



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA

---

# Monitorización ultrasónica de tejidos odontológicos.

Julio de 2021

---

Autor: Josep Rodríguez Sendra

Director: D. Francisco Camarena Femenía  
D. Rubén Picó Vila  
D. Joan Faus López



---

*"De vez en cuando vale la pena salirse del camino, sumergirse en un bosque. Encontrarás cosas que nunca habías visto."*

*" Leave the beaten track occasionally and dive into the woods. Every time you do so you will be certain to find something that you have never seen before"*

— Alexander Graham Bell





# Agraïments

En primer lloc, m'agradaria agrair a Paco Camarena, qui va sembrar la llavor de fer una tesi doctoral en mi per allà el 2017, qui ha sigut el meu "Boss" durant tots aquests anys. Gràcies per tot el suport i per posar tots els mitjans i coneixements possibles a la meua disposició. Com no, agrair als meus directors de tesis, Paco Camarena, Rubén Picó y Joan Faus. Per guiar-me en aquest camí i per contribuir a la meua formació com a doctor de manera determinant. Tots quatre sabem que tenim una paella pendent.

Com no, recordar als companys del laboratori de Gandia. Álvaro, Didac, Jorge, Andrés, Ivan... Eixos moments en el Campus de Gandia i eixes llargues xarrades formen part d'aquest doctorat, gràcies.

Per descomptat, agrair al laboratori d'ultrasons del i3M el UMIL. Ha sigut un honor formar part d'ell i veure com creixia dia a dia. Paco, Noé, Jandri, Alicia, Diego, Sergio, Juanjo, Miguel, Álvaro, Andreu, Rafa, Andrei, Diana, Consuelo, Nath, Irene, Enrique, Romain... Segur que estic deixant-me a algú. Gràcies per col.laborar d'alguna manera en la meua tesi. Suport intel.lectual, suport moral, rialles, congressos compartits, viatges, sopars i algun que altre café. Gràcies a Noé Jiménez per la col.laboració rebuda en les publicacions realitzades en aquesta tesi ha sigut una sort i un plaer rebre cadascun dels teus consells.

Als meus amics Carlets, Victor, Casildo, Carcaixent, Joan, Juaki i Lluís. Per aguantar-me en paelles i sopars parlant de temes relacionats amb la tesi.

---

A SMK, Carles, Bolu, Pau. Vosaltres formeu part d'aquesta tesi, els primers anys de tesi compaginat bolos de Smoking Souls amb la feina de laboratori mai els oblidaré.

A la meua mare. Gracies per ensenyar-me a mantenir-me ferm davant de qual-sevol adversitat. Al meu germà Rafa a Mar i les meues nebodes Elena i Carla, sou un bufit d'aire fresc i d'alegria.

A Elvira per aguantar-me per donarme un punt de fuga i fer que cada dia siga millor que l'anterior.

# Resumen

El uso de técnicas ultrasónicas como herramientas de diagnóstico está ampliamente extendido en especialidades médicas como la reumatología, la ginecología o la cardiología entre otras. En el campo de la odontología, en cambio, el uso de los ultrasonidos se ha desarrollado en otro tipo de dispositivos, como son las puntas vibrantes para raspado dental o a bisturís ultrasónicos. Existen trabajos científicos desde la década de 1960 sobre la utilización de ultrasonidos para caracterización de tejidos dentarios. A pesar de ello, la literatura científica actual sobre estas aplicaciones es muy escasa (o similar). La propagación de los ultrasonidos en los tejidos biológicos permite caracterizar las propiedades acústicas y mecánicas de forma no destructiva. Esta cualidad tiene un gran potencial para monitorizar procesos biológicos dentarios. En esta tesis doctoral el objeto de estudio se centra en la monitorización ultrasónica de dos aplicaciones odontológicas: la desmineralización dental y la regeneración ósea guiada.

La desmineralización es un proceso de pérdida de minerales en los tejidos duros dentales que afecta gravemente a la salud de los pacientes, ya que disminuye la resistencia del diente, genera complicaciones al alterar la estructura oclusal y causa hipersensibilidad y problemas pulpares. es producida por procesos patológicos como la erosión o la caries, o quirúrgicos como el grabado dental. Debido a la complejidad de los procesos naturales de desmineralización, es aconsejable, para su estudio, proporcionar pruebas cuantitativas y estandarizadas en condiciones controladas de laboratorio. Las técnicas ultrasónicas proporcionan información mecánica localizada del tejido, la cual se relaciona con su grado de desmineralización, además de ser técnicas no destructivas y de rápida aplicación, por lo que suponen una herramienta óptima para este fin.

