-volumen y número de trabéculas correspondientes al hueso trabecular. No obstante, también cabe destacar que otros tamaños de celda, definidos por los puntos de corte azules de las relaciones obtenidas en la Figura 5.3. con la región sombreada, también se encontraban en ciertos rangos típicos de hueso trabecular. En la Figura 5.3. se representan las relaciones de estas características morfométricas con el tamaño de celda unidad, visualizando en naranja los rangos microestructurales de hueso trabecular. Sin embargo, como era de esperar debido a la ausencia de direcciones preferentes en las TPMS, ningún andamio TPMS se ajustaba a los valores típicos de grado de anisotropía de hueso trabecular, que oscila entre 0,29 y 1,38. Por último, hay que destacar que como todas las estructuras TPMS fueron diseñadas desde el principio con una fracción en volumen de 30.6% como la del espécimen sano analizado en el Capítulo 4, ya cumplían el requisito de BV/TV característico del tejido óseo trabecular.

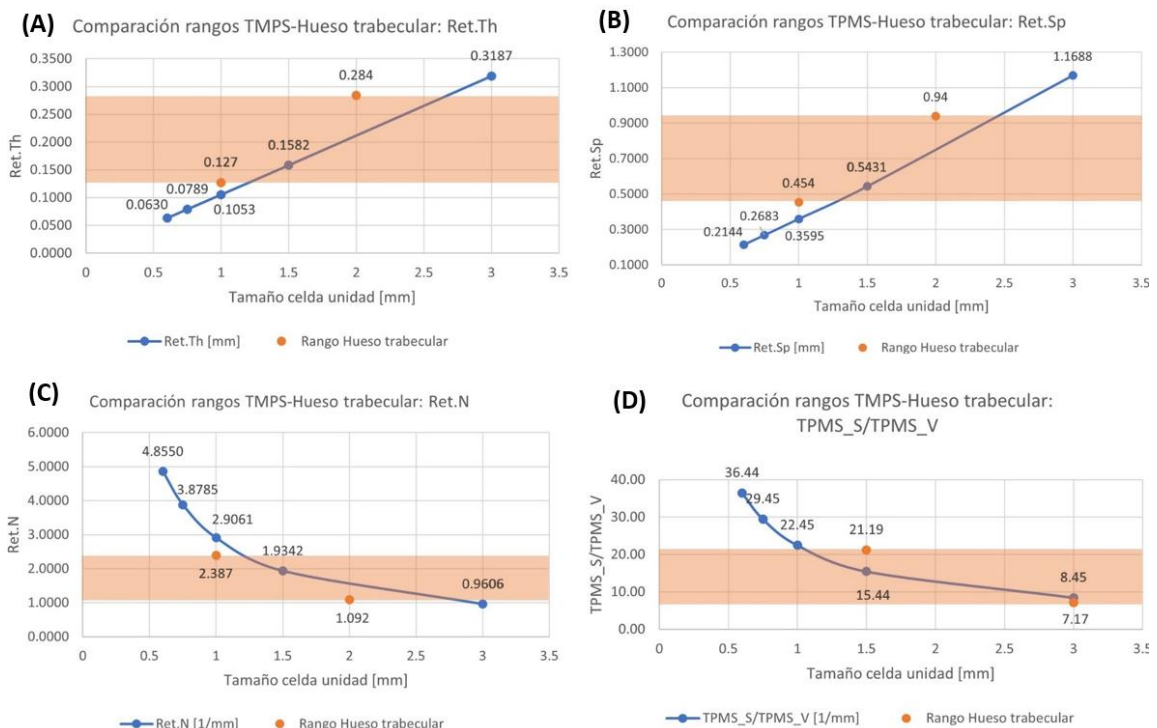


Figura 5.3. Relaciones entre las características morfométricas de las TPMS con el tamaño de las celdas unidad. (A) Relación del espesor medio reticular con el tamaño de la celda unidad. (B) Relación del espacio medio reticular con el tamaño de la celda unidad. (C) Relación número de retículas con el tamaño de la celda unidad. (D) Relación superficie-volumen reticular con el tamaño de la celda unidad. En azul se muestran las características morfométricas de las diferentes TPMS y en naranja se representan los rangos correspondientes de hueso trabecular. Se puede comprobar cómo la celda unidad de tamaño 1.5 mm posee todos sus parámetros morfométricos conforme a los rangos de hueso trabecular según [73].

5.5. CONCLUSIONES ESTUDIO 2: EVALUACIÓN DEL TAMAÑO DE CELDA UNIDAD EN TPMS

Este análisis de dimensión ha demostrado que una celda unidad de 1.5 mm de tamaño se ajusta a las características microestructurales de relación superficie-volumen, espesor, separación, y número trabecular típicos del hueso esponjoso. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Ricardo Belda *et al.* (2023), que tras comparar el hueso trabecular y la morfometría TPMS, considerando un tamaño celda unidad de 1.5 mm, evidenciaron que esta configuración se ajustaba a los requisitos de fracción de volumen, espesor medio y tamaño de poro [65].

No obstante, ninguna de las estructuras TPMS consideradas en este análisis de dimensión se ajusta a los valores típicos de grado de anisotropía de hueso trabecular. De hecho, en todos los casos tienen valores muy similares, independientemente del tamaño de la celda unidad. Esto es debido a que como las estructuras TPMS están formadas por la repetición periódica y regular de celdas unidad, poseen un comportamiento mecánico isótropo. Además, los resultados son significativamente más pequeños que el rango característico de hueso trabecular (0.29-1.38).

De esta manera, con los resultados obtenidos por medio de este análisis de dimensión, se decidió utilizar celdas unidad de 1.5 mm en el diseño de estructuras TPMS debido a sus excelentes características morfométricas, que permiten optimizar la osteointegración por su similitud con el hueso circundante al defecto.

CAPÍTULO 6

ESTUDIO 3: ANÁLISIS DEL EFECTO DE LA FRACCIÓN EN VOLUMEN EN LA MORFOMETRÍA Y RESPUESTA MECÁNICA DE ESTRUCTURAS TPMS

6.1. INTRODUCCIÓN

Se ha observado que en estructuras porosas como las TPMS, la fracción en volumen juega un papel fundamental en el rendimiento mecánico y en la morfometría de estructuras porosas [25]. De esta manera, el tercer estudio de esta Tesis de Máster tiene como objetivo diseñar diferentes estructuras TPMS con distintas fracciones en volumen con el fin de caracterizar su morfometría y propiedades mecánicas en función de la densidad relativa. Esto posibilita el diseño de sustitutos óseos TPMS con rigidez y microestructura parecida al hueso trabecular de modo que se eviten complicaciones como el *stress shielding* y se brinde un entorno mecánico y biológico estable en su implantación en defectos óseos de gran tamaño.

6.2. DISEÑO ESTRUCTURAS TPMS

El primer paso a la hora de diseñar las TPMS fue elegir las geometrías de las celdas unidad. Habiendo realizado el análisis de dimensión con andamios TPMS giroides y conociendo las excelentes propiedades mecánicas y osteointegrativas que poseen, se decidió utilizar esta arquitectura en una de las 4 estructuras TPMS. Para el resto de los andamios, se tomaron en consideración también otras geometrías para diseñar nuevas estructuras combinando funciones de otras TPMS conocidas, como la primitiva, la diamante o la IWP. Aspectos como la imitación de propiedades morfológicas (porosidad y tamaño de poros) y mecánicas (módulo elástico o rigidez) del hueso trabecular por parte de geometrías primitivas [77], la alta permeabilidad que posee la arquitectura IWP [78] o los altos niveles de interconectividad y estabilidad mecánica de las estructuras Diamante [21], se tuvieron en cuenta a la hora de crear las restantes estructuras TPMS. De este modo, mediante la combinación de las funciones matemáticas de las arquitecturas nombradas anteriormente junto con la incorporación de nuevos factores matemáticos, se obtuvieron las ecuaciones AFM₁, AFM₂ y AFM₃. Éstas vienen expresadas a continuación en la Ecuación 6.1., 6.2. y 6.3.

$$AFM_1(x, y, z) = [\cos(4\pi y) \cdot \sin(4\pi z) + \cos(4\pi x) \cdot \sin(4\pi y) + \cos(4\pi z) \cdot \sin(4\pi x)] + [\sin(2\pi x) \cdot \sin(2\pi y) + \sin(2\pi z) \cdot \sin(2\pi y) + \sin(2\pi z) \cdot \sin(2\pi x)] - [\cos(2\pi x) \cdot \cos(2\pi y) + \cos(2\pi z) \cdot \cos(2\pi y) + \cos(2\pi z) \cdot \cos(2\pi x)] = C \quad (6.1.)$$

Ecuación 6.1. Función matemática AFM₁.

$$AFM_2(x, y, z) = \cos(2\pi x) + \sin(4\pi y)^2 + \cos(2\pi y) + \sin(4\pi z)^2 + \cos(2\pi z) + \sin(4\pi x)^2 = C \quad (6.2.)$$

Ecuación 6.2. Función matemática AFM₂.

$$AFM_3 = \cos(4\pi x) \cdot \cos(2\pi z) + \cos(4\pi y) \cdot \cos(2\pi x) + \cos(4\pi z) \cdot \cos(2\pi y) = C \quad (6.3.)$$

Ecuación 6.3. Función matemática AFM₃.

El siguiente paso consistió en determinar los valores de fracción en volumen (TPMS_V/TV) que se iban a analizar. Debido a que el rango típico de BV/TV de hueso trabecular oscila entre 11.8 % y 48.1 %, se decidió utilizar dos fracciones en volumen dentro de este rango y otras dos fuera de él. Cabe destacar que la característica morfométrica BV/TV de la muestra de hueso trabecular sano analizada en el Capítulo 4 (30.63 %), se tuvo en cuenta a la hora de definir las fracciones en volumen de las estructuras TPMS. De este modo, se decidió utilizar las siguientes fracciones en volumen: 10 %, 31 %, 40 % y 60 %.

Como se mencionaba en el Subcapítulo 2.4., los parámetros arquitectónicos de las estructuras TPMS, como fracción en volumen, porosidad o tamaño de poro, pueden ser ajustados en función de lo que desee el usuario a partir del indicador C –también denominado isovalor–, pues éste controla la geometría de la superficie. De esta manera, para poder diseñar las funciones AFM₁, AFM₂ y AFM₃ con las fracciones en volumen deseadas, fue necesario definir un isovalor C específico de cada andamio TPMS para cada densidad relativa. Los valores de este parámetro vienen recogidos en la Tabla 6.1., donde se puede observar que, para cada tipo de estructura TPMS, el valor de C aumentaba conforme incrementaba la fracción en volumen.

TABLA 6.1. ISOVALORES C PARA LA DEFINICIÓN DE LAS GEOMETRÍAS TPMS

Estructura TPMS	Isovalor C			
	Fracción en volumen (TPMS_V/TV) [%]			
	10 %	31 %	40 %	60 %
AFM ₁	0.02	0.62	0.82	1.30
AFM ₂	0.32	0.92	1.23	1.86
AFM ₃	0.13	0.38	0.50	0.76

Una vez determinadas las funciones matemáticas, las fracciones en volumen a utilizar y los isovalores C para poder obtener dichas densidades relativas en las estructuras, se procedió al diseño de los andamios TPMS AFM₁, AFM₂ y AFM₃ tipo *sheet* mediante *MSLattice*. Cabe señalar que las estructuras TPMS Giroides con sus respectivas fracciones en volumen se pudieron diseñar directamente con este software concretando exclusivamente la densidad relativa y el número de celdas unidad deseadas, ya que esta geometría viene por defecto en el programa. Por último, añadir que para todas las estructuras TPMS diseñadas, se utilizaron por dirección 2 celdas unidad de 1.5 mm de tamaño cada una, tras haber demostrado poseer excelentes características morfométricas según los resultados obtenidos en el Capítulo 5. Por consiguiente, todas las estructuras TPMS medían 3 mm de lado. La Figura 6.1. muestra la interfaz de *MSLattice* y la definición de todos los parámetros anteriormente determinados con el fin de diseñar la estructura AFM₁ con una fracción en volumen del 10 %.

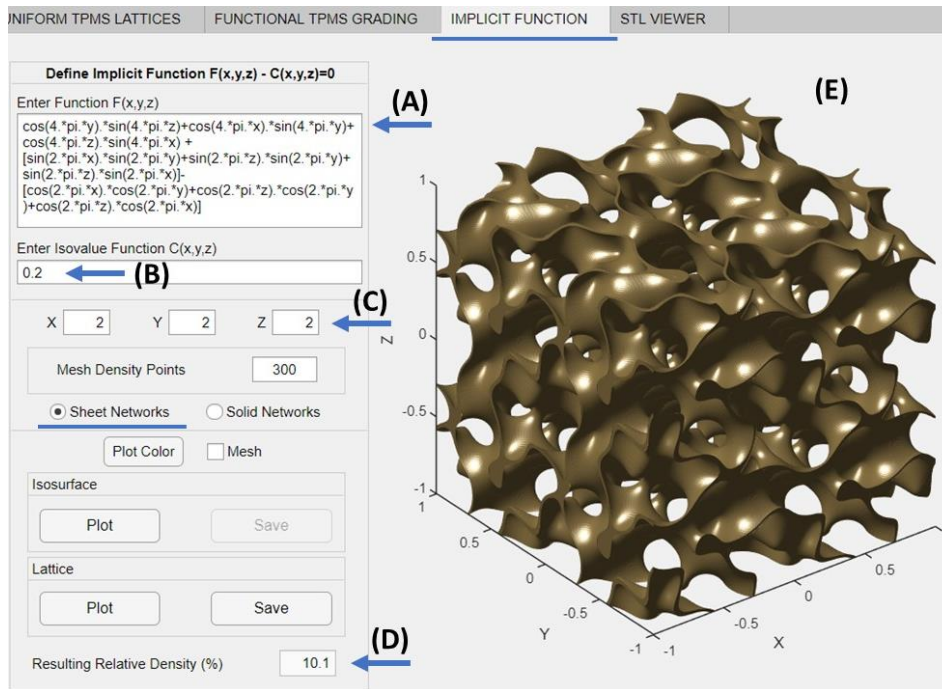


Figura 6.1. Interfaz *MSLattice* para el diseño de AFM_1 con una fracción del 10 %. (A) Desde la pestaña *implicit function* se puede definir una función creada por el usuario, en este caso la Ecuación 6.1. (B) Especificación del isovalor C para AFM_1 para la obtención de una fracción en volumen de 10 %. (C) Número de celdas unidad por dirección. (D) Fracción en volumen resultante utilizando el isovalor $C=0.2$. (E) Estructura TPMS AFM_1 resultante con una fracción en volumen de 10 %.

En resumen, se diseñaron 4 tipos diferentes de estructuras TPMS mediante el programa *MSLattice* con una configuración tipo *sheet*, con fracciones en volumen de 10 %, 31 %, 40 % y 60 %. Además, las estructuras median en su totalidad 3 mm de lado, ya que estaban formadas por 2 celdas unidad de 1.5 mm en cada dirección. En total se diseñaron 16 estructuras TPMS. En la Figura 6.2. se muestran todas las estructuras TPMS diseñadas con una fracción en volumen de 10 %.

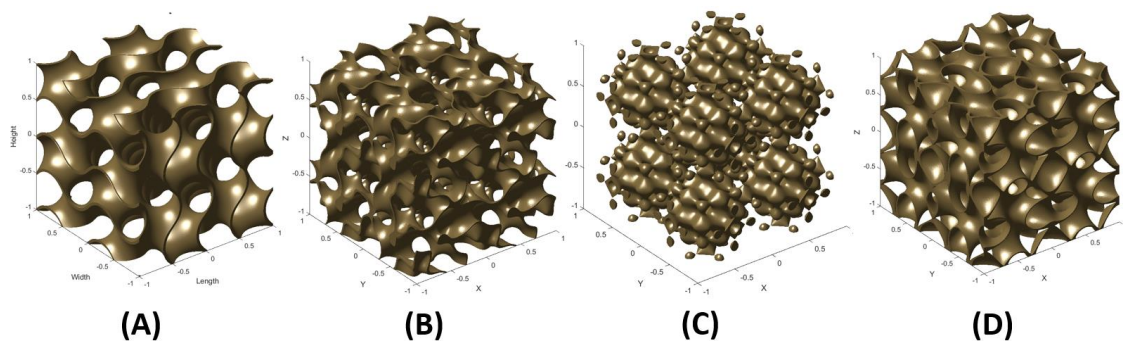


Figura 6.2. Estructuras TPMS con una fracción en volumen de 10 %. (A) Estructura TPMS Giroide. (B) Estructura TPMS AFM_1 . (C) Estructura TPMS AFM_2 . (D) Estructura TPMS AFM_3 .

6.3. GENERACIÓN DE LOS MODELOS Y ANÁLISIS MORFOMÉTRICO ESTRUCTURAS TPMS

Una vez diseñadas las diferentes estructuras TPMS, se obtuvo el modelo 3D de cada una de ellas con *ScanIP*. El proceso de generación fue el mismo que el explicado en el Subcapítulo 5.3. y que se muestra en la Figura 6.3. Resumidamente se importó una superficie TPMS, que

posteriormente fue rellenada utilizando la opción *cavity fill* para disponer de un modelo sólido, al que, por último, se le aplicó un análisis de conectividad con el fin de evitar regiones inconexas a la estructura principal.

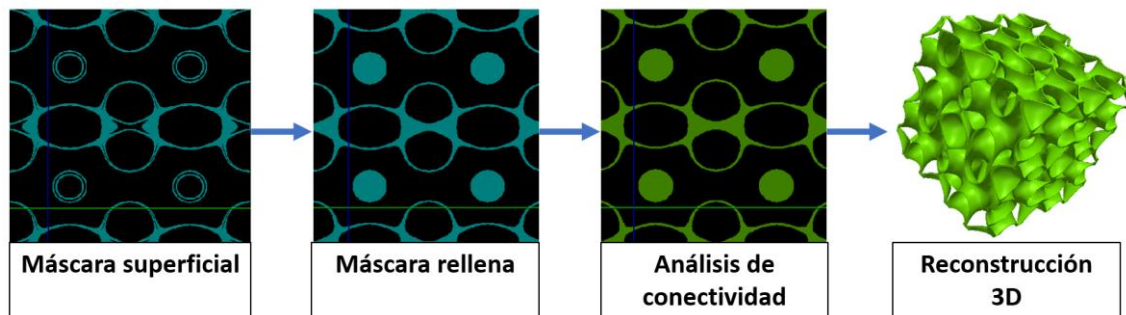


Figura 6.3. Procedimiento de generación de la estructura TPMS AFM₃ con una fracción en volumen de 31 % seguido en este TFM.

Una vez obtenidos los modelos 3D de las 16 estructuras TPMS, se realizó la caracterización morfométrica de estas mismas. Los parámetros se calcularon de la misma manera que se explica en el Subcapítulo 4.4., analizándose las siguientes características microestructurales: la relación superficie-volumen reticular (TPMS_S/TPMS_V), el espesor medio reticular (Ret.Th), la separación media reticular (Ret.Sp), el número de retículas (Ret.N), el grado de anisotropía (DA), la dimensión fractal (D) y la densidad de conectividad (Conn.D).

6.4. PREPARACIÓN ESTRUCTURAS TPMS

El siguiente paso fue imprimir en 3D parte de las estructuras TPMS con el fin de posteriormente someterlas a ensayos mecánicos experimentales y obtener así la rigidez aparente a compresión de las estructuras TPMS. Además, esto permitió calibrar los modelos de elementos finitos, de forma que se redujese la necesidad de experimentación, ahorrando costes asociados.

6.4.1. Fabricación aditiva (AM)

La fabricación aditiva (AM) ha adquirido gran importancia en la manufactura de implantes porosos para la regeneración ósea, ya que permite construir estructuras porosas, complejas y reproducibles en un periodo muy corto de tiempo [79, 80]. Dentro de los métodos de AM utilizados en la ingeniería de tejidos se encuentran la impresión por extrusión, la estereolitografía, la escritura directa con tinta (basada en los métodos de extrusión) y el modelado por deposición fundida [79].

El método de impresión 3D basado en extrusión es un método de fabricación aditiva que imprime capa a capa una tinta proveniente de un material pastoso, con el fin de construir con alta precisión una estructura 3D compleja (ver Figura 6.4.) [81]. Estas técnicas de impresión son generalmente las más económicas y permiten emplear una gran variedad de biomateriales, convirtiéndolas en el método más común de fabricación de andamios en el campo de la medicina regenerativa ósea [79]. De hecho, los métodos basados en extrusión son recomendados en la fabricación de andamios óseos ya que logran la geometría del defecto óseo, pudiéndose construir andamios específicos para un defecto determinado [81].

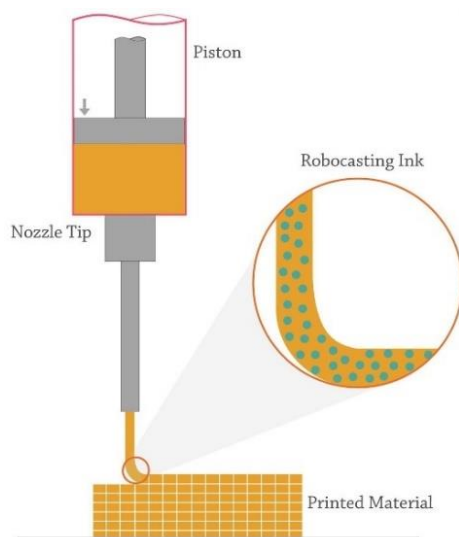


Figura 6.4. Método de impresión 3D basado en extrusión. Se puede observar que el filamento del material fluye por la punta de la boquilla por acción de un pistón, aunque también puede accionarse por un sistema neumático. A partir de ahí el material se deposita capa a capa formando finalmente una estructura 3D. *Adaptado de [81].*

Dentro de la gran variedad de materiales de impresión que existen, los polímeros sintéticos generalmente permiten controlar mejor las características fisicoquímicas de los andamios, como la porosidad, el tamaño de los poros o la respuesta alérgica y, además, poseen excelentes propiedades mecánicas [19]. Los polímeros sintéticos consisten en poliésteres alifáticos como el ácido poliláctico (PLA), el ácido poliglicólico (PGA) y la policaprolactona (PCL), cuyos copolímeros¹⁶ son los polímeros más utilizados en la ingeniería de tejido óseo [79]:

- La policaprolactona es un polímero termoplástico biocompatible y biodegradable que posee propiedades mecánicas modificables [19]. Sin embargo, es hidrofóbico, por lo que para su uso biológico necesita un tratamiento superficial [19].
- En segundo lugar, el ácido poliglicólico se utiliza en la mayor parte de estudios recientes como material de relleno de un andamio fabricado por otro polímero degradable [79]. La desventaja de este polímero es su alta tasa de degradación, que compromete su resistencia mecánica y que puede producir respuestas inflamatorias debido al aumento de PGA en el sistema [79].
- Por último, el ácido poliláctico es un polímero altamente biocompatible y fácilmente absorbido por el cuerpo [79]. Dicha propiedad de reabsorción hace que el PLA sea un polímero ideal para la fijación a corto plazo, como en el caso de la reparación de fracturas [79]. Además, cabe destacar que este material es termoplástico, es decir, altamente moldeable, lo que lo hace un material idóneo para su uso en impresión 3D [79].