---

Por otra parte, los tejidos óseos odontológicos son vitales en la supervivencia de los implantes dentales. Para una correcta colocación de implantes dentales, se precisa de un volumen óseo suficiente con el objetivo de asegurar su estabilidad y durabilidad. La pérdida de un diente afecta directamente a la calidad y al grosor del hueso maxilar. En los casos en que la cantidad de hueso no es suficiente para soportar un implante, los odontólogos realizan una operación de regeneración ósea. Consiste en el uso de injertos óseos que sirvan de andamiaje sobre el cual se regenerará hueso nuevo. Para obtener una regeneración completa es necesario esperar entre 6 y 9 meses. Además, durante la regeneración pueden aparecer distintas problemáticas, como el crecimiento del tejido blando o un fallo de osteointegración. Actualmente, los odontólogos utilizan los rayos X para evaluar el proceso de regeneración ósea, siendo este invasivo e ionizante. Por este motivo, las técnicas no invasivas ultrasónicas son una opción a tener en cuenta a la hora de monitorizar la regeneración ósea guiada.

En la presente tesis doctoral evaluamos el proceso completo de desmineralización de la dentina humana en condiciones controladas de laboratorio, utilizando una técnica ultrasónica de eco impulso. Las medidas del tiempo de vuelo utilizando esta técnica permiten obtener la velocidad del sonido en el tejido de la dentina sana y desmineralizada, así como caracterizar el proceso dinámico de la penetración del ácido. Además, la técnica permite medir la relevancia de la desmineralización producida por los residuos ácidos en el interior del diente una vez que éste ha sido retirado de la solución ácida. Más allá de la evaluación de las lesiones de desmineralización artificial en condiciones de laboratorio, como se demuestra en esta tesis doctoral, la técnica propuesta abre nuevos enfoques para la evaluación de la desmineralización causada por la caries natural in vivo.

Por otro lado, el segundo objetivo principal de la tesis doctoral es diseñar un sistema de monitorización de la regeneración ósea guiada con ultrasonidos. Para ello presentamos un método que permite monitorizar el proceso de fraguado de sustitutos óseos (sulfato de calcio) mediante técnicas de retrodispersión ultrasónica. Mediante el análisis de los campos retrodispersados demostramos que es posible describir dinámicamente las propiedades acústicas del material, que están relacionadas con su estado de fraguado. Esta técnica ultrasónica es el primer paso para desarrollar sistemas de monitorización in vivo de medios complejos como los presentes en los procedimientos de regeneración ósea. La técnica ha sido probada ex vivo y se ha diseñado y construido un prototipo para aplicación en humanos basado en el uso de una férula dental. Por último, se presenta un protocolo para la monitorización de la regeneración ósea en humanos con ultrasonidos.

# Resum

L'ús de tècniques ultrasòniques com a eines de diagnòstic està àmpliament estès en especialitats mèdiques com la reumatologia, la ginecologia o la cardiologia entre altres. En el camp de l'odontologia, en canvi, l'ús dels ultrasons s'han desenvolupat en una altra mena de dispositius, com són les puntes vibrants per a raspat dental o a bisturís ultrasònics. Existeixen treballs científics des de la dècada de 1960 sobre la utilització d'ultrasons per a caracterització de teixits dentaris. Malgrat això, la literatura científica actual sobre aquestes aplicacions és molt escassa (o similar). La propagació dels ultrasons en els teixits biològics permet caracteritzar les propietats acústiques i mecàniques de forma no destructiva. Aquesta qualitat té un gran potencial per a monitorar processos biològics dentaris. En aquesta tesi doctoral l'objecte d'estudi se centra en el monitoratge ultrasònic de dues aplicacions odontològiques: la desmineralització dental i la regeneració òssia guiada.

La desmineralització és un procés de pèrdua de minerals en els teixits durs dentals que afecta greument la salut dels pacients, ja que disminueix la resistència de la dent, genera complicacions en alterar l'estructura oclusal i causa hipersensibilitat i problemes pulpars. És produïda per processos patològics com l'erosió o la càries, o quirúrgics com el gravat dental. A causa de la complexitat dels processos naturals de desmineralització, és aconsellable, per al seu estudi, proporcionar proves quantitatives i estandarditzades en condicions controlades de laboratori. Les tècniques ultrasòniques proporcionen informació mecànica localitzada del teixit, la qual es relaciona amb el seu grau de desmineralització, a més de ser tècniques no destructives i de ràpida aplicació, per la qual cosa suposen una eina òptima per a aquest fi.