De esta manera, debido a sus excelentes resultados de fabricación, en esta tesis se utilizó la impresión 3D por extrusión para la manufactura de las estructuras TPMS. Además, el material empleado en la fabricación de los andamios porosos fue el PLA, ya que con su alta moldeabilidad, permite imprimir con alta precisión estructuras complejas y porosas como los andamios TPMS.

¹⁶ Un copolímero es una macromolécula que está formada por más de un tipo de monómero.

6.4.2. Procedimiento de impresión 3D

Al ser *MSLattice* un programa de diseño asistido por computadora, se generaron 16 archivos de estereolitografía (STL) con la información detallada de cortes 2D de cada una de las estructuras TPMS a fabricar. Estos ficheros fueron importados al software *BCN3D stratos* (versión 1.6.3.), donde se configuraron diferentes parámetros de impresión: las TPMS se fabricaron con un relleno del 100 % de estilo cuadrícula, a una velocidad de 60 mm/s, sin soportes y con una adhesión a la placa tipo ala. Por último, se decidió escalar las celdas unidad de 1.5 mm a 15 mm por la comodidad de manejar andamios más grandes, detallando con mayor precisión las características microestructurales de los andamios, dada la precisión disponible de la impresora. Según los resultados de Ricardo Belda *et al.* (2023), la fracción en volumen es una característica morfométrica constante frente a la variación del tamaño de la celda unidad, por lo que escalar las celdas unidad 10 veces no suponía una modificación en la porosidad (fracción en volumen) de la estructura TPMS [65]. Además, esto tampoco afectaba a la rigidez de las estructuras, ya que era independiente del área. De esta manera, se imprimieron estructuras de 30 mm de tamaño con PLA a una temperatura de 220 °C con la impresora 3D *Epsilon W50* (BCN3D, Barcelona, España). Debido a que el tiempo de fabricación oscilaba entre 1 y 4 horas dependiendo de la fracción en volumen y que las estructuras iban a ser caracterizadas tanto mecánica como numéricamente, se decidió imprimir 3-4 muestras de cada fracción en volumen de TPMS Giroide y TPMS AFM₃, para evaluar la repetitividad de las muestras fabricadas y asegurar la correlación entre los modelos impresos y las simulaciones. De esta manera, se garantizaba que, para el resto de las estructuras, los modelos desarrollados que incorporasen las propiedades mecánicas estimadas con dichas tipologías podían utilizarse, disminuyendo así los costes temporales y económicos del proyecto. Además, se imprimió una muestra de AFM₁ por fracción en volumen, pero ninguna TPMS AFM₂ por las razones mencionadas. Finalmente, se fabricaron un total de 27 estructuras TPMS de 30 mm de lado.

En la Figura 6.5. (A) se muestra la utilización de *BCN3D stratos* para la preparación digital de la estructura TPMS AFM₃ con una fracción en volumen de 60 %, mientras que en (B) se muestran dos estructuras TPMS AFM₃ de fracción en volumen 31 % impresas con *Epsilon W50*.

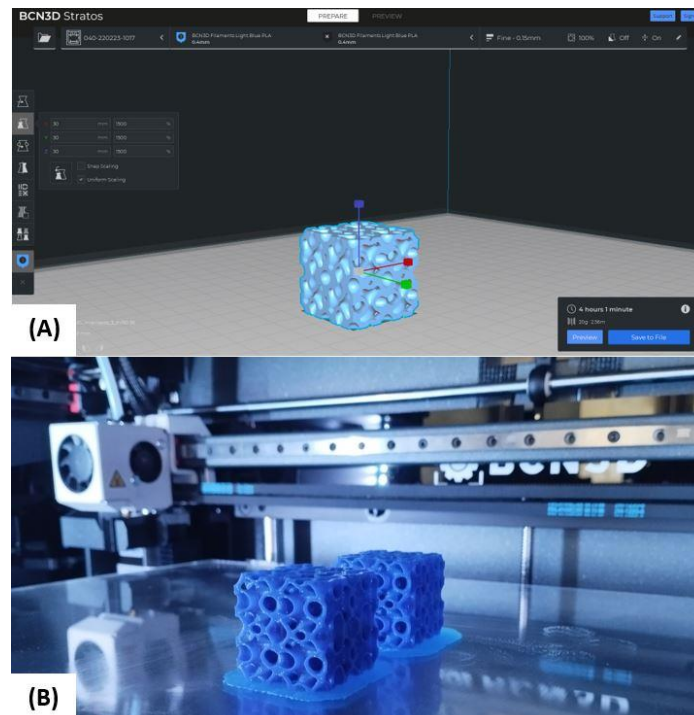


Figura 6.5. Fabricación estructuras TPMS AFM₃. (A) Estructura TPMS AFM₃ con fracción en volumen de 60 % en *BCN3D stratos* antes de su fabricación. (B) Estructuras TPMS AFM₃ de PLA con fracción en volumen de 31 % fabricadas con *Epsilon W50*.

6.5. CARACTERIZACIÓN MECÁNICA EXPERIMENTAL DE LAS ESTRUCTURAS TPMS

Una vez impresas las estructuras TPMS, se procedió a caracterizarlas mecánicamente mediante ensayos experimentales a compresión.

La caracterización mecánica de las estructuras TPMS se realizó mediante la máquina universal de ensayo servohidráulica *Instron 8801* (Instron, Barcelona, España) que se muestra en la figura 6.6. Este sistema mecánico permite realizar ensayos tanto dinámicos como estáticos con una capacidad de hasta 100 kN. En el caso de esta tesis de Máster se realizaron ensayos estáticos a compresión con control de desplazamiento de la célula de carga, aplicando una deformación a compresión del 30% del tamaño de la estructura, es decir, un desplazamiento de 10 mm. Este desplazamiento se aplicó verticalmente hacia arriba, ya que el pistón que se desplazaba era el inferior, produciendo una compresión. Las estructuras TPMS fueron colocadas correctamente de manera paralela a los platos de compresión de la máquina de ensayos para la aplicación de fuerzas uniaxiales, evitando la desalineación que podría producir fuerzas cortantes durante el ensayo. Además, se utilizó un sistema de imagen DIC (*Digital Image Correlation*) con la lente focal de alta resolución HF7518V-2 (Myutron, Japón) para así poder capturar la deformación durante el ensayo y detectar patrones de fractura en las estructuras TPMS. Estas imágenes de alta resolución fueron recogidas mediante el programa *VIC-2D Digital Image Correlation* (versión 6.0.2) (Correlated Solutions Inc., Estados Unidos). En la Figura 6.6. se muestra la preparación de un ensayo estático a compresión de una estructura TPMS Giroide de 40 % de fracción en volumen.

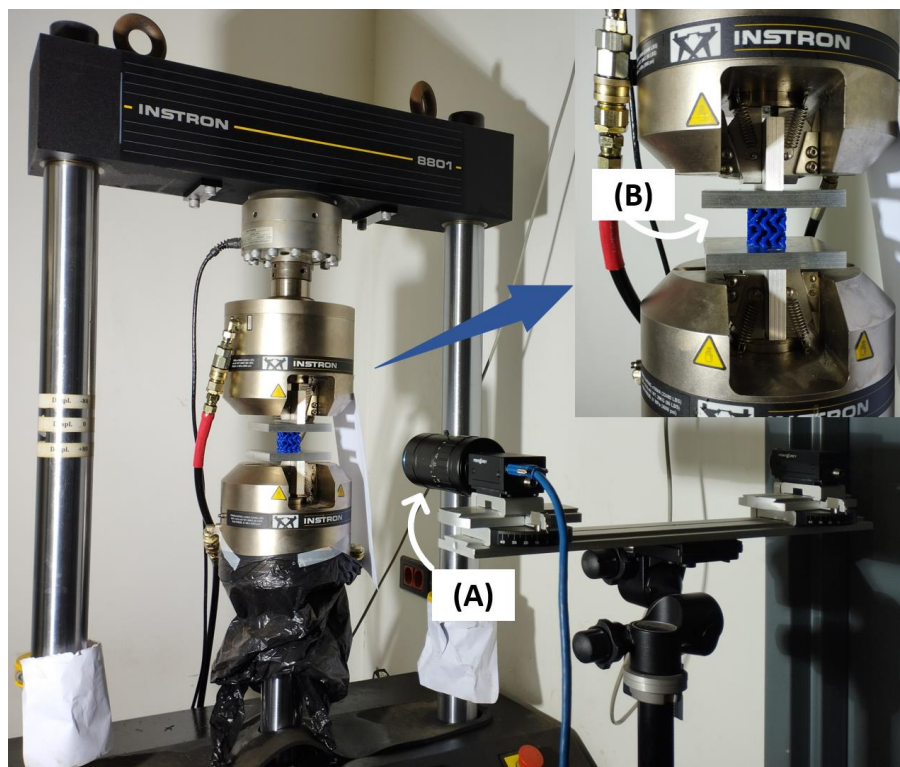


Figura 6.6. Ensayo estático a compresión de una estructura TPMS Giroide con una fracción en volumen de 40 %. (A) Equipo de imagen DIC para la caracterización microestructural del andamio TPMS Giroide. (B) Estructura TPMS Giroide de fracción en volumen de 40 % entre las dos placas de compresión.

Teniendo en cuenta que en este trabajo se consideraba que el fallo se producía al iniciarse la fluencia en el andamio TPMS, ya que un aumento de las deformaciones plásticas podría provocar problemas en la integridad del conjunto andamio-hueso, se realizó un diseño al fallo por fluencia. De esta manera, se determinaron diferentes parámetros mecánicos mediante el procesamiento con *MATLAB* (versión 2020) de los datos obtenidos: la tensión de fallo (σ_u) como la fuerza de compresión dividida por el área inicial de la sección transversal perpendicular a la dirección de la carga, siguiendo el método del 0.2 % de deformación (se traza una recta paralela a la región lineal desde un punto del 0.2 % de deformación); la deformación de fallo (ϵ_u) como el desplazamiento de compresión dividido por la altura inicial del andamio en el límite elástico; y la rigidez aparente de la estructura TPMS (E_{app}) como la pendiente de la respuesta lineal de un gráfico tensión-deformación. En la Figura 6.7. se muestra la gráfica tensión-deformación de la muestra 1 de la estructura TPMS Giroide con fracción en volumen de 40 %.

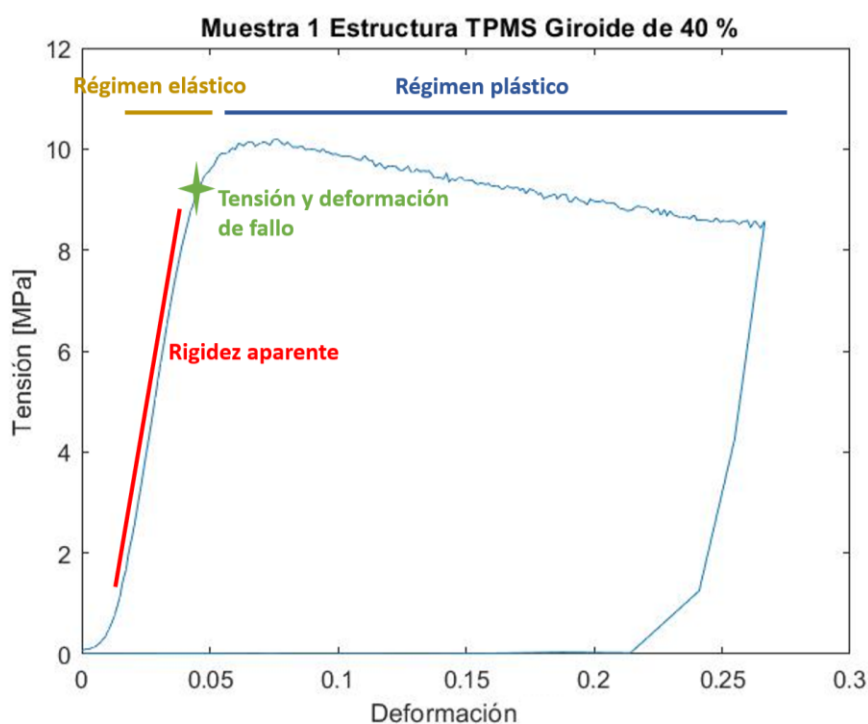


Figura 6.7. Parámetros mecánicos determinados mediante la gráfica tensión-deformación de la muestra 1 de la estructura TPMS Giroide con una fracción en volumen de 40 %. $\sigma_u = 8.91$ MPa, $\epsilon_u = 0.044=4.4$ % y $E_{app} = 275.27$ MPa.

6.6. CARACTERIZACIÓN MECÁNICA NUMÉRICA DE LAS ESTRUCTURAS TPMS

A partir de los modelos generados tras realizar la modelización de cada estructura TPMS, se mallaron por medio de elementos finitos cada una de los modelos con *ScanIP*. Se estimó la rigidez a compresión de cada una de las estructuras mediante modelos de elementos finitos (EF) para luego relacionarlas con los resultados de los ensayos experimentales con el fin de obtener el módulo de Young real del PLA y así calibrar las rigideces numéricas.

Previo a la caracterización numérica de los diferentes modelos por el programa *Abaqus* (versión 6.14.) (Dassault Systems, Estados Unidos), se procedió a hacer un análisis de sensibilidad de malla con el objetivo de obtener los parámetros de malla que produjeron resultados más precisos.

6.6.1. Análisis y resultados de la sensibilidad de malla

Las mallas son el elemento clave para obtener resultados correctos en modelos de elementos finitos (EF). De esta manera, antes de realizar los cálculos numéricos, se procedió a hacer un análisis de la sensibilidad de malla con el propósito de obtener los parámetros de malla óptimos para las simulaciones numéricas. Para ello se generaron 18 modelos de elementos finitos de estructuras TPMS Giroide con una fracción en volumen de 31 %, todos ellos formados por tetraedros cuadráticos de bordes rectos, pero con diferentes parámetros de control de malla (error mínimo y longitud máxima y mínima de los bordes de los elementos). Por consiguiente, se obtuvieron 18 modelos EF con distinto número de nodos y tamaño de elemento.

El análisis de sensibilidad de malla se realizó mediante un proceso de convergencia de malla, en el que, al producirse la disminución del tamaño de elemento, se pudo analizar el impacto de éste en la norma energética de la energía de deformación elástica. La norma energética de una solución es un estimador de error que permite obtener un intervalo realista del error de discretización de la solución estimada, en este caso de la energía de formación elástica (variable ALLIE en *Abaqus*). Por consiguiente, para cada modelo generado con *ScanIP* se calculó en primer lugar la ALLIE con el software *Abaqus* y en segundo lugar la norma energética de ésta como $\sqrt{2} * ALLIE$. En la Tabla 6.2. se resumen el tamaño de elemento, el número de nodos, la energía de formación elástica y la norma energética de la energía de deformación elástica para cada modelo de elementos finitos generado.

TABLA 6.2. RESULTADOS ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD DE MALLA

Modelo	Tamaño característico del elemento [mm]	Nº de nodos de la malla [-]	ALLIE [mJ]	Norma energética de ALLIE [$\sqrt{2}$ mJ]
1	0.0291	1409892	0.04312	0.29367
2	0.0421	590387	0.04313	0.29369
3	0.0378	733652	0.04316	0.29380
4	0.0345	900873	0.04313	0.29370
5	0.0404	643596	0.04315	0.29376
6	0.0428	303615	0.04315	0.29377
7	0.0438	550047	0.04321	0.29396
8	0.0443	537892	0.04322	0.29401
9	0.0447	529702	0.04322	0.29401
10	0.0456	508836	0.04327	0.29417
11	0.0498	384754	0.04354	0.29510
12	0.0573	289237	0.04366	0.29549
13	0.0635	210053	0.04385	0.29615
14	0.0661	182766	0.04395	0.29649
15	0.0713	141890	0.04417	0.29721
16	0.0787	102413	0.04446	0.29818
17	0.0837	84400	0.04463	0.29877

18	0.0905	65831	0.04488	0.29961
----	--------	-------	---------	---------

En azul: Modelo EF seleccionado

A partir de los resultados de la Tabla 6.2., se pudo ver una muy ligera diferencia de norma energética de ALLIE entre los diferentes modelos. Sin embargo, disminuyendo el tamaño característico del elemento, se pudo comprobar que los valores de norma energética comenzaban a converger a un resultado hasta que, a partir de un modelo (el 11 para ser exactos) divergían (ver Figura 6.8.). Cabe mencionar que todos los modelos generados tenían una discretización elevada, por lo que los cambios observados para los modelos más bastos eran pequeños, pero dados los recursos computacionales disponibles se decidió trabajar con modelos más finos, para los que ya se había llegado a convergencia de la solución.

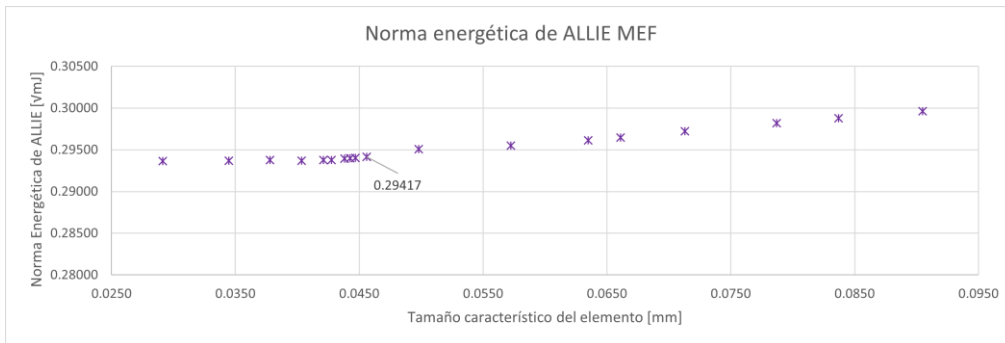


Figura 6.8. Relación entre la norma energética de ALLIE y el tamaño característico del elemento de malla. Se puede comprobar que existe una convergencia del valor de la norma energética una vez se comienza a disminuir el tamaño del elemento. Seleccionado está el modelo 10.

De esta manera, finalmente se eligieron los parámetros de malla del Modelo 10, ya que el estimador de error de norma energética de ALLIE era muy similar al de los modelos EF 7, 8 y 9, pero suponía un coste computacional menor al poseer menos nodos. En la tabla 6.3. se resumen los valores de los parámetros de malla que se han utilizado para la definición de malla de las estructuras TPMS, mientras que en la Figura 6.9. se muestra la malla resultante mediante modelado por elementos finitos.

TABLA 6.3. PARÁMETROS DE MALLA UTILIZADOS PARA LA CARACTERIZACIÓN NUMÉRICA DE LAS ESTRUCTURAS TPMS

Tipo de elemento	Error mínimo del borde	Mínima longitud del borde	Máxima longitud del borde
C3D10	0.45	4.35	10.35

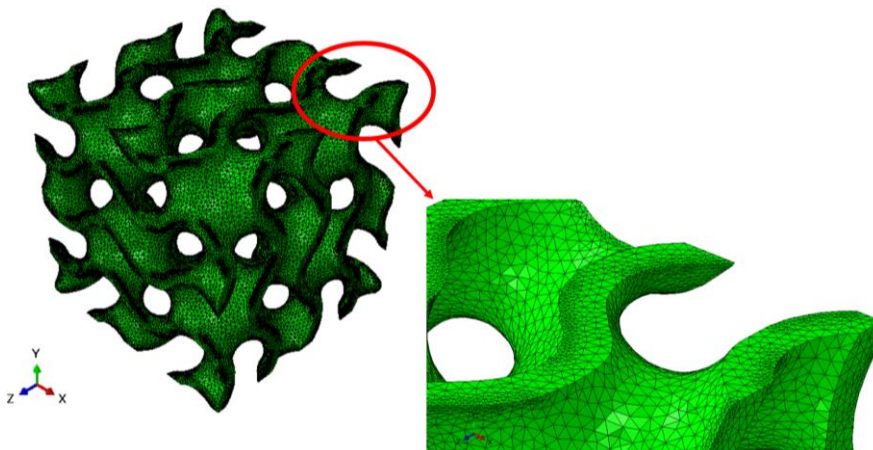


Figura 6.9. Malla escogida tras el análisis de sensibilidad de malla. A la derecha se puede observar la malla más de cerca de las retículas, siendo estas las zonas más críticas de la estructura. Se comprueba que están formadas por suficientes elementos, luego la malla es óptima para realizar ensayos numéricos.

6.6.2. Procedimiento caracterización numérica

Una vez optimizados los parámetros de malla, se crearon los modelos de elementos finitos de las 16 estructuras TPMS mediante *ScanIP*, de manera que se reprodujese con precisión la microestructura de cada andamio TPMS. Estos modelos fueron mallados con elementos cuadráticos de bordes rectos (tipos de elementos C3D10 en *Abaqus*), obteniendo una media de 701760.31 ± 280100.25 nodos y un tamaño medio de elemento de 0.81 ± 0.17 mm. Cabe destacar, que al igual que en los ensayos experimentales, todas las estructuras TPMS tenían un tamaño del 30 mm de lado.

Generados los modelos EF, el siguiente paso fue aplicar una deformación del 5 % a cada estructura para poder obtener la rigidez aparente a compresión de los andamios. Esto se realizó mediante el procesamiento en *MATLAB* de los ficheros .inp generados con *ScanIP*. Por un primer lado, se leyeron y almacenaron todas las mallas creadas en *ScanIP*, guardando de forma matricial los nodos y elementos de los modelos. Posteriormente, con el fin de reproducir los ensayos experimentales, se aplicó un desplazamiento uniaxial de un 5 % en la superficie superior, manteniendo fijos los nodos inferiores correspondientes a la misma dirección de ensayo. Cabe destacar que las estructuras TPMS fueron modeladas como un material elástico lineal, isótropo y homogéneo con un módulo de Young de 10 GPa y un coeficiente de Poisson de 0.3. A partir de esto se obtuvo un nuevo modelo de cada TPMS teniendo en cuenta su módulo de Young, coeficiente de Poisson y el desplazamiento que iba a sufrir la cara superior de la estructura. Por último, tras ejecutar el modelo final, se postprocesó con un archivo *Python* desde *Abaqus*, con el que se obtuvieron las diferentes rigideces numéricas. Cabe señalar que las rigideces de las 16 estructuras TPMS se calcularon en las direcciones x, y, z, obteniendo valores muy similares en las 3 direcciones, lo que demostró la propiedad ortótropa con mismas propiedades en las 3 direcciones principales que este tipo de andamios poseen. No obstante, estas rigideces numéricas a compresión tuvieron que ser posteriormente calibradas utilizando los resultados experimentales, lo que permitió estimar el valor real del módulo de Young del PLA con el que se habían fabricado.

En la Figura 6.10. se muestran los modelos 3D de elementos finitos de las 4 estructuras TPMS con una fracción en volumen de 40 %, que posteriormente fueron utilizados para calcular la rigidez aparente numérica de cada uno de ellos.

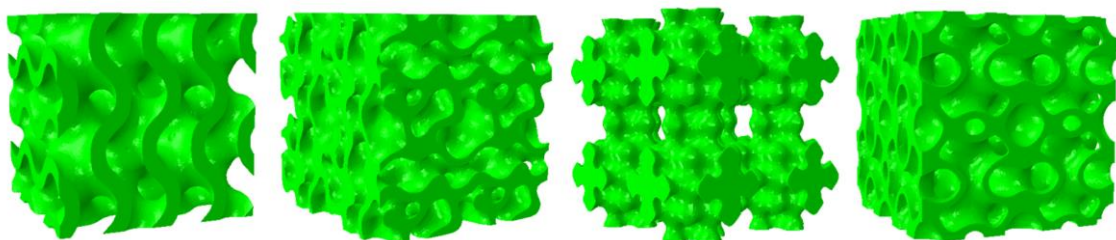


Figura 6.10. Modelos 3D de elementos finitos de las estructuras Giroide, AFM₁, AFM₂, AFM₃ de izquierda a derecha con una fracción en volumen de 40 %. No se muestran los elementos finitos para facilitar la visualización de la microestructura.

A partir de los resultados numéricos y experimentales, se pudo obtener el factor de calibración de los ensayos numéricos mediante la Ecuación 6.4., pudiendo así calcular el módulo de Young real del material de fabricación de las estructuras TPMS mediante la Ecuación 6.5. Una vez

obtenido el módulo de Young real del PLA, el siguiente paso fue calibrar las rigideces numéricas de cada andamio TPMS a las reales, lo cual se realizó mediante la Ecuación 6.6. En las siguientes ecuaciones, i representa una estructura TPMS, N el número de estructuras TPMS y 10 el módulo de Young de PLA utilizado en las simulaciones numéricas iniciales (en GPa).

$$F_{Calibración} = \frac{\sum_{i=1}^N \frac{E_{iappexp}}{E_{iappnum,inicial}}}{N} \quad (6.4.)$$

Ecuación 6.4. Cálculo del factor de calibración. Éste se ha calculado como la media de la suma de las relaciones de rigidez experimental y numérica inicial de cada una de las TPMS.

$$E_{appPLA_{real}} = 10 \cdot F_{Calibración} [GPa] \quad (6.5.)$$

Ecuación 6.5. Cálculo del módulo de Young real de PLA.

$$E_{TPMS_{num,real}} = E_{TPMS_{num,inicial}} \cdot F_{calibración} [GPa] \quad (6.6.)$$

Ecuación 6.6. Cálculo rigidez aparente numérica real a compresión de cada estructura TPMS.

6.7. RESULTADOS ESTUDIO 3: ANÁLISIS DEL EFECTO DE LA FRACCIÓN EN VOLUMEN EN LA MORFOMETRÍA Y RESPUESTA MECÁNICA DE ESTRUCTURAS TPMS

6.7.1. Resultados morfométricos

Habiendo definido las fracciones en volumen 10 %, 31 %, 40 % y 60 % para los 4 diseños de andamios TPMS (Giroide, AFM₁, AFM₂ y AFM₃), se pudieron observar las siguientes variaciones microestructurales debidos al cambio en la fracción en volumen. Los valores obtenidos de cada característica morfométrica se pueden encontrar en la Tabla 6.4.

En primer lugar, a medida que disminuía la fracción en volumen, aumentaba TPMS_S/TPMS_V en todas las estructuras, lo cual indica una mayor área superficial que, como se ha mencionado anteriormente, es muy beneficiosa para el intercambio de sustancias y permite disponer de una mayor área en el que se pueda depositar el hueso formado alrededor del andamio. De este modo, las TPMS que poseían mayor área superficial eran las estructuras con una fracción en volumen del 10 %, donde destacaba la estructura AFM₁ con una relación superficie-volumen reticular de 66.464 mm⁻¹. De forma contraria, la menor TPMS_S/TPMS_V era de 7.140 mm⁻¹ del andamio AFM₂ con fracción en volumen de 60%. Respecto a esta variable, para maximizarla, la mejor tipología es la AFM₁.

En segundo lugar, se observó una relación creciente entre la fracción en volumen y el espesor reticular, pero decreciente entre la densidad relativa y la separación media reticular. Es decir, a mayor fracción en volumen, mayor espesor reticular poseían las estructuras debido al aumento de volumen reticular, pero menor era su separación reticular. Dentro de las estructuras TPMS con fracción en volumen de 60 %, destacaba la AFM₂ con un Ret.Th de 0.728 mm y un Ret.Sp de 0.572 mm. En contraste, la estructura Giroide con fracción en volumen de 10 % presentaba el menor espesor reticular (0.052 mm) y una separación trabecular de 0.653 mm.

En tercer lugar, tanto para la estructura TPMS Giroide como AFM₁, poseían un pequeño aumento del número reticular acompañado de un ligero descenso de esta característica morfométrica en estructuras con una fracción en volumen de 60 %. En el caso de AFM₁ Ret.N

era de 1.696 mm^{-1} , 2.069 mm^{-1} , 2.081 mm^{-1} y 1.937 mm^{-1} para las fracciones en volumen de 10 %, 31 %, 40 % y 60 % respectivamente. En cambio, las estructuras AFM_2 y AFM_3 exhibieron un aumento del número reticular conforme la fracción en volumen también aumentaba. Para el andamio AFM_3 con una densidad relativa del 10 %, Ret.N era 0.501 mm^{-1} , mientras que para una fracción en volumen de 60 % aumentaba a 1.720 mm^{-1}

En cuarto lugar, tal y como se observaba también en el Capítulo 5, todas las estructuras TPMS, sin importar su fracción en volumen, presentaban valores de DA muy pequeños y similares, mostrándose así el comportamiento isótropo de las estructuras TPMS.

En quinto lugar, se pudo observar un ligero aumento de la dimensión fractal en todas las estructuras de una fracción en volumen de 10% hasta una de 40%, pero posteriormente en todas menos en AFM_2 , la dimensión fractal disminuía.

Por último, la densidad de conectividad reticular se mantenía en su mayoría constante en cada estructura TPMS independientemente de la fracción en volumen. Esto podría ser debido a que todas las estructuras están formadas por el mismo número de celdas unidad en un mismo volumen y, por ello, la conectividad entre las retículas era la misma independientemente de la fracción en volumen. La mayor densidad de conectividad la presentaba AFM_1 con una fracción en volumen de 60% y era $1.12 \cdot 10^{-12} \text{ mm}^{-3}$.

Los cambios microestructurales mencionados debido a la variación de la fracción en volumen se muestran en la Figura 6.11. para la estructura TPMS AFM_1 . De esta manera, visualmente se puede comprobar como conforme aumenta la fracción en volumen, disminuye el área superficial (en naranja (A)) y la porosidad del andamio (en rojo (D)), mientras que se engrosan las retículas (en azul oscuro (B)) y, por ende, aumenta el número de retículas (en amarillo (C)).

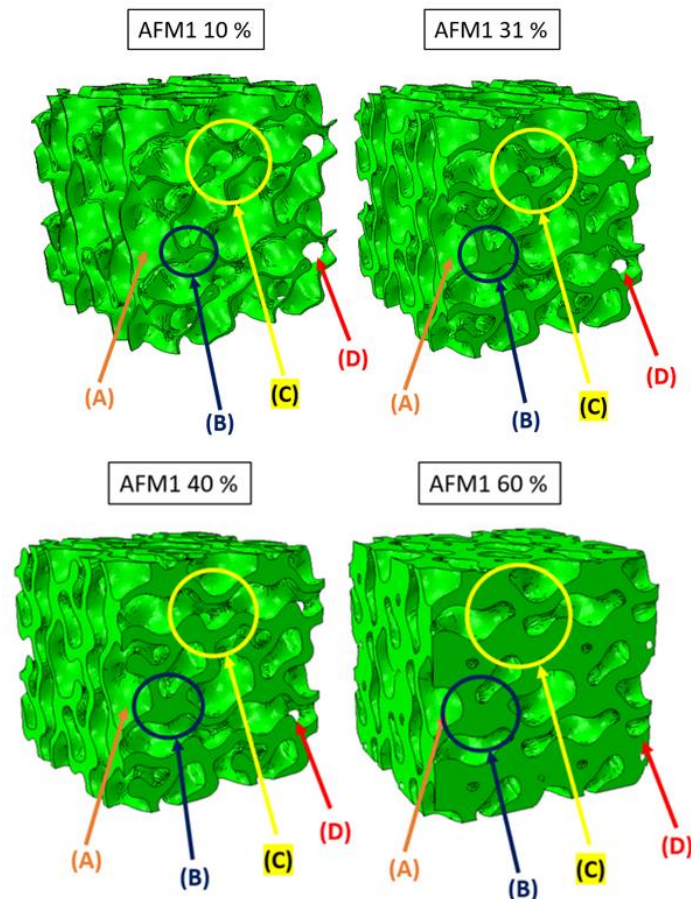


Figura 6.11. Variación de las características microestructurales de AFM₁ cambiando la fracción en volumen. Se puede comprobar que, aumentando la fracción en volumen, aumenta el espesor reticular (en azul (B)) y, por ende, el número de retículas (en amarillo (C)), pero disminuye el área superficial (en naranja (A)) y la separación media reticular (en rojo (D)).

TABLA 6.4. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MORFOMÉTRICO DEL ESTUDIO 3

Estructura TPMS	TPMS_V/TV [%]	TPMS_S/TPMS_V [mm ⁻¹]	Ret.Th [mm]	Ret.Sp [mm]	Ret.N [mm ⁻¹]	DA [-]	D [-]	Conn.D [mm ⁻³]
TPMS Giroide 10%	10	46.633	0.052	053.653	1.874	0.007	2.339	4.37 · 10 ⁻¹³
TPMS Giroide 31%	31	15.442	0.158	0.543	1.934	0.008	2.364	4.37 · 10 ⁻¹³
TPMS Giroide 40%	40	11.896	0.210	0.496	1.904	0.009	2.356	4.37 · 10 ⁻¹³
TPMS Giroide 60%	60	7.721	0.341	0.380	1.790	0.013	2.318	4.37 · 10 ⁻¹³
TPMS AFM ₁ 10%	10	66.464	0.059	0.493	1.696	0.144	2.394	1.12 · 10 ⁻¹²
TPMS AFM ₁ 31%	31	22.579	0.148	0.420	2.069	0.112	2.459	1.68 · 10 ⁻¹²
TPMS AFM ₁ 40%	40	17.093	0.193	0.396	2.081	0.104	2.454	1.68 · 10 ⁻¹²
TPMS AFM ₁ 60%	60	10.186	0.309	0.355	1.937	0.099	2.397	1.12 · 10 ⁻¹²
TPMS AFM ₂ 10%	10	12.045	0.362	0.980	0.529	0.007	2.216	8.90 · 10 ⁻¹³
TPMS AFM ₂ 31%	31	9.147	0.667	0.855	0.519	0.010	2.270	1.32 · 10 ⁻¹²
TPMS AFM ₂ 40%	40	7.814	0.696	0.827	0.594	0.010	2.262	1.14 · 10 ⁻¹³
TPMS AFM ₂ 60%	60	7.140	0.728	0.572	0.831	0.010	2.308	1.88 · 10 ⁻¹²
TPMS AFM ₃ 10%	10	47.056	0.298	0.439	0.501	0.009	2.414	1.35 · 10 ⁻¹²
TPMS AFM ₃ 31%	31	20.456	0.260	0.397	1.324	0.009	2.464	1.35 · 10 ⁻¹²
TPMS AFM ₃ 40%	40	15.967	0.285	0.376	1.523	0.013	2.457	1.35 · 10 ⁻¹²
TPMS AFM ₃ 60%	60	9.965	0.366	0.340	1.720	0.008	2.417	1.35 · 10 ⁻¹²

Una vez realizado el análisis morfométrico de cada una de las estructuras TPMS en función de la fracción en volumen y habiendo observado las relaciones existentes entre la fracción en volumen y el resto de las características morfométricas, el siguiente paso fue comparar dichos valores morfométricos con los rangos de hueso trabecular recogidos por Tor Hildebrand *et al.* (2009) [73]. Del mismo modo que se explicó en el Capítulo 5, este estudio no indicaba rangos para la dimensión fractal ni conectividad, por lo que finalmente para el análisis morfométrico de las 4 estructuras TPMS en función de la fracción en volumen se tuvieron en cuenta las siguientes características microestructurales: relación superficie-volumen reticular (TPMS_S/TPMS_V), el espesor medio reticular (Ret.Th), la separación media reticular (Ret.Sp) y

el número de retículas (Ret.N). Se decidió no tener en cuenta el grado de anisotropía debido al hecho de que las estructuras TPMS son isótropas (ortótropas con las mismas propiedades en las 3 direcciones).

Teniendo en cuenta que el rango de fracción en volumen típico de hueso trabecular oscila entre 11.8 % - 41.8 % [73], por un primer lado se pudo observar que todas las estructuras TPMS dentro de este rango de fracción en volumen, es decir, 31 % y 40 %, poseían una relación superficie-volumen reticular muy cerca o dentro del rango de BS/BV de hueso trabecular. Esto se muestra en la Figura 6.12.

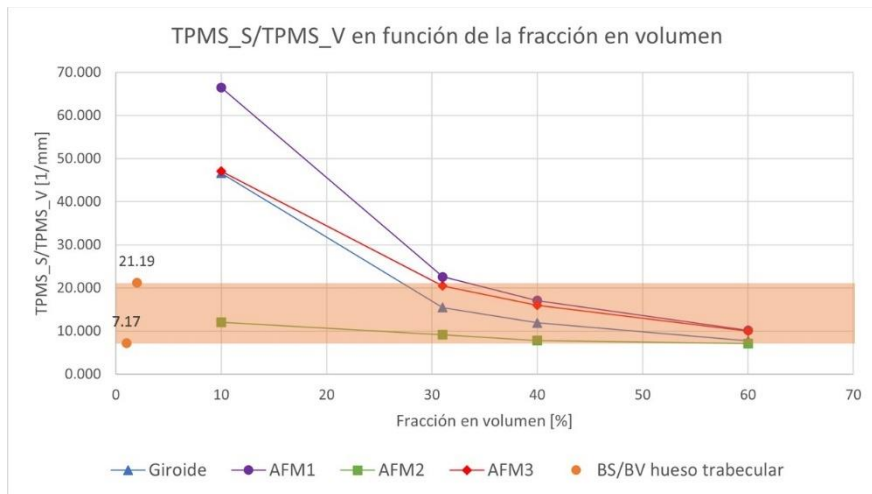


Figura 6.12. Relación superficie-volumen reticular en función de la fracción en volumen de las 16 configuraciones TPMS. El recuadro naranja hace referencia al rango típico de hueso trabecular.

Por un segundo lado, también se pudo comprobar que la estructura TPMS AFM₂ no presentaba ni un número ni un espesor reticular dentro de los valores típicos de hueso trabecular, aunque las estructuras TPMS Giroide, AFM₁ y AFM₃ sí. Esto se puede observar en la Figura 6.13. y 6.14.

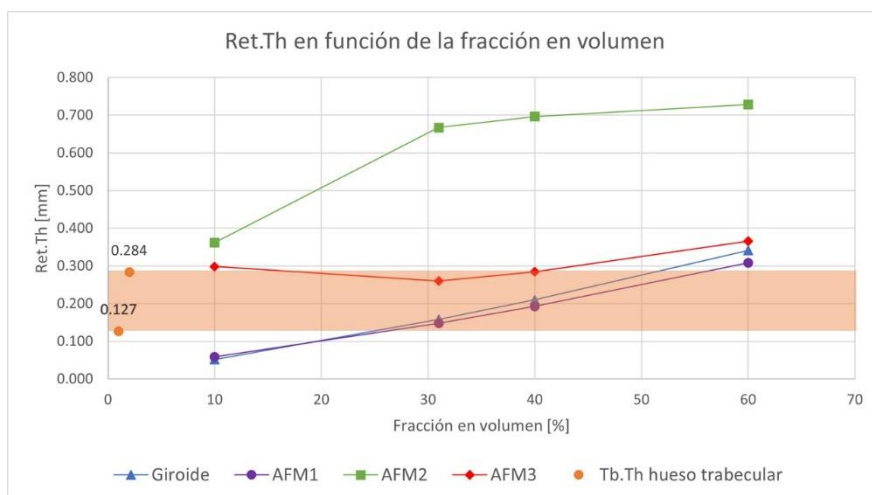


Figura 6.13. Espesor reticular medio en función de la fracción en volumen. El recuadro naranja hace referencia al rango típico de hueso trabecular. Se observa que la estructura AFM₂ no poseía valores de Ret.Th dentro del rango típico de hueso trabecular.

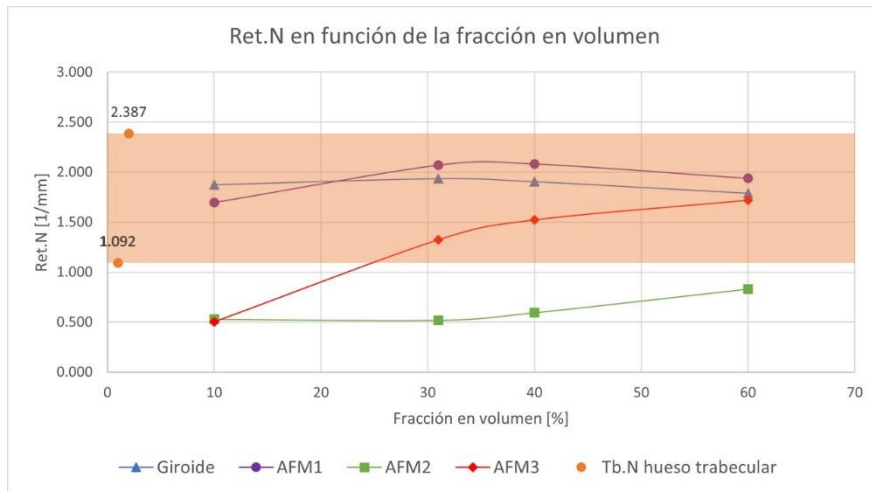


Figura 6.14. Número reticular en función de la fracción en volumen. El recuadro naranja hace referencia al rango típico de hueso trabecular. Se observa que la estructura AFM₂ no poseía valores de Ret.N dentro del rango típico de hueso trabecular.

Por último, en la Figura 6.15. se observa que tanto AFM₁ como AFM₃ de fracciones en volumen 31 % y 40 % no mostraban valores dentro del rango de separación media reticular característicos del hueso trabecular, mientras que las estructuras TPMS AFM₂ y Giroide sí. Sin embargo, AFM₁ y AFM₃ poseían valores de Ret.Sp cercanos al valor del rango, siendo para AFM₁ con fracción en volumen de 31 % 0.420 mm, un valor cercano a 0.424 mm, el límite inferior del rango de separación trabecular típico de hueso.

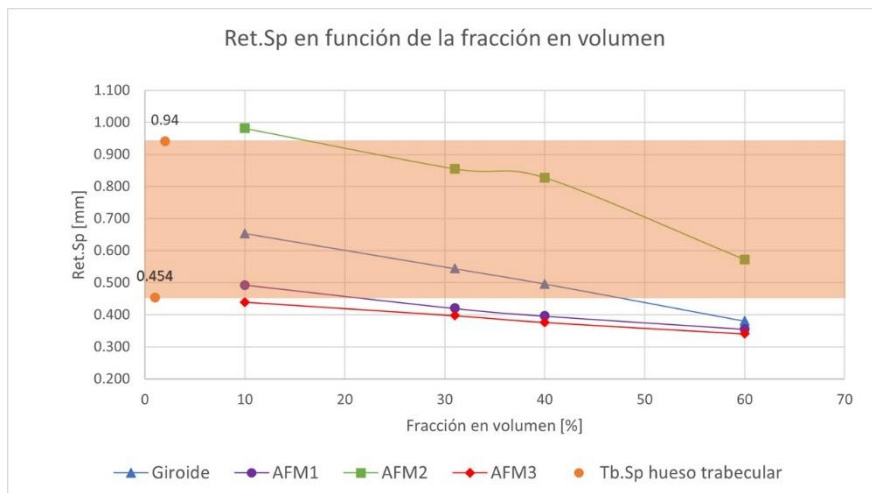


Figura 6.15. Separación media trabecular en función de la fracción en volumen. El recuadro naranja hace referencia al rango típico de hueso trabecular.

6.7.2. Resultados mecánicos

Por un primer lado, a partir de los ensayos mecánicos experimentales se pudo calcular la tensión de fallo, la deformación de fallo y la rigidez aparentes a compresión de las estructuras TPMS Giroide, AFM₁ y AFM₃ mediante gráficas tensión-deformación, tal y como se describe en el Subcapítulo 6.5. Cabe destacar que las estructuras AFM₁ y AFM₃ con una fracción en volumen del 10 % no fueron posibles de fabricar correctamente como se muestra en la Figura 6.16., por lo que su rigidez aparente fue calculada numéricamente.

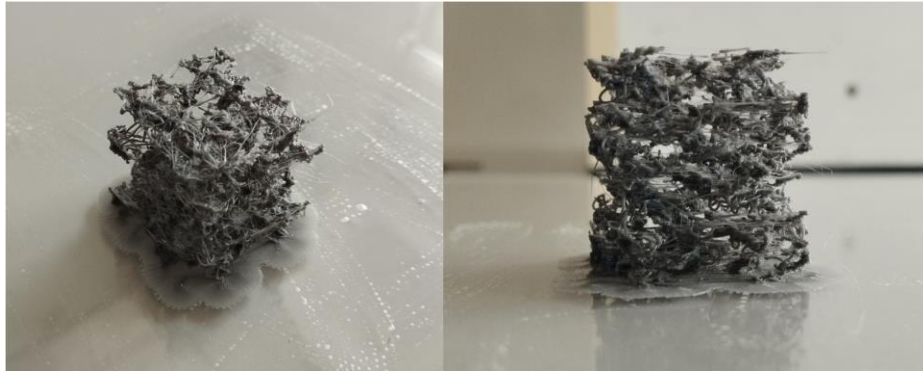


Figura 6.16. Intento de fabricación de estructura TPMS AFM₁ con una fracción en volumen de 10 %.

A partir de los ensayos a compresión experimentales, cuyos resultados están recogidos en la Tabla 6.5., se pudieron observar dos cosas. Por un lado, la rigidez aparente de la estructura dependía directamente de la fracción en volumen, ya que, a mayor densidad relativa, mayor rigidez aparente poseían las estructuras TPMS. Por otro lado, se observó una relación lineal entre la rigidez y la tensión de fallo aparentes a compresión, lo cual indicaba que las configuraciones TPMS más rígidas soportaban mayores cargas antes de su fallo a compresión (ver Figura 6.17.). Este fue un resultado relevante, ya que permitía predecir la carga de fallo de estas estructuras mediante la estimación de la rigidez, cosa que es más sencillo numéricamente. De esta manera, las estructuras TPMS con una fracción en volumen de 60 % eran las que mayores propiedades mecánicas poseían. Además, destacar que mediante los resultados de la Tabla 6.5. se pudo comprobar que, a excepción de la TPMS AFM₃ con fracción en volumen de 60 %, las deformaciones de fallo estaban bastante acotadas.

TABLA 6.5. RESULTADOS MECÁNICOS EXPERIMENTALES ESTUDIO 3

Estructura TPMS	Tensión de fallo aparente (σ_u) [MPa]	Deformación de fallo aparente (ϵ_u) [%]	Rigidez aparente (E_{app}) [MPa]
TPMS Giroide 10%*	0.913 ± 0.099	4.350 ± 0.276	32.202 ± 0.457
TPMS Giroide 31%*	5.813 ± 0.772	4.143 ± 0.482	193.535 ± 3.196
TPMS Giroide 40%*	8.397 ± 0.407	4.070 ± 0.220	276.992 ± 9.053
TPMS Giroide 60%*	19.505 ± 0.896	4.747 ± 0.816	637.632 ± 24.989
TPMS AFM ₁ 31%	3.340	3.695	110.523
TPMS AFM ₁ 40%	7.580	4.880	239.343
TPMS AFM ₁ 60%	14.701	3.440	512.364
TPMS AFM ₃ 31%*	5.684 ± 0.143	4.773 ± 0.465	198.726 ± 2.147
TPMS AFM ₃ 40%*	10.512 ± 0.923	4.855 ± 0.007	357.400 ± 16.439
TPMS AFM ₃ 60%*	21.220 ± 0.814	7.903 ± 5.404	695.086 ± 43.467

*Promedio de las 3-4 muestras impresas. En el Anexo A se puede encontrar esta misma tabla, pero para cada muestra de TPMS fabricada (Tabla A.1.).

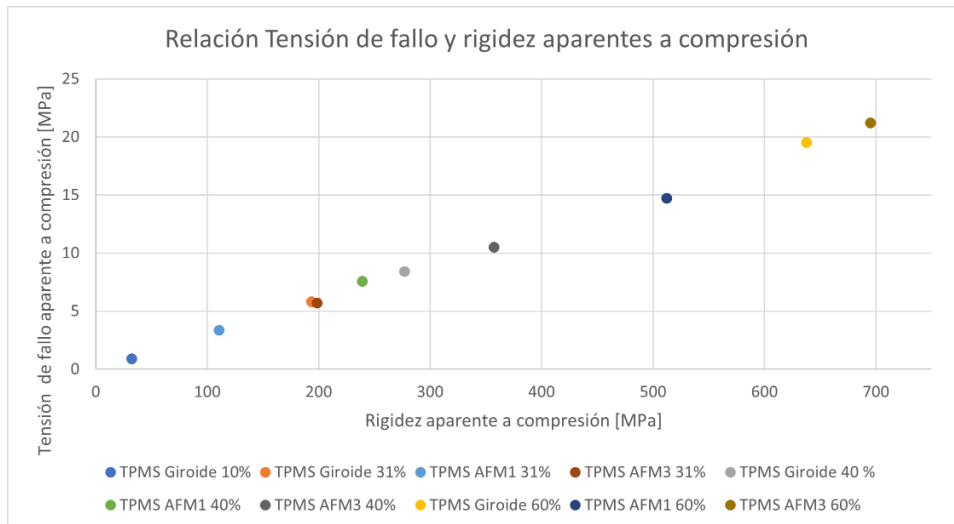


Figura 6.17. Relación entre la tensión de fallo y rigidez aparentes a compresión para las estructuras TPMS fabricadas y analizadas.

Por un segundo lado, mediante los ensayos numéricos se calculó la rigidez numérica aparente de todas las estructuras TPMS en sus tres direcciones. Los modelos de elementos finitos tenían una media de 0.81 ± 0.168 mm de tamaño característico del elemento y un número medio de nodos de $701760.3125 \pm 280100.2482$, habiendo utilizado los parámetros de malla de la Tabla 6.2. Los resultados numéricos en las direcciones x, y, z de cada estructura TPMS fueron muy similares, verificando así la isotropía que las estructuras TPMS. En la Tabla A.2. del Anexo A se recogen los resultados de las simulaciones numéricas con un módulo de Young de PLA de 10 GPa.

Una vez obtenidas las rigideces numéricas, se calibraron las simulaciones con el fin de caracterizar mecánicamente las estructuras TPMS con el módulo de Young del PLA de los ensayos experimentales. Para ello, en primer lugar, se utilizó la Ecuación 6.4., que relaciona las rigideces aparentes experimentales y numéricas de cada estructura TPMS, para así calcular el factor de calibración ($F_{\text{Calibración}}$). La relación media obtenida entre los valores aparentes y numéricos de rigidez fue 0.171 ± 0.022 , lo que significaba que las rigideces aparentes experimentales eran un 17.1 % diferentes a las rigideces numéricas. Esto muestra por qué se calculó un factor de calibración medio para todo el conjunto de muestras ensayadas. En segundo lugar, aplicando el $F_{\text{Calibración}}$ al módulo de Young de PLA considerado en las simulaciones numéricas (10 GPa), se obtuvo el módulo de Young real del PLA de las estructuras TPMS fabricadas, que resultó ser 1.707 ± 0.217 GPa. Los resultados para cada estructura TPMS fabricada se pueden visualizar en la Tabla A.3. del Anexo A. Por último, calculada la rigidez real aparente del PLA, se calibraron las rigideces numéricas de cada estructura TPMS al valor real del módulo de Young del PLA, obteniendo así rigideces numéricas adaptadas a las condiciones experimentales (ver Tabla 6.6.). Cabe señalar que los modelos EF desarrollados reprodujeron con una tasa de cambio del 14.294 ± 13.903 % la respuesta experimental de los ensayos a compresión (ver Tabla 6.6.). Todos los porcentajes de cambio eran menores del 20 %, a excepción de la estructura TPMS AFM₁ con fracción en volumen de 31 %, cuyo resultado numérico (167.645 MPa) mostraba una desviación de un 51.683 % respecto a los experimentales (110.523 MPa). Este porcentaje de cambio se debía al haber considerado el mismo factor de calibración para todos los ensayos de todas las topologías, en vez de un factor de calibración para cada tipo de tipología. Además, cabe señalar que este procedimiento era dependiente de la existencia de artefactos experimentales o defectos de fabricación que

afectaban a los experimentos, ya que, en ausencia de artefactos y defectos, el factor de calibración debería haber sido el mismo para todas las muestras y habría conducido a resultados aparentes numéricos que habrían coincidido exactamente con los experimentales.

TABLA 6.6. COMPARACIÓN RIGIDEZES APARENTES NUMÉRICAS Y EXPERIMENTALES

Estructura TPMS	Rigidez aparente experimental [MPa]	Rigidez aparente numérica calibrada [MPa]	Porcentaje de cambio [%]
TPMS Giroide 10%	32.202 ± 0.457	37.216	15.569
TPMS Giroide 31%	193.535 ± 3.196	175.118	9.516
TPMS Giroide 40%	276.992 ± 9.053	264.682	4.444
TPMS Giroide 60%	637.632 ± 24.989	551.253	13.547
TPMS AFM ₁ 31%	110.523 ± 16.746	167.645	51.683
TPMS AFM ₁ 40%	239.343	274.302	14.606
TPMS AFM ₁ 60%	512.364	585.072	14.191
TPMS AFM ₃ 31%	198.726 ± 2.147	219.755	10.582
TPMS AFM ₃ 40%	357.400 ± 16.439	333.624	6.653
TPMS AFM ₃ 60%	695.086 ± 43.467	680.131	2.151
Promedio desviación	-	-	14.294 ± 13.903

Por último, además del análisis de las propiedades mecánicas de las estructuras TPMS, los ensayos mecánicos experimentales también permitieron capturar la deformación de las estructuras TPMS durante el ensayo y detectar patrones de fractura. Mediante un sistema de imagen DIC, se comprobó que las estructuras TPMS se rompían en determinadas zonas, separándose pequeños trozos, en vez de romperse capa a capa como sucede en las estructuras reticulares, lo cual se debe a la disminución de concentradores de tensiones que poseen las estructuras TPMS [62]. En otras palabras, las 3 estructuras TPMS (Giroide, AFM₁ y AFM₃) eran capaces de preservar su integridad, un aspecto muy importante, ya que la fricción entre zonas rotas y el tejido blando puede dar lugar a partículas de desgaste y daños excesivos [62]. En la Figura 6.18. se muestra una estructura TPMS AFM₁ con una fracción en volumen de 40%. Se puede observar que la estructura TPMS se rompía en las zonas más críticas donde las retículas eran más finas y estaban orientadas a la dirección del ensayo, produciéndose la fractura a nivel de retícula a 45 ° de la aplicación de la carga, correspondiéndose al plano de tensiones tangenciales máximas.

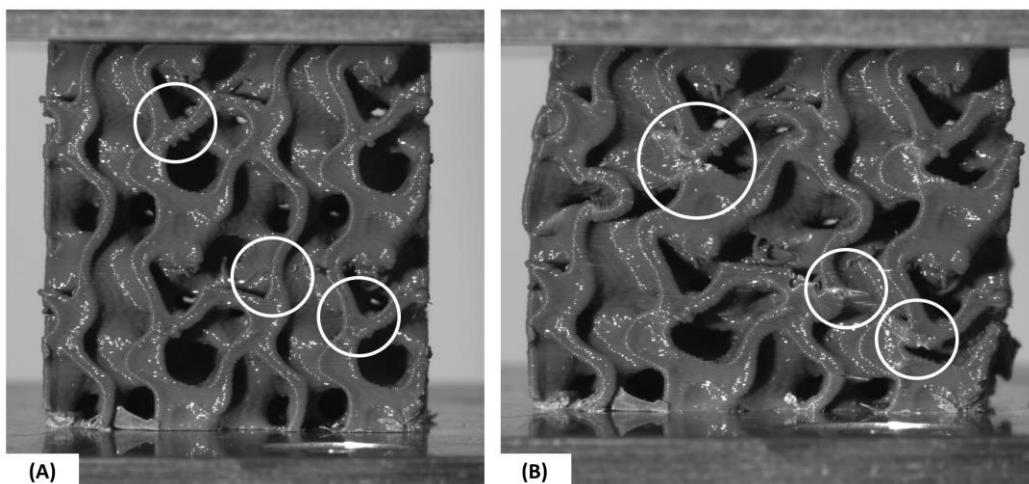


Figura 6.18. Imagen tomada con el programa *VIC-2D Digital Image Correlation* de la estructura TPMS AFM₁ con una fracción en volumen de 40 % sometida a un ensayo a compresión. (A) Microestructura antes del ensayo mecánico. (B) Microestructura durante el ensayo a compresión. Con los círculos blancos se muestran las zonas críticas en (A) y rotas por el ensayo en (B).

Estos patrones de fractura de las estructuras TPMS también se pudieron observar mediante los modelos de elementos finitos de las estructuras TPMS. En la Figura 6.19. se muestra el modelo EF de la estructura TPMS AFM₁ con fracción en volumen de 40 %, y se puede comprobar que las tensiones se concentraban mayormente en las zonas más delgadas de las retículas orientadas en la dirección del ensayo, como en la caracterización mecánica experimental de la Figura 6.18. De esta manera, los modelos de elementos finitos no solo demostraron reproducir la rigidez a compresión aparente de las estructuras TPMS, sino también la distribución y concentración de tensiones de estas mismas.

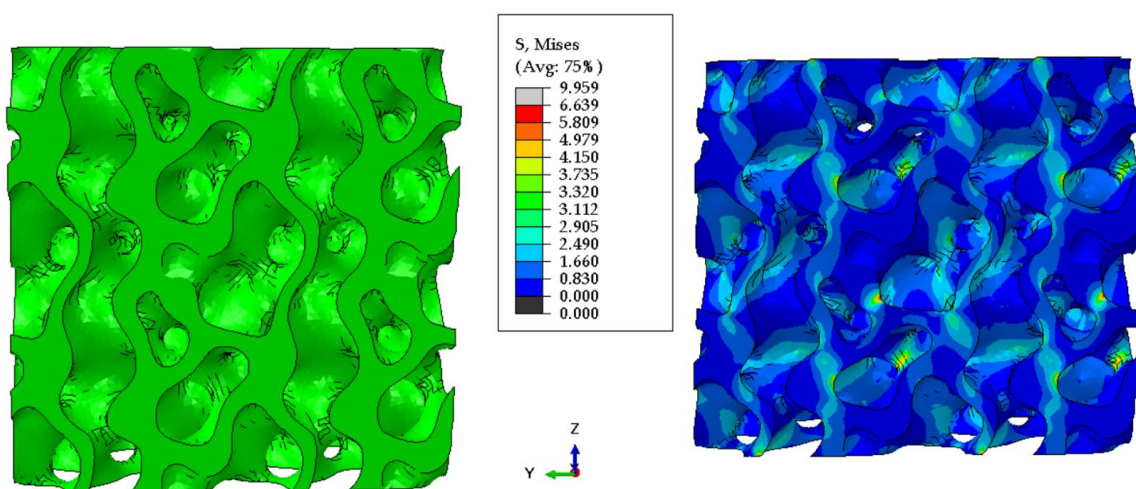


Figura 6.19. Modelos de elementos finitos antes (izquierda) y después (derecha) de aplicar un desplazamiento del 5 % en dirección z en el modelo 3D de una estructura AFM₁ con fracción en volumen de 40 %. A la derecha se observa la distribución de tensiones en la estructura, donde las zonas rojas y amarillas representan las partes con mayor tensión, que coinciden con los ensayos mecánicos: las retículas más finas y en la dirección de ensayo (dirección z), observándose un patrón inclinado, correspondiente a la dirección con tensiones tangenciales máximas.

6.8. CONCLUSIONES ESTUDIO 3: ANÁLISIS DEL EFECTO DE LA FRACCIÓN EN VOLUMEN EN LA MORFOMETRÍA Y RESPUESTA MECÁNICA DE ESTRUCTURAS TPMS

En este estudio se ha analizado el efecto de la fracción en volumen en la morfometría y en la rigidez mecánica de 16 estructuras TPMS con densidades relativas de 10 %, 31 %, 40 % y 60 %.

Por un primer lado, mediante el estudio morfométrico de las 16 estructuras TPMS en función de la fracción en volumen, se ha demostrado que la fracción en volumen posee una influencia destacable en el área superficial, espesor trabecular medio, separación trabecular media y el número reticular. Más concisamente, se ha demostrado que un aumento de la fracción en volumen supone una disminución del área superficial y de la separación media reticular, pero un aumento del espesor medio y número reticular. Esto es debido a que el aumento de volumen reticular engruesa las retículas y, por consiguiente, disminuye la separación reticular, produciendo una disminución de la porosidad y del área superficial del andamio. Estos resultados concuerdan con el estudio de Ricardo Belda *et al.* (2023) que analizó el efecto de la fracción en volumen en la morfometría de diferentes configuraciones TPMS [65].

La morfometría juega un papel fundamental en la osteointegración y, características microestructurales como la porosidad, el tamaño de poro, el área superficial y el espesor trabecular, son altamente relevantes para promover la formación de hueso [65]. Fijándose exclusivamente en las estructuras TPMS con fracciones en volumen de 31 % y 40 % (ya que las otras dos fracciones en volumen se encuentran fuera del rango típico de densidad relativa de hueso trabecular), se ha podido observar que las estructuras Giroide, AFM₁ y AFM₃ poseen una relación superficie-volumen reticular, espesor reticular y número de retículas dentro del rango característico de hueso trabecular. En el caso de la separación media reticular, los valores de las estructuras TPMS AFM₁ y AFM₃ no se encuentran dentro del rango típico de hueso trabecular, que oscila entre 0.424 mm y 0.94 mm, pero se han obtenido valores lo suficientemente cercanos (0.420 mm y 0.396 mm para AFM₁ con fracción en volumen de 31% y 40 % respectivamente; y 0.397 mm y 0.376 mm para AFM₃ con fracción en volumen de 31% y 40 % respectivamente) como para poder brindar al andamio una porosidad adecuada. De esta manera, por un segundo lado, en este estudio se ha conseguido diseñar las estructuras TPMS Giroide, AFM₁ y AFM₃ con fracciones en volumen de 31 % y 40 %, cuya morfometría es muy similar a la del hueso trabecular, a excepción del grado de anisotropía.

Por un tercer lado, los ensayos mecánicos han permitido demostrar que la fracción en volumen también juega un papel relevante en la rigidez y tensión de fallo aparentes a compresión. A lo largo de este estudio se ha observado que una mayor fracción en volumen brinda mayor rigidez y resistencia de fallo a la compresión, tal y como se muestra en la Figura 6.20., donde se observa una relación casi lineal entre la fracción en volumen y la rigidez y tensión de fallo aparentes a compresión. Como se ha mencionado anteriormente, esto es muy relevante, ya que permite predecir la carga de fallo de las estructuras TPMS mediante la estimación de la rigidez, lo cual es más sencillo numéricamente. Sin embargo, el PLA utilizado en la fabricación de los andamios TPMS tenía un módulo de Young (1.707 ± 0.217 GPa) mucho pequeño que el del hueso trabecular sano analizado en Capítulo 4 de este TFM (11.819 GPa). Por consiguiente, en este estudio no se ha podido alcanzar una rigidez aparente a compresión de las estructuras TPMS lo suficientemente alta como para favorecer un ambiente mecánico estable en el tratamiento de defectos óseos de gran tamaño. No obstante, cambiando el PLA por un material de fabricación más rígido y con un módulo de elasticidad similar al de hueso trabecular sano, se podría lograr obtener un andamio TPMS Giroide, AFM₁ o AFM₃ tanto con una morfometría como con propiedades mecánicas óptimas para utilizarse como sustitutos óseos. Esto último se abordará en el cuarto y último estudio de esta Tesis de Máster (Capítulo 7).

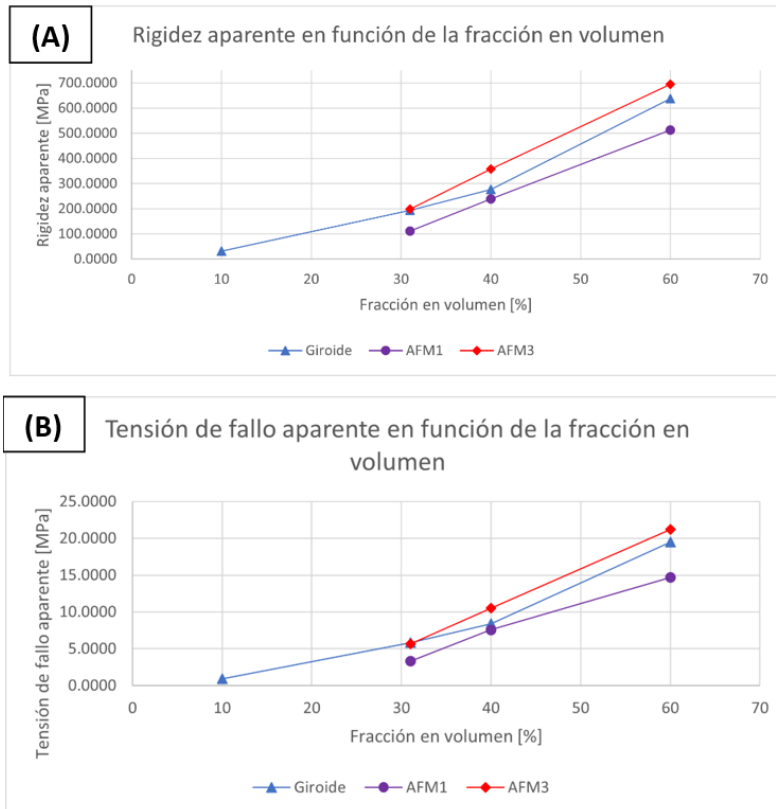


Figura 6.20. Relación lineal entre la fracción en volumen y la rigidez y tensión de fallo promedio aparentes a compresión. (A) Rigidez aparente a compresión en función de la fracción en volumen. (B) Tensión de fallo aparente a compresión en función de la fracción en volumen.

En conclusión, este estudio ha demostrado que la morfometría y propiedades mecánicas de los andamios TPMS pueden ser ajustadas mediante la fracción en volumen, con el fin de asemejarse a las características microestructurales y mecánicas del hueso trabecular de manera que se estimule la osteointegración y se eviten fenómenos como el *stress shielding*. Además, se ha conseguido diseñar las estructuras TPMS Giroide, AFM₁ y AFM₃ con fracciones en volumen de 31 % y 40 % que presentan una microestructura similar al hueso trabecular, aunque su fabricación mediante PLA no les permita tener una rigidez a compresión lo suficientemente alta como para proporcionar estabilidad mecánica frente a cargas óseas en un defecto óseo de gran tamaño.

CAPÍTULO 7:

ESTUDIO 4: EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN ANDAMIO TPMS-HUESO

7.1. INTRODUCCIÓN

El último estudio de esta Tesis de Máster tiene como objetivo analizar la rigidez global de constructos formados por hueso trabecular y un andamio TPMS, con el fin de conseguir una rigidez a compresión parecida al tejido óseo trabecular, posibilitándose así la transmisión de esfuerzos entre el hueso y la estructura TPMS. De esta manera, se puede asegurar la reducción de fenómenos de *stress shielding*, proporcionando un ambiente mecánico estable para la integración del andamio TPMS en la región del defecto óseo. Además, se pretende evaluar la distribución de tensiones en la región de contacto, con el fin de analizar la aparición de tensiones elevadas que pudieran conllevar el fallo del andamio en el tejido óseo.

Para ello, una vez se hayan desarrollado los constructos TPMS-hueso, mediante modelos de elementos finitos se simularán los constructos mecánicamente.

7.2. CORTES DE HUESO TRABECULAR

El primer paso de este estudio fue adquirir un corte de hueso trabecular sano y osteoporótico de las muestras analizadas en el Capítulo 4. Posteriormente, se evaluó su morfometría y rigidez numérica aparente a compresión.

7.2.1. Obtención cortes

Mediante las máscaras segmentadas obtenidas de los especímenes sano y osteoporótico realizado en el Subcapítulo 4.4., se tomó un corte de 3 mm, tamaño que también tenían los diseños digitales de estructuras TPMS, de cada muestra mediante *ScanIP*. El corte del espécimen sano se recortó de la parte superior derecha de la muestra total, mientras que el del espécimen osteoporótico se tomó de la zona inferior izquierda. Estas localizaciones se muestran en 2D recuadradas en morado en la Figura 7.1., aunque cabe señalar que fueron escogidas de manera aleatoria sin buscar ninguna característica especial en las muestras.

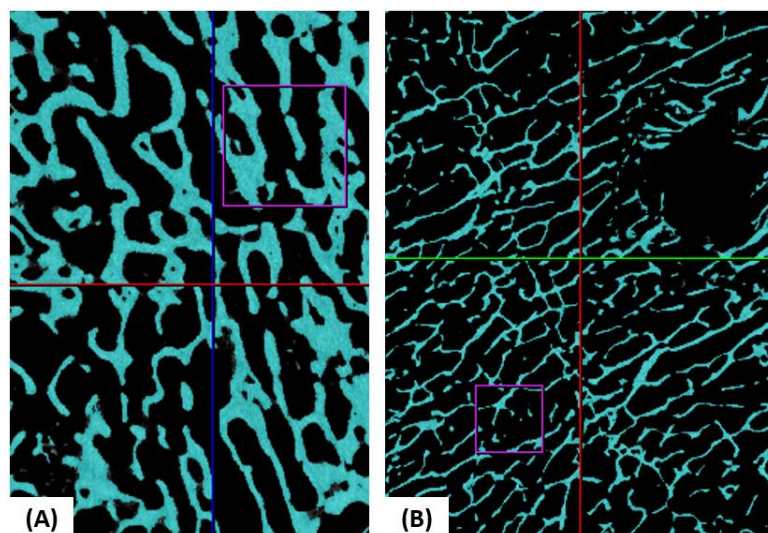


Figura 7.1. Localizaciones 2D de los cortes tomados de los especímenes de hueso trabecular. (A) Corte en la muestra de hueso trabecular sana. (B) Corte de la muestra de hueso trabecular osteoporótico.

7.2.2. Análisis morfométrico

La caracterización microestructural de ambos cortes trabeculares se realizó mediante *BoneJ*, calculando diferentes parámetros morfométricos: fracción en volumen (BV/TV), relación superficie-volumen (BS/BV), espesor medio trabecular (Tb.Th), separación media trabecular (Tb.Sp), número de trabéculas (Tb.N), grado de anisotropía (DA), dimensión fractal (D) y densidad de conectividad (Conn.D). El cálculo de todas estas características microestructurales se hizo de acuerdo con el Subcapítulo 4.4.

7.2.2.1. Resultados análisis morfométrico

A partir de la caracterización microestructural de los cortes de hueso trabecular sano y osteoporótico se obtuvieron los resultados recogidos en la Tabla 7.1. También se han añadido los valores morfométricos obtenidos del Capítulo 4 relacionados con el espécimen trabecular y osteoporótico total. Hay que tener en cuenta que las características morfométricas de las secciones podían ser ligeramente diferentes a los resultados morfométricos de la muestra original, ya que la morfometría trabecular puede variar dentro de una misma región, lo cual se puede observar en los resultados de la Tabla 7.1. No obstante, cabe destacar que, aun con el pequeño aumento de fracción en volumen en ambos cortes, la microestructura era muy similar a la de los especímenes originales, a excepción de la densidad conectiva en el corte de hueso trabecular sano. Esto podía deberse a que en el corte se encontraban menor número de trabéculas, lo que provocó este descenso en la densidad conectiva trabecular. Al igual que en los resultados morfométricos del Capítulo 4, el corte osteoporótico mostró una disminución de la fracción en volumen en comparación con el sano, provocando un aumento del área superficial y la separación media trabecular, aunque disminuyendo el espesor trabecular medio y el número de trabéculas. Todo esto, como se ha comentado anteriormente, son signos típicos producidos por la osteoporosis.

TABLA 7.1. RESULTADOS MORFOMÉTRICOS DE LOS CORTES DE HUESO TRABECULAR Y LAS MUESTRAS COMPLETAS

Característica morfométrica	Corte hueso trabecular sano	Muestra hueso trabecular sano	Corte hueso trabecular osteoporótico	Muestra hueso trabecular osteoporótica
BV/TV [%]	36.089	30.63	19.174	16.38
BS/BV [mm ⁻¹]	12.290	13.09	19.369	19.75
Tb.Th [mm]	0.288	0.24	0.185	0.17
Tb.Sp [mm]	0.686	0.66	0.772	0.95
Tb.N [mm ⁻¹]	1.255	1.27	1.036	0.99
DA [-]	0.221	0.22	0.250	0.23
D [-]	2.341	2.52	2.310	2.47
Conn.D [mm ⁻³]	3.32 · 10 ⁻¹¹	1.86 · 10 ⁻⁷	3.24 · 10 ⁻¹¹	3.17 · 10 ⁻¹¹

7.2.3. Caracterización mecánica numérica

El proceso de caracterización mecánica mediante simulaciones numéricas de los cortes de hueso trabecular ha seguido el mismo procedimiento que el realizado en el Subcapítulo 6.6.2.

Para poder reproducir con buena precisión la microestructura de los cortes de hueso trabecular sano y osteoporótico, se desarrollaron modelos EF de elementos cuadráticos de bordes rectos mediante *ScanIP*. La malla del espécimen sano tenía 962962 nodos y un tamaño característico de elemento de $6.899 \cdot 10^{-2}$ mm, mientras que el modelo osteoporótico poseía 661451 nodos y un tamaño característico de $6.685 \cdot 10^{-2}$ mm. Además, al igual que en el Subcapítulo 6.6.2., ambos cortes de hueso trabecular fueron modelados a nivel de tejido óseo como materiales elástico-lineales, isotropos y homogéneos, características suficientes para calcular la rigidez aparente de cada corte. Por último, especificar que los modelos EF fueron calibrados con los Módulos de Young reales de la muestra de hueso trabecular sano y osteoporótico (11.819 GPa y 14.765 GPa, respectivamente), proporcionados por el grupo de investigación FROSTEO y obtenidos mediante un procedimiento similar al utilizado para estimar el módulo de Young del PLA en este TFM.

Con el fin de reproducir los ensayos experimentales del Estudio 3, también se fijó la superficie inferior en la dirección del ensayo y se aplicó un desplazamiento uniaxial del 5 % en la cara superior. Este proceso permitió calcular la rigidez aparente numérica de estas muestras tomadas del hueso trabecular sano y osteoporótico. Sabiendo que el tejido óseo trabecular posee propiedades anisótropas por las cuales tiene un comportamiento mecánico superior en una dirección preferente, se consideró apropiado calcular la rigidez aparente en las todas las direcciones (x, y, z) con el fin de hallar la rigidez más crítica (la más alta). Esto se debe a que, al producirse la remodelación ósea optimizando la microestructura de acuerdo a las sollicitaciones recibidas, se supone que dicha dirección recibiría las cargas más altas.

En la Figura 7.2. se muestran los modelos 3D de los cortes de espécimen sano y osteoporótico generados en *Abaqus* para calcular la rigidez aparente de las estructuras trabeculares.

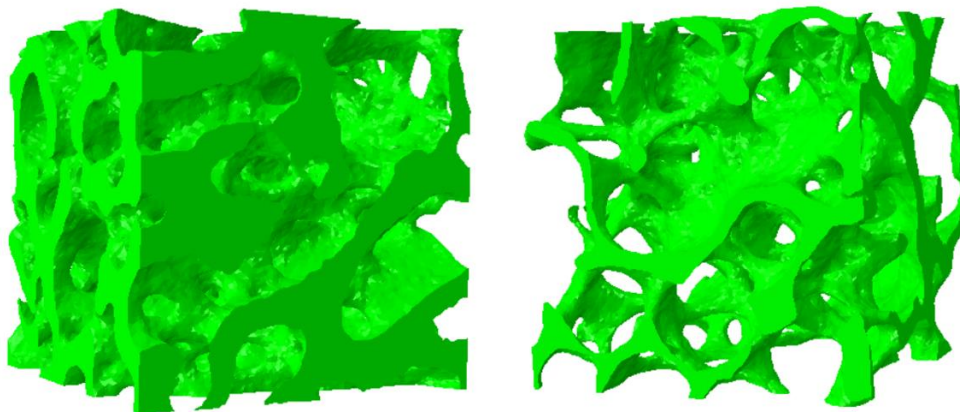


Figura 7.2. Modelos 3D de los cortes de hueso trabecular sano (izquierda) y osteoporótico (derecha). No se muestran los elementos finitos para facilitar la visualización de la microestructura

7.2.3.1. Resultados caracterización mecánica numérica

Por medio de los modelos de elementos finitos desarrollados, se pudieron obtener las rigideces aparentes numéricas de ambos cortes en las tres direcciones principales. En la tabla 7.2. se muestran los valores mecánicos de ambos cortes, donde cabe destacar el notable aumento de rigidez en la dirección x por parte del corte de espécimen sano. Como se ha mencionado anteriormente, el hueso trabecular posee propiedades anisótropas, mediante las cuales las trabéculas se orientan en una dirección preferente, aumentando así la rigidez de la estructura en esa dirección. De esta manera, por medio de los valores de los ensayos numéricos a compresión, se observó que el corte de hueso trabecular sano poseía un

comportamiento mecánico más direccional en x. En el caso de la sección osteoporótica, se vio también un aumento de la rigidez en x en comparación con las otras direcciones principales (y, z), pudiendo confirmarse también así una orientación trabecular preferente en x. Por último, señalar la visible disminución de casi un 28 % en la rigidez aparente del corte osteoporótico comparado con el proveniente de hueso trabecular sano.

TABLA 7.2. RIGIDEZ APARENTE NUMÉRICA CORTES DE HUESO TRABECULAR

Muestra corte hueso trabecular	E_{xapp} [MPa]	E_{yapp} [MPa]	E_{zapp} [MPa]
Corte sano	1974.052	1012.741	1335.913
Corte osteoporótico	552.417	517.796	367.860

7.3. CALIBRACIÓN RIGIDEZ Y ELECCIÓN ESTRUCTURAS TPMS

En el Estudio 3, tras realizar los ensayos experimentales de las estructuras TPMS, se pudo calcular el módulo de Young del PLA utilizado en la fabricación de éstas, obteniendo un valor de 1.707 GPa. Sin embargo, el módulo de elasticidad de la muestra de hueso sano era casi 7 veces mayor que el del PLA (11.819 GPa). De esta manera, comparando las rigideces aparentes más altas de las estructuras TPMS (695.086 MPa) y del corte de hueso sano (1974.052 MPa), las rigideces de las estructuras TPMS eran aproximadamente un 35 % menores que las de la sección trabecular sana. De hecho, la rigidez aparente a compresión de los andamios TPMS se acercaba más a la perteneciente al corte osteoporótico (552.417 MPa). Por consiguiente, se decidió buscar en literatura un material con módulo elástico parecido al del espécimen trabecular sano para así calibrar las rigideces de los andamios TPMS con este nuevo módulo de Young, con el fin de buscar una combinación de material base y estructura TPMS que más se pareciera a la del hueso analizado. Debido a que se utilizó PLA en la fabricación, se consideró oportuno buscar materiales PLA reforzados con fibras u otros polímeros que le brindasen una mayor rigidez.

En primer lugar, se encontró un PLA reforzado con un 20 % en peso de carbonato de calcio molido, cuyo módulo de elasticidad era de 5.042 GPa. No obstante, al calibrar las rigideces aparentes a compresión de los 16 andamios TPMS a este nuevo módulo de Young, se observó que únicamente la estructura TPMS AFM₃ con una fracción en volumen de 60 % poseía una rigidez similar al corte de hueso trabecular. Sin embargo, al tener una densidad relativa tan alta y estar fuera del rango típico de hueso trabecular, se comprometía la morfometría reticular, obteniendo un andamio TPMS microestructuralmente distinto al hueso trabecular sano. De esta manera, se necesitaba encontrar un material de refuerzo para el PLA más rígido, como las fibras naturales.

Las fibras naturales son un recurso que, debido a su bajo coste, peso y altas propiedades mecánicas, son altamente empleadas en industrias como la automoción, la construcción ligera o la medicina [82]. De hecho, en el campo médico se utilizan fibras naturales en la ingeniería tisular y en la ortopedia debido a su alta resistencia a la fractura y propiedades anticorrosivas [82]. Un estudio realizado por M.G. Aruan Efendy y K.L. Pickering (2019) utilizó fibras de cáñamo y de harakeke como materiales de refuerzo con el fin de mejorar las propiedades mecánicas del PLA [83]. Con un porcentaje en peso de 30 % de harakeke combinado con PLA se obtuvo un módulo de elasticidad de 8.02 GPa, mientras que con un 40 % en peso de cáñamo (PLA40Cáñamo) se obtuvo uno de 9.67 GPa [83]. De este modo, con el fin de encontrar un

material más rígido que pudiese proporcionar unas propiedades mecánicas óptimas, se eligió el PLA reforzado con fibras de cáñamo (9.67 GPa) ya que tenía un módulo de Young cercano al de hueso trabecular sano. En la Tabla 7.3. se pueden encontrar los valores de las 16 estructuras TPMS originales de PLA y calibradas al módulo de elasticidad de PLA40Cáñamo.

TABLA 7.3. RIGIDEZ APARENTE ESTRUCTURAS TPMS DE PLA Y PLA40CÁÑAMO Y DE CORTES DE HUESO TRABECULAR

Estructura TPMS	Rigidez aparente PLA [MPa]	Rigidez aparente calibrada a PLA40Cáñamo [MPa]
TPMS Giroide 10%	32.202	182.421
TPMS Giroide 31%	193.535	1096.358
TPMS Giroide 40%	276.992	1569.135
TPMS Giroide 60%	637.632	3612.127
TPMS AFM ₁ 10%	18.576	105.231
TPMS AFM ₁ 31%	110.523	626.103
TPMS AFM ₁ 40%	239.343	1355.856
TPMS AFM ₁ 60%	512.364	2902.496
TPMS AFM ₂ 10%	47.680	270.103
TPMS AFM ₂ 31%	231.179	1309.608
TPMS AFM ₂ 40%	349.415	1979.404
TPMS AFM ₂ 60%	661.644	3748.153
TPMS AFM ₃ 10%	44.054	249.562
TPMS AFM ₃ 31%	198.726	1125.765
TPMS AFM ₃ 40%	357.400	2024.639
TPMS AFM ₃ 60%	695.086	3937.599
Corte de hueso trabecular	Rigidez aparente objetivo [MPa]	Promedio rigidez aparente [MPa]
Corte hueso trabecular sano	1974.052	1442.569
Corte hueso trabecular osteoporótico	552.417	479.358

Mediante los resultados representados en la Tabla 7.3. se pudo comprobar como el PLA40Cáñamo produjo un aumento de un 17 % en la rigidez aparente de las estructuras TPMS. Sabiendo que la rigidez aparente numérica del corte de hueso sano era 1974.052 MPa, los andamios TPMS que más se acercaban a esta cifra eran la AFM₂ (1979.404 MPa) y la AFM₃ (2024.639 MPa), ambas con una fracción en volumen de 40 %. Asimismo, la estructura AFM₁ con una densidad relativa de 31 % mostró una rigidez (1355.856 MPa) algo más baja que la rigidez objetivo del corte de espécimen sano, pero óptima comparada con las rigideces aparentes en las demás direcciones principales (y, z) (1012.741 MPa y 1335.913 MPa, respectivamente). De la misma forma, las estructuras TPMS Giroide con fracción en volumen de 31 % y 40 % también poseían una rigidez óptima comparada con la sección de hueso trabecular sano. Sin embargo, el propósito de este TFM era explorar los diseños propios, por lo que no se tuvieron en cuenta para este último estudio.

Aunque la estructura TPMS AFM₂ con densidad relativa del 40 % presentaba una rigidez aparente excepcionalmente semejante a la sección de hueso trabecular tomado, el Estudio 3 demostró que este andamio poseía una microestructura diferente al hueso trabecular: un

espesor reticular medio alto, un número reticular bajo y un área superficial y separación media reticular al borde de los límites superiores típicos del tejido esponjoso. De forma contraria, las estructuras TPMS AFM₁ y AFM₃ con fracciones en volumen de 31 % y 40 %, respectivamente, habían demostrado poseer excelentes características morfométricas. De esta manera, para la generación de constructos TPMS-hueso, se decidió utilizar estas dos estructuras TPMS junto con el andamio AFM₁ de densidad relativa del 10 %, con el fin de evaluar si una fracción en volumen fuera del rango típico de hueso trabecular (11.8 % - 41.8 %) en la región de un defecto óseo era contraproducente o beneficiosa en cuanto a la transmisión de esfuerzos.

En la Tabla 7.4. se presentan las características morfométricas y mecánicas de las 3 estructuras TPMS mencionadas.

TABLA 7.4. RESUMEN DE LA MORFOMETRÍA Y PROPIEDADES MECÁNICAS DE AFM₁ 10 % Y 31 % Y AFM₃ 40 %

Característica morfométrica	TPMS AFM ₁ 10%	TPMS AFM ₁ 31%	TPMS AFM ₃ 40 %
TPMS_V/TV [%]	10	31	40
TPMS_S/BV [mm ⁻¹]	66.464	22.576	15.967
Ret.Th [mm]	0.059	0.148	0.285
Ret.Sp [mm]	0.493	0.420	0.376
Ret.N [mm ⁻¹]	1.696	2.069	1.523
DA [-]	0.144	0.112	0.013
D [-]	2.394	2.459	2.457
Conn.D [mm ⁻³]	1.12·10 ⁻¹²	1.68·10 ⁻¹²	1.35·10 ⁻¹²
Rigidez aparente PLA40Cáñamo [MPa]	105.231	626.103	2024.639

7.4. CONSTRUCTO TPMS-HUESO TRABECULAR

Una vez escogidas las estructuras TPMS que se iban a considerar en la generación del constructo andamio TPMS-hueso, el siguiente paso fue desarrollar este mismo. Posteriormente, se realizó la caracterización mecánica mediante simulaciones numéricas a compresión con el fin de analizar la rigidez total del constructo y observar la distribución de tensiones.

7.4.1. Generación de modelos TPMS-hueso trabecular

Para generar estos constructos TPMS-hueso con *ScanIP*, fue necesario que ambos modelos tuviesen el mismo tamaño digital, para lo que fue necesario hacer un *resample* y acondicionar así el corte de hueso al número de píxeles por dirección de las estructuras TPMS mediante *ScanIP*. Una vez ambas estructuras tuvieron el mismo tamaño, se procedió a situar una encima de la otra de manera que se obtuviese una transición de material, pero sin ningún tipo de unión, solo tocándose la superficie superior de la TPMS con la superficie inferior del corte de hueso trabecular, tal y como se muestra en la Figura 7.3. Por último, se obtuvo la reconstrucción 3D del constructo desarrollado.

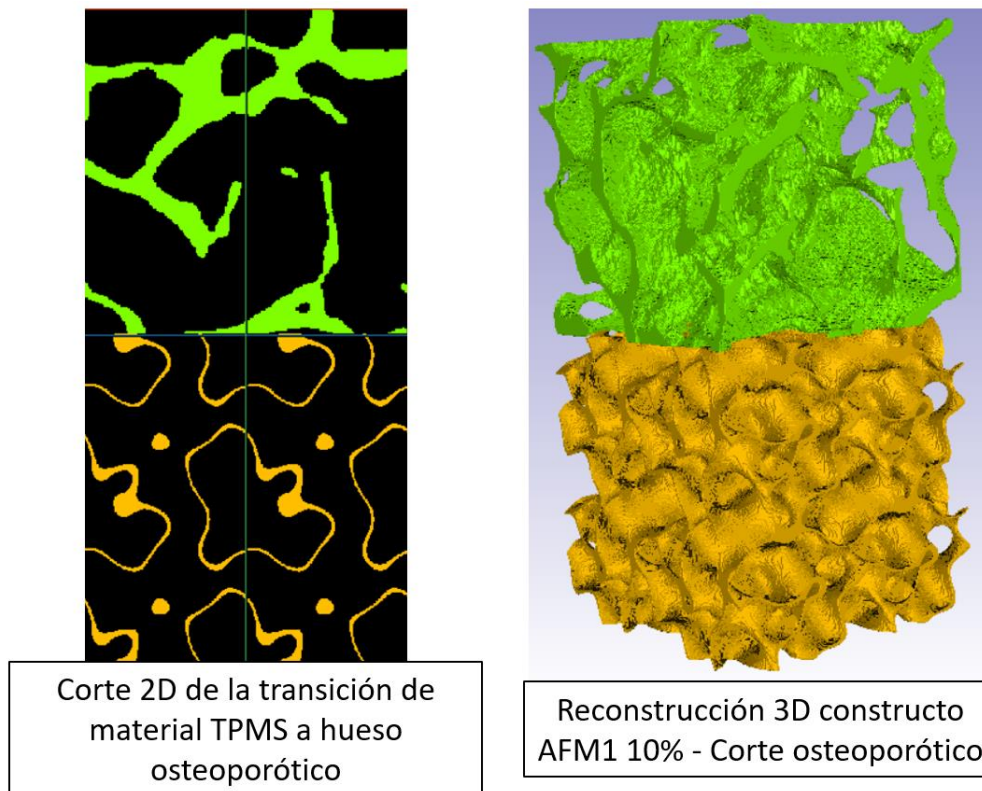


Figura 7.3. Generación de un modelo 3D del constructo osteoporótico AFM₁ de 10 % mediante *ScanIP*. Izquierda: corte 2D de la transición de material TPMS a hueso osteoporótico del constructo formado por la TPMS AFM₁ de fracción en volumen de 10 % y el corte trabecular osteoporótico. Derecha: Reconstrucción 3D del constructo osteoporótico con AFM₁ de 10 %.

En total se diseñaron 6 constructos:

- **Constructo sano con AFM₁ de 10 %:** formado por la unión de la estructura TPMS AFM₁ con una fracción en volumen de 10 % y el corte de hueso trabecular sano.
- **Constructo osteoporótico con AFM₁ de 10 %:** formado por la unión de la estructura TPMS AFM₁ con una fracción en volumen de 10 % y el corte de hueso trabecular osteoporótico.
- **Constructo sano con AFM₁ de 31 %:** formado por la unión de la estructura TPMS AFM₁ con una fracción en volumen de 31 % y el corte de hueso trabecular sano.
- **Constructo osteoporótico con AFM₁ de 31 %:** formado por la unión de la estructura TPMS AFM₁ con una fracción en volumen de 31 % y el corte de hueso trabecular osteoporótico.
- **Constructo sano con AFM₃ de 40 %:** formado por la unión de la estructura TPMS AFM₃ con una fracción en volumen de 40 % y el corte de hueso trabecular sano.
- **Constructo osteoporótico con AFM₃ de 40 %:** formado por la unión de la estructura TPMS AFM₃ con una fracción en volumen de 40 % y el corte de hueso trabecular osteoporótico.

7.4.2. Caracterización mecánica numérica

La caracterización numérica mecánica de los 6 constructos se realizó de forma similar al Subcapítulo 6.6.2. De estas simulaciones se pretendía medir la rigidez del constructo y observar la transmisión de esfuerzos.

Los modelos de elementos finitos de los constructos sanos tenían una media de 609210.667 ± 7366.620 nodos con elementos de un tamaño medio de 0.098 ± 0.013 mm, mientras que los constructos osteoporóticos poseían una malla de $618671.667 \pm 362288.297$ nodos de media con un tamaño característico de elemento de 0.087 ± 0.008 . Al igual que en los casos anteriores, tanto las estructuras TPMS como los cortes de hueso trabecular de los constructos fueron modelados como materiales elástico-lineales, isotropos y homogéneos, con un módulo de Young de 9.67 GPa para los andamios y de 11.819 GPa y 14.765 GPa para los cortes de hueso sano y osteoporótico, respectivamente.

Con el fin de reproducir los ensayos experimentales, se fijó nuevamente la superficie inferior en la dirección de ensayo y se aplicó a la superficie superior un desplazamiento uniaxial del 5 %. Cabe destacar que en este caso la superficie inferior era la superficie de la TPMS y la superior era la superficie del corte de hueso trabecular. En la Figura 7.4. se muestran los modelos EF de los 3 constructos sanos generados en *Abaqus*.

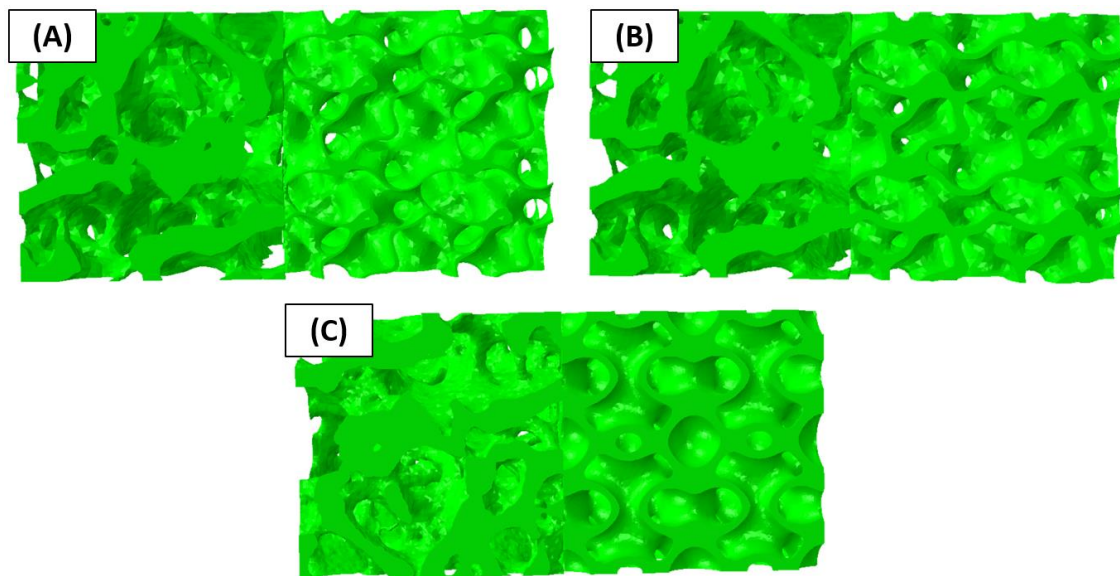


Figura 7.4. Modelos 3D de constructos de hueso trabecular sano. (A) Constructo sano con AFM₁ de 10 %. (B) Constructo sano con AFM₁ de 31 %. (C) Constructo sano con AFM₃ de 40 %. No se muestra la malla para poder apreciar la microestructura de cada constructo.

7.5. RESULTADOS ESTUDIO 4: EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN ANDAMIO TPMS-HUESO

A partir de los resultados de caracterización numérica de los 6 constructos TPMS-hueso, fue posible calcular la rigidez global de cada uno de ellos y visualizar la distribución de tensiones en el constructo andamio-hueso. Los resultados de rigidez numérica de cada uno de los constructos, así como la rigidez media de los cortes de hueso trabecular y osteoporótico, se pueden encontrar en la siguiente tabla (Tabla 7.5.).

TABLA 7.5. RIGIDEZ TOTAL CONSTRUCTOS HUESO-TPMS

Estructura	Rigidez numérica [MPa]
Constructo sano con AFM ₁ de 10 %	184.124
Constructo osteoporótico con AFM ₁ de 10 %	133.523
Constructo sano con AFM ₁ de 31 %	1267.592
Constructo osteoporótico con AFM ₁ de 31 %	444.375

Constructo sano con AFM ₃ de 40 %	1457.431
Constructo osteoporótico con AFM ₃ de 40 %	538.644
Promedio corte hueso trabecular sano	1431.902
Promedio corte hueso trabecular osteoporótico	479.358

En la Tabla 7.5. se puede observar que el constructo de hueso sano con AFM₃ de una fracción en volumen de 40 % era el que mayor rigidez tenía (1457.431 MPa). No obstante, cerca de este valor, se encontraba el constructo sano de AFM₁ de densidad relativa de 31 % con una rigidez de 1267.592 MPa. Comparando estos valores con el valor medio de rigidez de la sección tomada de hueso trabecular (1431.902 MPa), se pudo comprobar que el constructo de TPMS AFM₃ tenía una rigidez extraordinariamente parecida al corte de hueso trabecular y que el constructo sano AFM₁ de 31 % tampoco se alejaba mucho de la rigidez trabecular calculada.

Observando los mapas de distribuciones de tensiones de von Mises, se comprobó que en ambos constructos las estructuras TPMS permitían la transmisión de esfuerzos del corte trabecular sano a las estructuras AFM₁ y AFM₃, algo muy importante para reducir el *stress shielding*. Por un lado, en el andamio TPMS del constructo sano formado por AFM₃ con 40 % de densidad relativa, el mayor pico de tensión se encontró en la transición hueso-TPMS de unos 150 MPa, posiblemente por un ‘choque’ entre una trabécula de hueso y el borde de un semicírculo de la geometría AFM₃ (zona en rojo del centro de la Figura 7.5. (A)). No obstante, a excepción de esta pequeña zona y una tensión de unos 80 MPa en el hueso, el resto de las tensiones oscilaban entre 10 y 25 MPa, concentrándose mayormente en el hueso trabecular, lo que podría deberse a una ligera diferencia de rigidez entre las dos estructuras, siendo la TPMS un poco más rígida y, por tanto, pudiendo absorber así más las cargas (ver Figura 7.5. (A)). Debido a que la tensión de fallo del hueso es aproximadamente 115 MPa, se pudo suponer que la integridad del andamio TPMS AFM₃ de fracción en volumen de 40 % no se vería comprometida al este poseer unas concentraciones de tensiones más bajas. Por último, cabe destacar que el color gris de la leyenda de las tensiones de von Mises, hacía referencia a un pico máximo de tensión (250.24 MPa) registrado por *Abaqus* que, fijándose más en detalle, era una tensión asociada a una región menor del tamaño de un elemento de malla y, por tanto, despreciable (ver Figura 7.5. (B)).

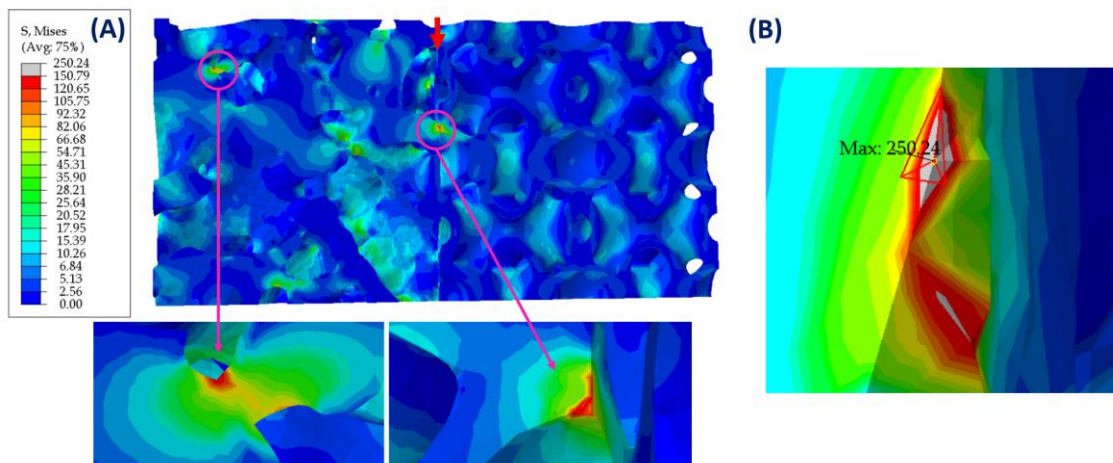


Figura 7.5. Distribución de tensiones de von Mises en el constructo sano con AFM₃ de 40 % de la cara más crítica. (A) Trasmisión de esfuerzos en el constructo (arriba) con las zonas de mayor tensión señalizadas (abajo). (B) Pico de máxima tensión según *Abaqus*. Con la flecha roja se indica el lugar de transición de un material tipo hueso a un

material tipo AFM₃. La escala de colores de azul a rojo corresponde a una escala de mínima a máxima tensión, respectivamente.

Por otro lado, en el caso del constructo sano con AFM₁ de 31 % se comprobó que la distribución de tensiones era más equitativa debido a que poseía una fracción en volumen menor que el andamio AFM₃, por lo que absorbía menos las cargas (ver Figura 7.6. (A)). Sin embargo, se observó que en este último constructo los picos de tensión más altos estaban en torno a 70-80 MPa en la interfaz entre el hueso y el andamio TPMS AFM₁. En esta zona, el pico de tensión más destacable fue uno de aproximadamente 72 MPa en un área pequeña debido a un contacto discontinuo entre una trabécula y una retícula (ver Figura 7.6. (A) abajo). No obstante, al igual que en el caso anterior la mayor parte de las tensiones oscilaban entre 10 y 30 MPa, valores que comparados con la tensión de fallo propia del hueso trabecular (alrededor de 115 MPa) eran bajos, pudiendo suponer que la integridad de la estructura TPMS no se vería afectada. El valor máximo de la leyenda de tensiones (219.21 MPa) de von Mises estaba asociada nuevamente a una región del tamaño de un elemento de malla y, en consecuencia, se consideró despreciable (ver Figura 7.6. (B)).

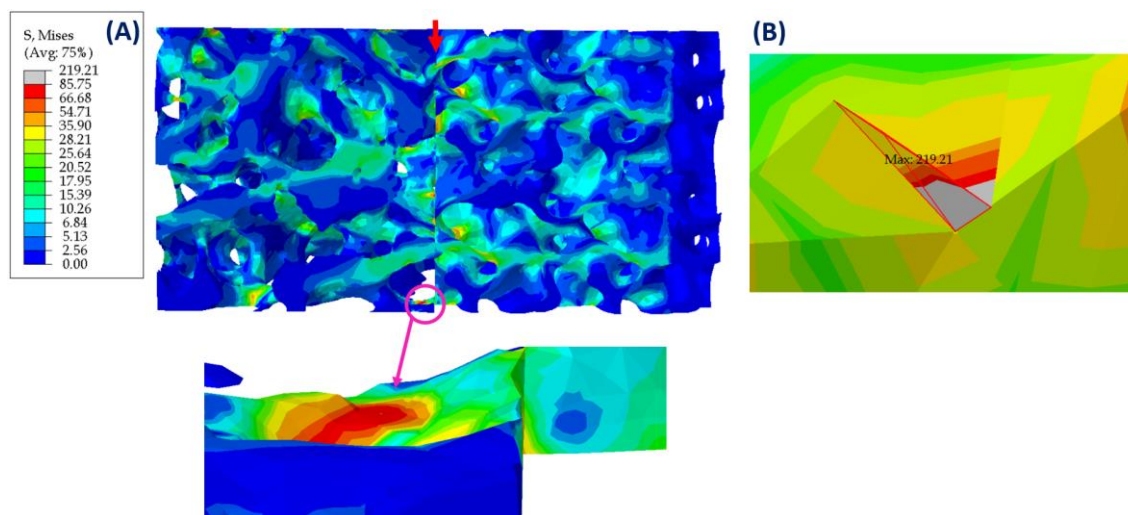


Figura 7.6. Distribución de tensiones de von Mises en el constructo sano con AFM₁ de 31 % de la cara más crítica. (A) Trasmisión de esfuerzos en el constructo (arriba) con las zonas de mayor tensión señalizadas (abajo). (B) Pico de máxima tensión según *Abaqus*. Con la flecha roja se indica el lugar de transición de un material tipo hueso a un material tipo AFM₁. La escala de colores de azul a rojo corresponde a una escala de mínima a máxima tensión, respectivamente.

En el caso de los constructos osteoporóticos formados por AFM₁ y AFM₃ de densidad relativas de 31 % y 40 %, se observó que los valores de rigidez global eran mucho menores, poseyendo un valor parecido a la rigidez del corte de hueso osteoporótico. No obstante, al visualizar la distribución de tensiones de von Mises, se comprobó, que, aunque tensiones se concentraban en su mayoría en el corte de hueso osteoporótico debido a su baja rigidez, también se transmitían estos esfuerzos mecánicos a las estructuras TPMS (ver Figura 7.7.). Al tener el andamio TPMS AFM₃ una fracción en volumen ligeramente mayor (40 % en vez de 31 %) y, por ende, una rigidez numérica mayor que AFM₁, se pudo observar que absorbía más los esfuerzos, permitiendo que solo una pequeña parte de ellos se transmitiera a su estructura (ver Figura 7.7. (B)). Esto indica la necesidad y la importancia de proponer soluciones paciente-específicas en las que la fracción en volumen sea parecida entre el hueso y el andamio, para una transmisión homogénea de tensiones mecánicas. Al igual que en los anteriores casos, las tensiones máximas calculadas por *Abaqus* estaban asociadas a regiones de tamaño de un elemento de malla y, por ello, fueron despreciadas.

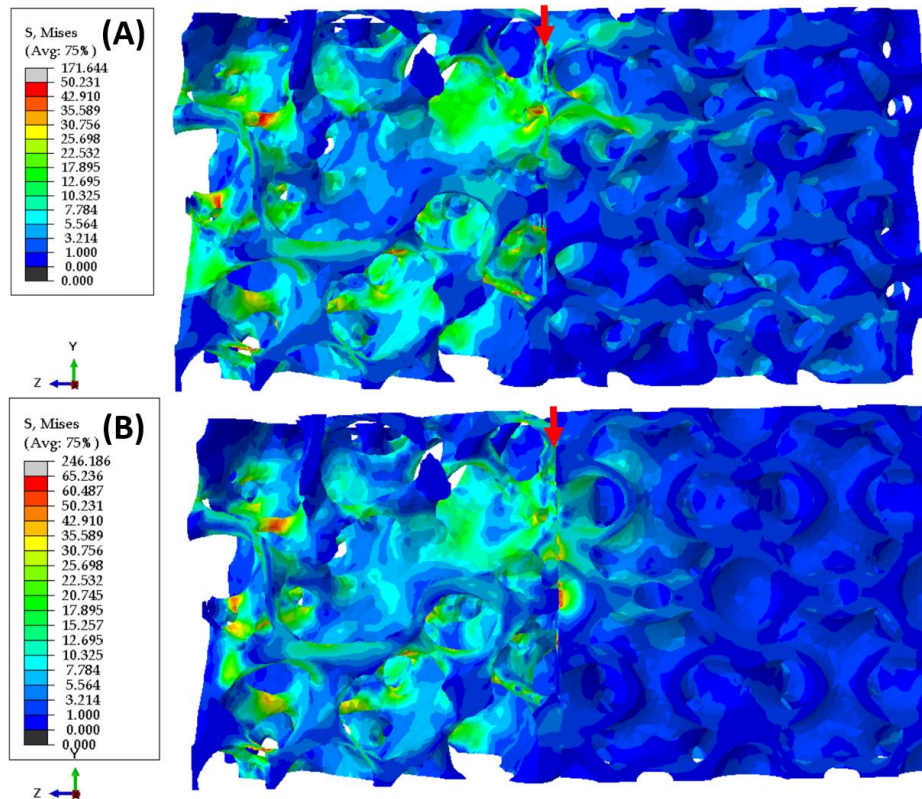


Figura 7.7. Distribución de la tensión de von Mises en dos modelos 3D de constructos de hueso trabecular osteoporótico en sus caras más críticas. (A) Tensiones de von Mises en el constructo osteoporótico con AFM₁ de 31 %. (B) Tensiones de von Mises en el constructo osteoporótico con AFM₃ de 40 %. Con las flechas rojas se indica el lugar de transición de un material tipo hueso a un material tipo AFM₁ (A) y AFM₃ (B). La escala de colores de azul a rojo corresponde a una escala de mínima a máxima tensión, respectivamente.

Por último, los constructos de hueso trabecular sano y osteoporótico con la estructura AFM₁ con fracción en volumen de 10 % poseían una rigidez mucho más baja que el corte de espécimen sano y que los constructos osteoporóticos con AFM₁ de 31 % y AFM₃ de 40 %. Sabiendo por el Estudio 3 que la rigidez es linealmente dependiente de la fracción en volumen, era de esperar que una densidad relativa baja produjese tales rigideces en los constructos y un ambiente mecánicamente inestable. De hecho, esto último se comprobó mediante la distribución de tensiones del constructo sano con AFM₁ de 10%, donde al poseer la estructura TPMS una rigidez 7 veces menor que la del corte de hueso sano, la mayor parte de tensiones se concentraban en la estructura TPMS, pudiéndose causar así microfracturas debido a la fragilidad del andamio (mirar Figura 7.8. (A)). Además, al transmitirse menos tensiones al hueso, la remodelación ósea encargada de la osteointegración podría verse afectada, lo que indicaba que una fracción en volumen muy distinta podía ser perjudicial para el tratamiento de fracturas con grandes defectos. En el caso del constructo osteoporótico con AFM₁ de 10 %, al tener tanto el andamio como el corte osteoporótico una rigidez más similar que en el caso anterior, había una mayor distribución de tensiones mecánicas entre las dos estructuras, aunque seguían predominando en la estructura TPMS (mirar Figura 7.8. (B)). Además, tal y como se ha puntualizado anteriormente, las estructura TPMS AFM₁ con densidad relativa de 10 % permitió en ambos casos la transmisión de esfuerzos mecánicos desde el hueso.

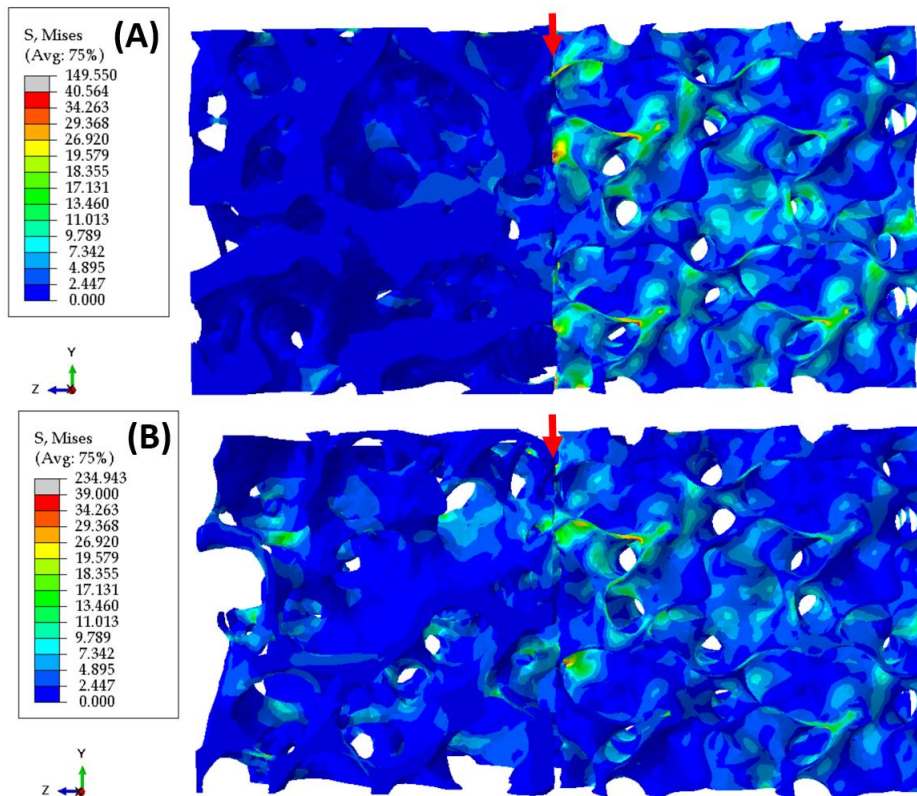


Figura 7.8. Distribución de la tensión de von Mises en dos modelos 3D de constructos de hueso trabecular sano y osteoporótico en sus caras más críticas. (A) Tensiones de von Mises en el constructo sano con AFM₁ de 10 %. (B) Tensiones de von Mises en el constructo osteoporótico con AFM₁ de 10 %. Con las flechas rojas se indica el lugar de transición de un material tipo hueso a un material tipo AFM₁. La escala de colores de azul a rojo corresponde a una escala de mínima a máxima tensión, respectivamente.

7.6. CONCLUSIONES

Mediante la selección de dos estructuras TPMS morfométrica y mecánicamente óptimas (AFM₁ y AFM₃ de fracciones en volumen de 31 % y 40 %, respectivamente) y una completamente diferente (AFM₁ con densidad relativa de 10 %), este estudio ha analizado la rigidez global y la transmisión de esfuerzos de 6 constructos diferentes, cada uno formado por un corte de hueso trabecular y una estructura TPMS.

A partir de la modelización de 6 constructos de hueso trabecular, este estudio ha conseguido obtener una rigidez global de los constructos sano AFM₁ de densidad relativa de 31 % y AFM₃ de 40 % similar a la rigidez numérica del corte de hueso trabecular sano. Así, estos dos andamios TPMS han demostrado poder soportar las cargas de compresión uniaxiales a las que estaba sometido ese específico corte de hueso trabecular, proporcionando un ambiente mecánico estable. Además, observando los mapas de distribución de tensiones de von Mises, se ha demostrado que las 3 estructuras TPMS (AFM₁ de fracciones en volumen 10 % y 31 % y AFM₃ con una densidad relativa de 40 %), son capaces de recibir esfuerzos mecánicos por parte del hueso y, por ende, igualmente capaces de transmitirlos. Esto es muy importante ya que la transmisión de esfuerzos mecánicos al hueso trabecular implica la reducción de *stress shielding*.

Fijándose en los dos constructos con rigidez numérica parecida al corte de hueso trabecular sano, se observó que en el constructo sano con AFM₃ de 40 %, las tensiones más altas se concentraban mayormente en el corte de hueso trabecular. Según la Ley de Wolff mencionada

en el Subcapítulo 2.1., el aumento de cargas mecánicas en el hueso produce la activación osteoblástica y, por ende, la formación de hueso. De este modo, se podría suponer que, si los picos de tensión más altos se encontraban en el hueso trabecular en vez de en la estructura TPMS, se podría producir la formación de hueso, lo que resultaría en la osteointegración de este andamio TPMS AFM₃. Además, la geometría plana, compacta y con patrones circulares del andamio AFM₃ produjo picos de tensiones más bajos en la interfaz hueso-TPMS, lo cual es también muy importante para evitar microfracturas que comprometen la estabilidad mecánica y osteointegración del implante. No obstante, sería conveniente diseñar otra zona de contacto, con el fin de disminuir el pico de tensión que tenía lugar en una pequeña zona de la transición hueso-TPMS. Por otro lado, la distribución de tensiones en el constructo sano con AFM₁ de 31 % era más equitativa, posiblemente debido a la similitud de rigideces entre las dos estructuras y a su menor fracción en volumen. Sin embargo, los picos de tensión más altos se encontraban en la zona de contacto hueso-TPMS. Esto podría ser debido a la geometría del andamio AFM₁, ya que posee curvas estilo trabéculas óseas, produciéndose así ‘choques’ entre las retículas y las trabéculas no dispuestas de forma continua y, por consiguiente, aumentando la tensión en esas zonas. Esto supone un problema ya que puede producir microfracturas en el andamio, comprometiendo así la rigidez e integridad de éste. Aun así, si las tensiones no superasen las de fallo del hueso (alrededor de 115 MPa), los picos de carga en la zona de contacto podrían ser también beneficiosos para la osteointegración. No obstante, desarrollando una zona de contacto hueso-TPMS óptima que proporcione una transición hueso-TPMS más suave, podría ser posible evitar la concentración de tensiones altas en la interfaz entre las dos estructuras, resultando en un ambiente mecánico más estable.

En resumen, con este estudio se ha conseguido, por un lado, desarrollar los constructos de hueso trabecular sano con los andamios TPMS AFM₁ y AFM₃ de fracciones en volumen de 31 % y 40 %, respectivamente, con una rigidez a compresión optimizada al corte de la muestra de hueso trabecular sano. Por otro lado, no solo se ha demostrado que estos andamios TPMS son capaces de resistir cargas uniaxiales, sino que al mismo tiempo estos esfuerzos mecánicos pueden ser transmitidos al hueso, lo cual es positivo, pues disminuye el *stress shielding* y, en consecuencia, la reabsorción ósea. Por consiguiente, se ha demostrado que los andamios TPMS AFM₁ y AFM₃ de fracciones en volumen de 31 % y 40 %, respectivamente, pueden proporcionar un ambiente mecánico estable para la osteointegración del andamio TPMS en la región del defecto.

CAPÍTULO 8

CONCLUSIONES

Este Trabajo Fin de Máster se ha focalizado en la caracterización morfométrica y mecánica de andamios basados en superficies mínimas triplemente periódicas (TPMS), con el fin de diseñar posibles sustitutos óseos TPMS para el tratamiento de defectos óseos de gran tamaño. Se ha aplicado una metodología experimental y numérica que permite generar soluciones paciente-específicas. Para ello, se han realizado 4 estudios.

Por un primer lado, sabiendo que la microestructura del hueso trabecular posee un gran efecto sobre las propiedades mecánicas del hueso, en el Estudio 1 se realizó la caracterización morfométrica de una muestra de hueso trabecular sano y osteoporótico para así poder diseñar alternativas de andamios óseos TPMS optimizados en específico para la muestra sana.

Por un segundo lado, utilizando la fracción en volumen paciente-específica de la muestra de hueso trabecular sano como densidad relativa en los andamios TPMS, se realizó un análisis de dimensión de celda unidad de TPMS en el Estudio 2. Mediante la exploración de la relación entre la morfometría y el tamaño de celda unidad, se ha concluido que un menor tamaño de celda unidad implica un aumento en la relación superficie-volumen reticular y en el número reticular, incrementando así la densidad conectiva reticular y la complejidad de la estructura TPMS, lo que finalmente provoca un ligero incremento en la dimensión fractal. De forma contraria, también se ha comprobado que la disminución del tamaño de celda unidad produce un decremento del espesor y de la separación media reticular, aunque no posee ningún efecto en el grado de anisotropía debido a la ausencia de direcciones preferentes en los andamios TPMS. Por último, comparando los resultados morfométricos con la microestructura de hueso trabecular, se pudo demostrar que la celda unidad TPMS de 1.5 mm de tamaño se ajusta a las características microestructurales de relación superficie-volumen, espesor, separación, y número trabecular típicos del tejido óseo trabecular.

En tercer lugar, en el Estudio 3 se diseñaron 4 geometrías TPMS diferentes: Giroide, AFM₁, AFM₂ y AFM₃. Habiendo comprobado la excelente capacidad de semejanza morfométrica de las celdas unidad de 1.5 mm con el hueso trabecular, se generaron 16 andamios TPMS de 3 mm de tamaño con densidades relativas de 10 %, 31 %, 40 % y 60 %, con el fin de evaluar el efecto de la fracción en volumen en la morfometría y rigidez mecánica. Por un lado, la caracterización microestructural de las estructuras TPMS demostró que un aumento de la densidad relativa provoca un engrosamiento de las retículas y, por consiguiente, una disminución en la separación reticular, produciendo una disminución de la porosidad y del área superficial del andamio TPMS. Además, se pudo observar que las microestructuras de los andamios TPMS Giroide, AFM₁ y AFM₃ con fracciones en volumen de 31 % y 40 %, se ajustan a la morfometría de hueso trabecular sano paciente-específico. Por otro lado, la caracterización mecánica se realizó mediante ensayos a compresión experimentales y simulaciones numéricas, comprobándose una clara correlación lineal positiva entre la fracción en volumen y la rigidez aparente a compresión. Además, la caracterización mecánica también permitió estimar el módulo de Young del PLA utilizado en la fabricación de los andamios TPMS obteniendo 1.707 ± 0.217 GPa, para así calibrar las simulaciones numéricas. De esta manera, el Estudio 3 demostró que la morfometría y propiedades mecánicas de los andamios TPMS pueden ser ajustadas

mediante la fracción en volumen, con el fin de asemejarlas a las características microestructurales y mecánicas del hueso trabecular.

Por último, en el Estudio 4 se caracterizaron mecánicamente 6 constructos TPMS para medir numéricamente su rigidez global y observar la transmisión de esfuerzos TPMS-hueso. Cada constructo estaba formado por un corte de hueso trabecular sano u osteoporótico y un andamio TPMS. Los cortes de hueso trabecular de 3 mm de tamaño fueron obtenidos a partir de las máscaras segmentadas originales de hueso trabecular y, posteriormente, fueron caracterizados morfológica y mecánicamente mediante modelos de elementos finitos. Mediante este estudio se pretendía evaluar la transmisión de esfuerzos y la rigidez del constructo en función de si la fracción en volumen de la región ósea era similar o distinta a la del andamio utilizado, es decir, hasta qué punto era relevante utilizar soluciones paciente-específicas. A partir de las simulaciones numéricas se pudo caracterizar el comportamiento anisótropo del hueso trabecular, al poseer ambos cortes una orientación mecánica preferente en la dirección principal x, donde las rigideces eran las más altas. Debido a que el módulo de elasticidad del PLA de las estructuras TPMS fabricadas era muy bajo (1.707 GPa) en comparación con el del espécimen de hueso trabecular sano (11.819 GPa), se consideró el uso de PLA reforzado con un 40 % de fibra de cáñamo (PLA40Cáñamo), cuyo módulo de elasticidad era 9.67 GPa. De esta manera, fue posible obtener los andamios TPMS AFM₁ y AFM₃ de fracciones en volumen 31 % y 40 %, respectivamente, con una rigidez a compresión cercana a la rigidez paciente-específica de la sección de hueso trabecular sano tomado. Además, del estudio anterior se había comprobado que estas mismas estructuras TPMS poseían excelentes características morfológicas. De esta manera, para el diseño del constructo TPMS-hueso se tuvieron en cuenta estas dos estructuras TPMS más el andamio AFM₁ de fracción en volumen de 10 %, para así evaluar si una densidad relativa por dejado del rango típico de hueso trabecular podía ser beneficiosa o no para la transmisión de esfuerzos. De este modo, mediante la caracterización mecánica por modelos de elementos finitos de los constructos TPMS-hueso, se ha demostrado que las tres estructuras TPMS son capaces de transmitir esfuerzos mecánicos al hueso, algo muy positivo para evitar el *stress shielding* y favorecer la osteointegración. Además, se ha podido comprobar que los 2 constructos formados por corte de hueso trabecular sano y por los andamios AFM₁ y AFM₃ con densidades relativas de 31 % y 40 %, respectivamente, poseen también una rigidez muy similar al corte de espécimen trabecular sano, siendo capaces de resistir cargas uniaxiales. De este modo, en el Estudio 4 se ha conseguido desarrollar dos andamios TPMS no solo con una morfometría y rigidez a compresión similares a la muestra de hueso trabecular sano, sino también capaces de transmitir esfuerzos mecánicos de la TPMS al hueso, reduciendo así el *stress shielding* y, en consecuencia, la reabsorción ósea.

De esta manera, los resultados de cada uno de los estudios realizados en esta Tesis de Máster han permitido lograr el objetivo final: dos sustitutos óseos TPMS paciente-específicos con rigideces a compresión y morfometrías óptimas, capaces de proporcionar un ambiente mecánico estable para la regeneración de hueso en defectos óseos de gran tamaño, favoreciendo así la osteointegración del sustituto óseo.

CAPÍTULO 9

DIRECCIONES FUTURAS

Este Trabajo Fin de Máster ha conseguido diseñar andamios TPMS con una morfometría y rigidez a compresión óptimos para utilizarse como sustitutos óseos en el tratamiento de defectos óseos de gran tamaño. Sin embargo, se han encontrado diferentes límites a la hora de realizar los estudios, que cubiertos, podrían reforzar las conclusiones y resultados obtenidos en esta Tesis de Máster.

En primer lugar, a lo largo de esta tesis se han aplicado únicamente ensayos a compresión uniaxiales a los andamios TPMS. Sin embargo, hay que tener en cuenta que el hueso *in vivo* experimenta cargas desde diferentes direcciones y en diferentes intensidades. De esta manera, además de realizar ensayos a compresión uniaxiales, sería necesario comprobar si la integridad estructural de los andamios TPMS se mantendría en otras condiciones mecánicas como en la aplicación de fuerzas cortantes o de momentos de flexión. Además, también sería necesario realizar simulaciones numéricas del daño, con el fin de detectar la presencia, localización y cuantificación del daño en la geometría de las estructuras TPMS. Esto es muy importante ya que la pérdida de integridad estructural de un implante puede conllevar la fricción de las zonas rotas con el tejido circundante produciendo partículas de desgaste y daños en el tejido o incluso, en situaciones críticas, la extracción del implante.

Por un segundo lado, los andamios TPMS seleccionados como posibles sustitutos óseos (AFM₁ y AFM₃ con fracciones en volumen de 31 % y 40 %, respectivamente) son específicos para un corte de 3 mm de una muestra determinada de hueso trabecular. Cabe destacar que la morfometría y las propiedades mecánicas pueden variar en función de la localización del corte y, en consecuencia, estos andamios TPMS podrían no poseer las características morfométricas y mecánicas necesarias para otra localización, ya que han sido específicamente diseñadas y acondicionadas a un corte de hueso determinado. De esta manera, sería necesario comprobar si las estructuras AFM₁ y AFM₃ con fracciones en volumen de 31 % y 40 % serían morfométrica y mecánicamente adecuadas para otras zonas de la muestra de espécimen sano. De la misma manera, pero suponiendo un impacto mayor, estos dos andamios TPMS son paciente-específicos por lo que podrían no acondicionarse a la morfometría y rigidez a compresión de una muestra de hueso trabecular sano proveniente de otro paciente. No obstante, ajustar las estructuras TPMS a otras muestras podría no ser una tarea tan tediosa, ya que, una vez obtenidas las características mecánicas de otro espécimen de hueso trabecular sano, se podría interpolar de la relación lineal densidad relativa - rigidez a compresión el valor necesario de fracción en volumen con el cual poder obtener un andamio AFM₁ o AFM₃ óptimo para esa muestra específica. A partir de ahí habría que valorar morfométrica y mecánicamente si esa estructura TPMS sería factible como sustituto óseo. En cualquier caso, hay que destacar que la metodología propuesta puede adaptarse a cualquier hueso, ya que esa flexibilidad paciente-específica era objetivo del trabajo.

Por último, como se ha mencionado en el Subcapítulo 2.1., el tejido óseo trabecular se clasifica como un material poroso, heterogéneo y anisótropo. Los diseños de los andamios TPMS desarrollados en este TFM fueron homogéneos, de manera que las propiedades eran uniformes a lo largo de la estructura, e isótropos (ortótropos con las mismas propiedades en

las 3 direcciones ortogonales), ya que los andamios no poseían propiedades mecánicas más altas en una orientación preferente, por lo que, para la optimización de las características morfométricas y mecánicas, sería necesario abordar estas propiedades inherentes del hueso en futuros diseños de andamios TPMS.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Florencio-Silva R, Sasso GR, *et al.* *Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells*. Biomed Res Int. 2015; 2015:421746. DOI: 10.1155/2015/421746.
- [2] Grabowski P. *Physiology of Bone*. Endocr Dev. 2015; 28:33-55. DOI: 10.1159/000380991.
- [3] Fuchs R.K., Warden S.J., *et al.* *2 - Bone anatomy, physiology and adaptation to mechanical loading*, Editor(s): Josep A. Planell, Serena M. Best, Damien Lacroix, Antonio Merolli, In Woodhead Publishing Series in Biomaterials, Bone Repair Biomaterials, Woodhead Publishing, 2009, Pages 25-68, ISBN 9781845693855. DOI: <https://doi.org/10.1533/9781845696610.1.25>.
- [4] 6.3. *Bone structure*, Oregon State University, <https://open.oregonstate.edu/aandp/chapter/6-3-bone-structure/>.
- [5] Sözen T, Özişik L, *et al.* *An overview and management of osteoporosis*. Eur J Rheumatol. 2017 Mar;4(1):46-56. DOI: 10.5152/eurjrheum.2016.048.
- [6] Söger-Samwald U, Dovjak P, *et al.* *Osteoporosis: Pathophysiology and therapeutic options*. EXCLI J. 2020 Jul 20; 19:1017-1037. DOI: 10.17179/excli2020-2591.
- [7] Xiao PL., Cui AY., *et al.* *Global, regional prevalence, and risk factors of osteoporosis according to the World Health Organization diagnostic criteria: a systematic review and meta-analysis*. Osteoporos Int 33; 2022; 2137–2153;. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00198-022-06454-3>
- [8] Kim JH, Park YS, *et al.* *Surgical treatment of severe osteoporosis including new concept of advanced severe osteoporosis*. Osteoporosis Sarcopenia, 2017 Dec; 3(4):164-169. DOI: 10.1016/j.afos.2017.11.006.
- [9] El Miedany, Y. *Bone Healing and Osteoporosis*. In: El Miedany, Y. (eds) *New Horizons in Osteoporosis Management*. Springer, Cham, 2020. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-87950-1_20.
- [10] Pavone V, Testa G, *et al.* *Pharmacological Therapy of Osteoporosis: A Systematic Current Review of Literature*. Front Pharmacol, 2017 Nov 7; 8:803. DOI: 10.3389/fphar.2017.00803.
- [11] Tile L, M. Cheung A. *Safety Considerations for Osteoporosis Therapies*. In: Leder, B., Wein, M. (eds) *Osteoporosis. Contemporary Endocrinology*. Humana, Cham, 2020. DOI: 10.1007/978-3-319-69287-6_24.
- [12] van Oostwaard M. *Osteoporosis and the Nature of Fragility Fracture: An Overview*. In: Hertz, K., Santy-Tomlinson, J. (eds) *Fragility Fracture Nursing. Perspectives in Nursing Management and Care for Older Adults*. Springer, Cham. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-76681-2_1.
- [13] Vidal L, Kamleitner C, *et al.* *Reconstruction of Large Skeletal Defects: Current Clinical Therapeutic Strategies and Future Directions Using 3D Printing*. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2020; 8; pp.61. DOI: 10.3389/fbioe.2020.00061.

- [14] Tsang SJ, Ferreira N *et al.* *The reconstruction of critical bone loss: the holy grail of orthopaedics.* Bone Joint Res, 2022 Jun; 11(6):409-412. DOI: 10.1302/2046-3758.116.BJR-2022-0186.
- [15] Zhang J , Chen X, *et al.* *Design of a biomimetic graded TPMS scaffold with quantitatively adjustable pore size.* Materials & Design (IF 8.4) Pub Date: 2022-04-20. DOI: 10.1016/j.matdes.2022.110665.
- [16] Zhang T, Wei Q, *et al.* *Three-dimensional-printed individualized porous implants: A new "implant-bone" interface fusion concept for large bone defect treatment.* Bioact Mater, 2021 Apr 6; 6(11):3659-3670. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2021.03.030.
- [17] Lu Y, Zhao W, *et al.* *The anisotropic elastic behavior of the widely-used triply-periodic minimal surface based scaffolds.* J Mech Behav Biomed Mater, 2019 Nov; 99:56-65. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2019.07.012.
- [18] So E, Mandas VH, *et al.* *Large Osseous Defect Reconstruction Using a Custom Three-Dimensional Printed Titanium Truss Implant.* J Foot Ankle Surg, 2018 Jan-Feb; 57(1):196-204. DOI: 10.1053/j.jfas.2017.07.019.
- [19] Fallah A, Altunbek M, *et al.* *3D printed scaffold design for bone defects with improved mechanical and biological properties.* Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials; Volume 134; 2022; 105418. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2022.105418>.
- [20] Wang W, Yeung KWK. *Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review.* Bioact Mater, 2017 Jun 7; 2(4):224-247. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2017.05.007.
- [21] Maevskaia E, Guerrero J, *et al.* *Triply Periodic Minimal Surface-Based Scaffolds for Bone Tissue Engineering: A Mechanical, In Vitro and In Vivo Study.* Tissue Engineering Part A, 2023. DOI: <http://doi.org/10.1089/ten.tea.2023.0033>.
- [22] Castro APG, Ruben RB, *et al.* *Numerical and experimental evaluation of TPMS Gyroid scaffolds for bone tissue engineering.* Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering, 2019. DOI: 10.1080/10255842.2019.1569638.
- [23] Maconachie T, Leary M, *et al.* *SLM lattice structures: Properties, performance, applications, and challenges.* Materials & Design, Volume 183; 2019; 108137. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2019.108137>.
- [24] Zhao M, Li X, *et al.* *TPMS-based interpenetrating lattice structures: Design, mechanical properties and multiscale optimization.* International Journal of Mechanical Sciences, Volume 244; 2023; 108092. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijmecsci.2022.108092>.
- [25] Belda González R. *Mechanical and morphometric characterization of cancellous bone.* Tesis doctoral, UPV, Valencia (2020). <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/149376>.
- [26] Yang X, Yang Q, *et al.* *Effect of volume fraction and unit cell size on manufacturability and compressive behaviors of Ni-Ti triply periodic minimal surface lattices.* Additive Manufacturing, Volume 54; 2022; 102737. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addma.2022.102737>.
- [27] Be'ery-Lipperman M, Gefen A. *A method of quantification of stress shielding in the proximal femur using hierarchical computational modeling.* Comput Methods Biomech Biomed Engin, 2006 Feb; 9(1):35-44. DOI: 10.1080/10255840600564959.

- [28] Soltani-Tehrani A, Lee S, *et al.* *Effects of Unit Cell Size on the Mechanical Performance of Additive Manufactured Lattice Structures*. Conference Solid Freeform fabrications, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.26153/tsw/17477>.
- [29] Wawrzyniak A, Balawender K. *Structural and Metabolic Changes in Bone*. *Animals (Basel)*, 2022 Jul 31; 12(15):1946. DOI: 10.3390/ani12151946.
- [30] Oftadeh R, Perez-Viloria M, *et al.* *Biomechanics and mechanobiology of trabecular bone: a review*. *J Biomech Eng*, 2015 Jan;1 37(1):0108021–01080215. DOI: 10.1115/1.4029176.
- [31] Morgan EF, Unnikrisnan GU, *et al.* *Bone Mechanical Properties in Healthy and Diseased States*. *Annu Rev Biomed Eng*, 2018 Jun 4; 20:119-143. DOI: 10.1146/annurev-bioeng-062117-121139.
- [32] Keaveny TM, Morgan EF, *et al.* *Biomechanics of trabecular bone*. *Annu Rev Biomed Eng*, 2001; 3:307-33. DOI: 10.1146/annurev.bioeng.3.1.307.
- [33] *Significado Epífisis*, Medline Plus, <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000972.htm#:~:text=Una%20ep%C3%ADfisis%20es%20una%20zona,el%20hueso%20a%C3%BAn%20est%C3%A1%20creciendo>.
- [34] *Significado Metáfisis*, Clínica Universidad de Navarra, <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/metafisis#:~:text=f.,por%20el%20cart%C3%ADlago%20de%20crecimiento>.
- [35] *Significado Hematopoyesis*, Elsevier, <https://www.elsevier.com/es-es/connect/medicina/hematopoyesis-claves-de-la-generacion-de-todas-las-celulas-sanguineas>.
- [36] Burghardt AJ, Krug R, *et al.* *Chapter 55 - High-Resolution Imaging Techniques for Bone Quality Assessment*. Editor(s): David Feldman. *Vitamin D (Fourth Edition)*, Academic Press; 2018; Pages 1007-1041. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809965-0.00055-0>.
- [37] Oftadeh R, Perez-Viloria M, *et al.* *Biomechanics and mechanobiology of trabecular bone: a review*. *J Biomech Eng*, 2015 Jan; 137(1):0108021–01080215. DOI: 10.1115/1.4029176.
- [38] Demontiero O, Vidal C, *et al.* *Aging and bone loss: new insights for the clinician*. *Ther Adv Musculoskelet Dis*, 2012 Apr; 4(2):61-76. DOI: 10.1177/1759720X11430858.
- [39] Hansen JT, *Osteoporosis*. Netter Anatomía Clínica, Tercera Edición, 2014; Capítulo 2: Dorso, página 54. ISBN: 9788445826119
- [40] Mulvihill BM, McNamara LM, *et al.* *Loss of trabeculae by mechano-biological means may explain rapid bone loss in osteoporosis*. *J R Soc Interface*, 2008 Oct 6; 5(27):1243-53. DOI: 10.1098/rsif.2007.1341.
- [41] *Significado apoptosis*, National Human Genome Research Institute, <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Apoptosis#:~:text=La%20apoptosis%20es%20el%20proceso,quando%20se%20desarro/lla%20una%20mano>.
- [42] Cole JH, van der Meulen MCH. *Biomechanics of Bone*. *Contemporary Endocrinology, Humana*, Cham, 2020. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-69287-6_10.
- [43] Tu KN, Lie JD, *et al.* *Osteoporosis: A Review of Treatment Options*. *P T*. 2018 Feb; 43(2):92-104.

- [44] Lorentzon M. *Treating osteoporosis to prevent fractures: current concepts and future developments*. J Intern Med, 2019 Apr; 285(4):381-394. DOI: 10.1111/joim.12873.
- [45] Santora AC, Sharma A. *Bisphosphonates: Mechanisms of Action and Role in Osteoporosis Therapy*. Osteoporosis. Contemporary Endocrinology. Humana, Cham, 2020. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-69287-6_14.
- [46] Conceição C, Completo A, et al. *Altering the course of fracture healing monitoring*. Biomedical Engineering Advances, Volume 5; 2023; 100068. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bea.2022.100068>.
- [47] Huang YZ, Xie HQ, et al. *Scaffolds in Bone Tissue Engineering: Research Progress and Current Applications*. Encyclopedia of Bone Biology, Academic Press, 2020; Pages 204-215; ISBN 9780128140826. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.11205-X>.
- [48] Saul D, Khosla S. *Fracture Healing in the Setting of Endocrine Diseases, Aging, and Cellular Senescence*. Endocr Rev, 2022 Nov 25; 43(6):984-1002. DOI: 10.1210/endrev/bnac008.
- [49] Xue N, Ding X, et al. *Bone Tissue Engineering in the Treatment of Bone Defects*. Pharmaceuticals (Basel), 2022 Jul 17; 15(7):879. DOI: 10.3390/ph15070879.
- [50] Summers S, Krkovic M. *Bone transport with magnetic intramedullary nails in long bone defects*. Eur J Orthop Surg Traumatol, 2021; 31; 1243–1252. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00590-020-02854-5>.
- [51] Norris BL, Vanderkarr M, et al. *Treatments, cost and healthcare utilization of patients with segmental bone defects*. Injury, Volume 52, Issue 10, 2021, Pages 2935-2940, <https://doi.org/10.1016/j.injury.2021.01.016>.
- [52] Kim T, See CW, et al. *Orthopedic implants and devices for bone fractures and defects: Past, present and perspective*. Engineered Regeneration, Volume 1, 2020, Pages 6-18. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.engreg.2020.05.003>.
- [53] Kiernan C, Knuth C, et al. *Chapter 6 - Endochondral Ossification: Recapitulating Bone Development for Bone Defect Repair*. Developmental Biology and Musculoskeletal Tissue Engineering, Academic Press, 2018, Pages 125-148. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811467-4.00006-1>.
- [54] Papakostidis C, Giannoudis PV. *Reconstruction of infected long bone defects: Issues and Challenges*. Injury, Volume 54, Issue 3, 2023, Pages 807-810. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.injury.2023.01.052>.
- [55] Berner A, Reichert JC, et al. *Treatment of long bone defects and non-unions: from research to clinical practice*. Cell Tissue Res, 2012 Mar; 347(3):501-19. DOI: 10.1007/s00441-011-1184-8.
- [56] *Significado fractura segmentaria*, Brigham and Women's Hospital, <https://healthlibrary.brighamandwomens.org/Spanish/RelatedItems/85,p04012#:~:text=Fractura%20segmentaria.,de%20hueso%20que%20queda%20separado>.
- [57] Significado osteoinducción y osteoconducción, Avances en Periodoncia e Implantología Oral, https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-65852012000300003#:~:text=Osteoinducci%C3%B3n%3A%20Es%20un%20proceso%20que,diferenciarse%20en%20condroblastos%20y%20osteoblastos.

- [58] Schmidt AH. *Autologous bone graft: Is it still the gold standard?* Injury, 2021 Jun; 52 Suppl 2:S18-S22. DOI: 10.1016/j.injury.2021.01.043.
- [59] Dong Z, Zhao X. *Application of TPMS structure in bone regeneration, Engineered Regeneration.* Volume 2, 2021, pages 154-162. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.engreg.2021.09.004>.
- [60] Zhu J, Zou S, et al. *Additively Manufactured Scaffolds with Optimized Thickness Based on Triply Periodic Minimal Surface.* Materials (Basel), 2022 Oct 12; 15(20):7084 DOI: 10.3390/ma15207084.
- [61] Karaman D, Ghahramanzadeh Asl H. *The effects of sheet and network solid structures of similar TPMS scaffold architectures on permeability, wall shear stress, and velocity: A CFD analysis.* Med Eng Phys, 2023 Aug; 118:104024. DOI: 10.1016/j.medengphy.2023.104024.
- [62] Feng J, Fu J, et al. *Triply periodic minimal surface (TPMS) porous structures: from multi-scale design, precise additive manufacturing to multidisciplinary applications.* Int. J. Extrem. Manuf. 4 022001, 2022. DOI: 10.1088/2631-7990/ac5be6.
- [63] Belda González R, Megías R, et al. *Estudio del fallo a compresión en estructuras triplemente periódicas con mínima superficie obtenidas por fabricación aditiva.* Revista española de mecánica de fractura, 2022; ISSN-e 2792-4246; Nº 4, páginas 159-164.
- [64] Kapfer SC, Hyde ST, et al. *Minimal surface scaffold designs for tissue engineering.* Biomaterials, 2011 Oct; 32(29):6875-82. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.06.012.
- [65] Belda R, Megías R, et al. *Numerical analysis of the influence of triply periodic minimal surface structures morphometry on the mechanical response.* Comput Methods Programs Biomed. 2023 Mar; 230:107342. DOI: 10.1016/j.cmpb.2023.107342.
- [66] Tassani S, Korfiatis V et al. *Influence of segmentation on micro-CT images of trabecular bone.* Journal of Microscopy, 2014; 256: 75-81. DOI: <https://doi.org/10.1111/jmi.12159>.
- [67] Alberich Bayarri A. *In vivo morphometric and mechanical characterization of trabecular bone from high resolution magnetic resonance imaging.* Tesis doctoral, UPV, Valencia (2010). DOI: <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/8981>.
- [68] *Área superficial*, Documentación BoneJ, <https://imagej.net/plugins/bonej>.
- [69] *Espesor*, Documentación BoneJ, <https://bonej.org/thickness>.
- [70] *Grado de anisotropía*, Documentación BoneJ, [https://bonej.org/anisotropy#:~:text=Degree%20of%20anisotropy%20\(DA\)%20is,MIL%20method%20for%20determining%20anisotropy](https://bonej.org/anisotropy#:~:text=Degree%20of%20anisotropy%20(DA)%20is,MIL%20method%20for%20determining%20anisotropy).
- [71] *Dimensión fractal*, Documentación BoneJ, <https://bonej.org/fractal>.
- [72] *Densidad conectiva*, ScienceDirect, <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/connectivity-density>.
- [73] Hildebrand T, Laib A, et al. *Direct Three-Dimensional Morphometric Analysis of Human Cancellous Bone: Microstructural Data from Spine, Femur, Iliac Crest, and Calcaneus.* Journal of Bone and Mineral Research, 2009; Volume 14; Issue 7; pages 1167-1174. DOI: <https://doi.org/10.1359/jbmr.1999.14.7.1167>.

- [74] Frank M, Reisinger AG, et al. *Effects of Osteoporosis on Bone Morphometry and Material Properties of Individual Human Trabeculae in the Femoral Head*. JBMR Plus, 2021 May 4; 5(6):e10503. DOI: 10.1002/jbm4.10503.
- [75] Kironde E, Sekimpi P, et al. *Prevalence and patterns of traumatic bone loss following open long bone fractures at Mulago Hospital*. OTA Int, 2019 Mar 12; 2(1):e015. DOI: 10.1097/OI9.000000000000015.
- [76] Jaber M, Poh PSP, et al. *PCL strut-like scaffolds appear superior to gyroid in terms of bone regeneration within a long bone large defect: An in silico study*. Front Bioeng Biotechnol, 2022 Sep 23; 10:995266. DOI: 10.3389/fbioe.2022.995266.
- [77] Tilton M, Borjali A, et al. *On structure and mechanics of biomimetic meta-biomaterials fabricated via metal additive manufacturing*. Materials and Design, 2021 March; Volume 201; 109498. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2021.109498>.
- [78] Torres-Sánchez C, Borgman J, et al. *Comparison of SLM cpTi sheet-TPMS and trabecular-like strut-based scaffolds for tissue engineering*. Advanced Engineering Materials 24(1), 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/adem.202100527>.
- [79] Manoukian OS, Sardashti N, et al. *Biomaterials for Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. Encyclopedia of Biomedical Engineering, 2019; pages 462-482. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64098-9>.
- [80] Fallah A, Altunbek M, et al. *3D printed scaffold design for bone defects with improved mechanical and biological properties*. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 2022 October; Volume 134, 105418. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2022.105418>.
- [81] Beheshtizadeh N, Azami M, et al. *Applying extrusion-based 3D printing technique accelerates fabricating complex biphasic calcium phosphate-based scaffolds for bone tissue regeneration*. J Adv Res, 2022 Sep; 40:69-94. DOI: 10.1016/j.jare.2021.12.012.
- [82] Purnomo, Setyarini PH, et al. *Potential Natural Fiber-Reinforced Composite for Biomedical Application*. Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng., 2019; 494 012018. DOI: 10.1088/1757-899X/494/1/012018.
- [83] Aruan Efendy MG, Pickering KL. *Comparison of strength and Young modulus of aligned discontinuous fibre PLA composites obtained experimentally and from theoretical prediction models*. Composite Structures, 2019 January; Volume 208; pages 556-573. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2018.10.057>.

DOCUMENTO II: ANEXOS

**DISEÑO DE UN SUSTITUTO ÓSEO DE
ESTRUCTURA TRIPLEMENTE
PERIÓDICA PARA EL TRATAMIENTO
DE DEFECTOS ÓSEOS DE GRANDES
DIMENSIONES**

AUTORA

ANDREA FRESQUET MONTER

TUTORES

RICARDO BELDA GONZÁLEZ

ANA VERCHER-MARTÍNEZ

CURSO ACADÉMICO 2022/23

ÍNDICE

DOCUMENTO II: ANEXOS

LISTA DE TABLAS	II
ANEXO A	1
RESULTADOS MECÁNICOS DE LAS ESTRUCTURAS TPMS EN EL ESTUDIO 3.....	1

LISTA DE TABLAS

Tabla A.1. Resultados mecánicos experimentales de cada estructura TPMS fabricada.....	1
Tabla A.2. Resultados mecánicos numéricos previos a la calibración	2
Tabla A.3. Resultados calibración ensayos numéricos	3

ANEXO A

RESULTADOS MECÁNICOS DE LAS ESTRUCTURAS TPMS EN EL ESTUDIO 3

TABLA A.1. RESULTADOS MECÁNICOS EXPERIMENTALES DE CADA ESTRUCTURA TPMS FABRICADA

Estructura TPMS	Tensión de fallo aparente (σ_u) [MPa]	Deformación de fallo aparente (ϵ_u) [%]	Rigidez aparente (E_{app}) [MPa]
TPMS Giroide 10% P1	0.957	4.060%	31.6774
TPMS Giroide 10% P2	0.982	4.380%	32.512
TPMS Giroide 10% P3	0.800	4.610%	32.4175
Promedio	0.913 ± 0.099	4.350 ± 0.276	32.202 ± 0.457
TPMS Giroide 31% P1	6.718	3.960%	194.8172
TPMS Giroide 31% P2	6.160	3.590%	197.2867
TPMS Giroide 31% P3	5.370	4.720%	192.0792
TPMS Giroide 31% P4	5.006	4.300%	189.9557
Promedio	5.813 ± 0.772	4.143 ± 0.482	193.535 ± 3.196
TPMS Giroide 40% P1	8.908	4.360%	275.2659
TPMS Giroide 40% P2	7.912	3.910%	265.0502
TPMS Giroide 40% P3	8.382	4.120%	285.6808
TPMS Giroide 40% P4	8.384	3.890%	281.97
Promedio	8.397 ± 0.407	4.070 ± 0.220	276.992 ± 9.053
TPMS Giroide 60% P1	18.674	4.490%	610.3304
TPMS Giroide 60% P2	20.454	5.660%	659.3724
TPMS Giroide 60% P3	19.385	4.090%	643.1931
Promedio	19.505 ± 0.896	4.747 ± 0.816	637.632 ± 24.989
TPMS AFM ₁ 31% P1	3.340	3.700%	110.523

TPMS AFM ₁ 40% P1	7.580	4.880%	239.343
TPMS AFM ₁ 60% P1	14.701	3.440%	512.3644
TPMS AFM ₃ 31% P1	5.520	4.250%	199.614
TPMS AFM ₃ 31% P2	5.745	4.930%	196.2775
TPMS AFM ₃ 31% P3	5.786	5.140%	200.2875
Promedio	5.684 ± 0.143	4.773 ± 0.465	198.726 ± 2.147
TPMS AFM ₃ 40% P1	9.859	4.860%	345.7762
TPMS AFM ₃ 40% P2	11.165	4.850%	369.0243
Promedio	10.512 ± 0.923	4.855 ± 0.007	357.400 ± 16.439
TPMS AFM ₃ 60% P1	21.479	4.960%	745.105
TPMS AFM ₃ 60% P2	21.872	14.140%	666.675
TPMS AFM ₃ 60% P3	20.308	4.610%	673.675
Promedio	21.220 ± 0.814	7.903 ± 5.404	695.086 ± 43.467

TABLA A.2. RESULTADOS MECÁNICOS NUMÉRICOS PREVIOS A LA CALIBRACIÓN

Estructura TPMS	Tamaño característico [mm]	Número de nodos [-]	Rigidez numérica en x [MPa]	Rigidez numérica en y [MPa]	Rigidez numérica en z [MPa]
TPMS Giroide 10%	0.606	454808	218.018	218.037	217.985
TPMS Giroide 31%	0.912	508836	1025.881	1025.530	1025.585
TPMS Giroide 40%	0.877	562795	1550.569	1550.727	1550.476
TPMS Giroide 60%	0.875	722598	3229.366	3229.500	3229.453
TPMS AFM ₁ 10%	0.428	1299967	108.801	108.737	108.822
TPMS AFM ₁ 31%	0.773	751828	982.103	981.682	982.110
TPMS AFM ₁ 40%	0.821	790008	1606.922	1606.074	1606.321
TPMS AFM ₁ 60%	0.845	869559	3427.487	3427.120	3427.472
TPMS AFM ₂ 10%	0.832	302073	279.266	279.525	279.319
TPMS AFM ₂ 31%	0.885	448285	1354.221	1353.883	1354.302
TPMS AFM ₂ 40%	0.894	492085	2046.903	2046.842	2046.953
TPMS AFM ₂ 60%	0.887	734827	3875.203	3875.630	3876.066
TPMS AFM ₃ 10%	0.456	1319340	257.930	257.998	258.077

TPMS AFM ₃ 31%	0.899	619995	12587.375	1287.57883	1288.322
TPMS AFM ₃ 40%	0.984	630461	1954.445	1955.20436	1955.990
TPMS AFM ₃ 60%	0.983	720700	3984.367	3984.72033	3985.500
Promedio	0.81 ± 0.17	701760.31 ± 280100.25	-	-	-

TABLA A.3. RESULTADOS CALIBRACIÓN ENSAYOS NUMÉRICOS

Estructura TPMS	Factor de calibración [-]	Módulo de Young PLA [MPa]
TPMS Giroide 10% P1	0.145	1.453
TPMS Giroide 10% P2	0.149	1.491
TPMS Giroide 10% P3	0.149	1.487
TPMS Giroide 31% P1	0.190	1.900
TPMS Giroide 31% P2	0.192	1.924
TPMS Giroide 31% P3	0.187	1.873
TPMS Giroide 31% P4	0.185	1.852
TPMS Giroide 40% P1	0.178	1.775
TPMS Giroide 40% P2	0.171	1.709
TPMS Giroide 40% P3	0.184	1.843
TPMS Giroide 40% P4	0.182	1.819
TPMS Giroide 60% P1	0.189	1.890
TPMS Giroide 60% P2	0.204	2.042
TPMS Giroide 60% P3	0.199	1.992
TPMS AFM ₁ 31% P1	0.113	1.125
TPMS AFM ₁ 40% P1	0.149	1.490
TPMS AFM ₁ 60% P1	0.149	1.495
TPMS AFM ₃ 31% P1	0.155	1.549
TPMS AFM ₃ 31%	0.152	1.524

P2		
TPMS AFM ₃ 31% P3	0.155	1.555
TPMS AFM ₃ 40% P1	0.177	1.768
TPMS AFM ₃ 40% P2	0.189	1.887
TPMS AFM ₃ 60% P1	0.187	1.870
TPMS AFM ₃ 60% P2	0.167	1.672
TPMS AFM ₃ 60% P3	0.169	1.690
Promedio	0.171	1.707

DOCUMENTO III: PRESUPUESTO

**DISEÑO DE UN SUSTITUTO ÓSEO DE
ESTRUCTURA TRIPLEMENTE
PERIÓDICA PARA EL TRATAMIENTO
DE DEFECTOS ÓSEOS DE GRANDES
DIMENSIONES**

AUTORA

ANDREA FRESQUET MONTER

TUTORES

RICARDO BELDA GONZÁLEZ

ANA VERCHER-MARTÍNEZ

CURSO ACADÉMICO 2022/23

ÍNDICE

DOCUMENTO III: PRESUPUESTO

LISTA DE TABLAS	II
CAPÍTULO 1.....	1
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 2.....	2
ESTIMACIÓN PRESUPUESTO EQUIPOS TÉCNICOS	2
CAPÍTULO 3.....	3
ESTIMACIÓN PRESUPUESTO LICENCIAS DE PROGRAMAS	3
CAPÍTULO 4.....	4
ESTIMACIÓN PRESUPUESTO PERSONAL	4
CAPÍTULO 5.....	5
ESTIMACIÓN DE LOS COSTES TOTALES.....	5

LISTA DE TABLAS

Tabla 2.1. Estimación de los costes asociados al equipo técnico	2
Tabla 3.1. Estimación de los costes asociados al uso de licencias de software.....	3
Tabla 4.1. Estimación de los costes asociados al personal	4
Tabla 5.1. Estimación total de los costes de ejecución.....	5
Tabla 5.2. Estimación del coste total de este TFM	5

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

Los estudios realizados en este Trabajo Fin de Máster fueron desempeñados con la colaboración del Instituto de Ingeniería Mecánica y Biomecánica de la Universidad Politécnica de Valencia dentro del marco de investigación del proyecto FROSTEO.

El presupuesto aproximado de los gastos de este TFM han sido divididos en: equipo técnico (Capítulo 2), en el que se ha hecho un recuento de gastos por utilización de diferentes máquinas técnicas, como ordenadores, la impresora 3D o la máquina de ensayos mecánicos servohidráulica; licencias de programas (Capítulo 3), en el que se ha hecho una estimación de los costes asociados al uso de licencias anuales de diferentes programas utilizados durante la realización de los estudios; y personal (Capítulo 4), en el que se ha tenido en cuenta a dos investigadores postdoctorales y a una recién licenciada en Ingeniería Biomédica. Se ha estimado que el sueldo bruto de un investigador postdoctoral equivale a 3500 €/mes, es decir, una media de 20 €/h teniendo en cuenta que un mes tiene 22 días laborables. Para la recién licenciada en ingeniería se ha estimado un sueldo de 1200 € netos al mes, lo que equivaldría a aproximadamente 7 €/h. Por último, añadir que el coste asociado a la utilización de equipos técnicos y de licencias de programas se ha estimado mediante el número de meses en los que se han empleado estos recursos para la ejecución de las actividades correspondientes.

La realización de los 4 estudios que conforman esta Tesis de Máster ha llevado alrededor de 400 horas, dedicando aproximadamente 3 horas al día durante 22 días al mes desde febrero a julio del 2023 (6 meses). Además, a la redacción de los documentos de este proyecto se le ha dedicado un promedio de 120 horas, empleando una media de 4 horas al día durante un mes completo de 30 días. De esta manera, se ha estimado un total de 520 horas dedicadas a la realización y redacción de la Tesis de Máster. Por parte de los investigadores postdoctorales, se ha estimado una dedicación de 2-3 horas semanales y de 1 hora mensual en el transcurso de los 6 meses de realización del TFM, equivaliendo a una media estimada de 52 horas y 6 horas totales, respectivamente para cada investigador postdoctoral.

Teniendo en cuenta un gasto general del 13 %, un beneficio industrial del 6 % y un IVA del 21 %, el coste total estimado de este Trabajo Fin de Máster asciende a 14518.12€.

CAPÍTULO 2

ESTIMACIÓN PRESUPUESTO EQUIPOS TÉCNICOS

Para la valoración de los costes asociados al uso de equipos técnicos se ha estimado el tiempo de vida (en meses) y los costes por unidad de cada uno de los equipos empleados. El uso de éstos se ha estimado como el número de meses en el que se han utilizado dichos recursos. El presupuesto total de equipos técnicos estimado asciende a 1199.40 € y se resume en la Tabla 2.1.

TABLA 2.1. ESTIMACIÓN DE LOS COSTES ASOCIADOS AL EQUIPO TÉCNICO

Equipo	Tiempo de vida [meses]	Número de unidades [-]	Coste por unidad [€]	Tiempo de uso [meses]	Coste total [€]
Ordenador de mesa	96	3	600	4	75
Portátil	72	1	550	6	45.83
Máquina de impresión 3D Epsilon W50	60	1	12698.95	3	634.95
Filamento PLA	18	1	26.95	Uso único	26.95
Máquina de ensayos mecánicos Instron 8801	180	1	60000	1	333.33
Lente focal DIC HF7518V-2	180	1	15000	1	83.33
Coste total equipo técnico					1199.40

CAPÍTULO 3

ESTIMACIÓN PRESUPUESTO LICENCIAS DE PROGRAMAS

Para la valoración de los costes asociados al uso de licencias de programas, se ha tenido en cuenta el precio de licencia anual de cada programa junto con el tiempo de uso de dichas licencias medido en meses. La estimación de los gastos por uso de licencias de software asciende a 4083.33 € y viene resumida en la Tabla 3.1.

TABLA 3.1. ESTIMACIÓN DE LOS COSTES ASOCIADOS AL USO DE LICENCIAS DE SOFTWARE

Software	Coste por año [€]	Tiempo de uso [meses]	Coste total [€]
ScanIP	15000	3	3750
BoneJ	Gratuito	3	0
MATLAB	Gratuito*	1	0
Abaqus	2000	2	333.33
MSLattice	Gratuito	1	0
BCN3D Stratos	Gratuito	3	0
VIC-2D Digital Image Correlation	Gratuito**	1	0
Coste total uso de licencias de programación			4083.33

*Se ha utilizado la licencia académica gratuita que proporciona la UPV. **Incluido con la adquisición de la lente focal de alta definición DIC HF7518V-2

CAPÍTULO 4

ESTIMACIÓN PRESUPUESTO PERSONAL

Por último, se ha realizado la estimación de los costes asociados al personal. Como se ha mencionado en el Capítulo 1, estos comprenden los gastos asociados a dos investigadores postdoctorales y a una recién licenciada en Ingeniería Biomédica. Se ha estimado un sueldo neto por hora de 20 €/h para los investigadores postdoctorales y de 7 €/h netos para la licenciada en ingeniería. Con una valoración de dedicación a este TFM en horas con un total de 52 horas, 6 horas y 520 horas para el investigador postdoctoral, la investigadora postdoctoral y la licenciada, respectivamente, se ha estimado un coste total de 4800 €. Los gastos estimados se resumen en la tabla 4.1.

TABLA 4.1. ESTIMACIÓN DE LOS COSTES ASOCIADOS AL PERSONAL

Personal	Salario [€/h]	Tiempo [horas]	Coste total [€]
Investigador postdoctoral	20	52	1040
Investigadora postdoctoral	20	6	120
Estudiante licenciada	7	520	3640
Coste total personal			4800

CAPÍTULO 5

ESTIMACIÓN DE LOS COSTES TOTALES

El coste total estimado por los gastos asociados a los equipos técnicos, al uso de licencias de programación y al personal, denominado coste de ejecución es de 10082.73 € y viene resumido en la Tabla 5.1.

TABLA 5.1. ESTIMACIÓN TOTAL DE LOS COSTES DE EJECUCIÓN

Coste	€
Coste total equipo técnico	1199.40
Coste total uso de licencias de programación	4083.33
Coste total personal	4800
Gastos ejecución	10082.73

A estos gastos de ejecución también hay que añadirles los gastos generales de agua, luz o calefacción, entre otros, además del beneficio industrial. Se han estimado unos gastos generales del 13 % y un beneficio industrial del 6 % respecto de los gastos de ejecución. Estos costes junto con los de ejecución suponen 11998.45 € que, al aplicarles el IVA del 21 %, finalmente ascienden a 14518.12 €. Estos datos vienen resumidos en la Tabla 5.2.

TABLA 5.2. ESTIMACIÓN DEL COSTE TOTAL DE ESTE TFM

Coste	€
Gastos de ejecución	10082.73
Gastos generales (13 %)	1310.76
Beneficio Industrial (6 %)	604.96
Coste total (sin IVA)	11998.45
IVA (21 %)	2519.67
Coste total (CON IVA)	14518.12