---

D'altra banda, els teixits ossis odontològics són vitals en la supervivència dels implants dentals. Per a una correcta col·locació d'implants dentals, es requereix un volum ossi suficient amb l'objectiu d'assegurar la seua estabilitat i durabilitat. La pèrdua d'una dent afecta directament a la qualitat i al gruix de l'os maxil·lar. En els casos en què la quantitat d'os no és suficient per a suportar un implant, els odontòlegs facen una operació de regeneració òssia. Consisteix en l'ús d'empelts ossis que servisquen de bastimentada sobre el qual es regenerarà os nou. Per a obtenir una regeneració completa és necessari esperar entre 6 i 9 mesos. A més, durant la regeneració poden sorgir diferents problemàtiques, com el creixement del teixit bla o una fallada de osteointegració. Actualment, els odontòlegs utilitzen els raigs X per a avaluar el procés de regeneració òssia, sent aquest invasiu i ionitzant. Per aquest motiu, les tècniques no invasives ultrasòniques són una opció a tindre en compte a l'hora de monitorar la regeneració òssia guiada.

En la present tesi doctoral avaluem el procés complet de desmineralització de la dentina humana en condicions controlades de laboratori, utilitzant una tècnica ultrasònica d'eco impuls. Les mesures del temps de vol utilitzant aquesta tècnica permeten obtindre la velocitat del so en el teixit de la dentina sana i desmineralitzada, així com caracteritzar el procés dinàmic de la penetració de l'àcid. A més, la tècnica permet mesurar la rellevància de la desmineralització produïda pels residus àcids a l'interior de la dent una vegada que aquest ha sigut retirat de la solució àcida. Més enllà de l'avaluació de les lesions de desmineralització artificial en condicions de laboratori, com es demostra en aquesta tesi doctoral, la tècnica proposada obri nous enfocaments per a l'avaluació de la desmineralització causada per la càries natural in vivo.

D'altra banda, el segon objectiu principal de la tesi doctoral és dissenyar un sistema de monitoratge de la regeneració òssia guiada amb ultrasons. Per a això presentem un mètode que permet monitorar el procés d'enduriment de substituïts ossis (sulfat de calci) mitjançant tècniques de retrodispersió ultrasònica. Mitjançant l'anàlisi dels camps retrodispersats vam demostrar que és possible descriure dinàmicament les propietats acústiques del material, que estan relacionades amb el seu estat d'enduriment. Aquesta tècnica ultrasònica és el primer pas per a desenvolupar sistemes de monitoratge in vivo de mitjans complexos com els presents en els procediments de regeneració òssia. La tècnica ha sigut provada ex vivo i s'ha dissenyat i construït un prototip per a aplicació en humans basat en l'ús d'una fèrula dental. Per últim, es presenta un protocol per al monitoratge de la regeneració òssia en humans amb ultrasons

# Abstract

The use of ultrasonic techniques as diagnostic tools is widely used in medical specialties such as rheumatology, gynecology and cardiology, among others. In the field of dentistry, however, the use of ultrasound has been developed in other types of devices, such as vibrating tips for dental scaling or ultrasonic scalpels. There have been scientific studies since the 1960s on the use of ultrasound for the characterization of dental tissues. However, the current scientific literature on these applications is very scarce. The propagation of ultrasound in biological tissues allows the characterization of acoustic and mechanical properties in a non-destructive way. This quality has a great potential for monitoring dental biological processes. In this doctoral thesis the object of study is focused on the ultrasonic monitoring of two dental applications: dental demineralization and guided bone regeneration.

Demineralization is a process of mineral loss in dental hard tissues that seriously affects the health of patients, since it reduces the resistance of the tooth, generates complications by altering the occlusal structure and causes hypersensitivity and pulp problems. It is produced by pathological processes such as erosion or caries, or surgical processes such as dental etching. Due to the complexity of natural demineralization processes, it is advisable to provide quantitative and standardized tests under controlled laboratory conditions for their study. Ultrasonic techniques provide localized mechanical information of the tissue, which is related to its degree of demineralization, in addition to being non-destructive techniques and of rapid application, so they are an optimal tool for this purpose.

---

On the other hand, dental bone tissues are vital for the survival of dental implants. For the correct placement of dental implants, sufficient bone volume is required to ensure their stability and durability. The loss of a tooth directly affects the quality and thickness of the jawbone. In cases where the amount of bone is not sufficient to support an implant, dentists perform a bone regeneration operation. It consists of the use of bone grafts that serve as a scaffolding on which new bone will be regenerated. To obtain a complete regeneration it is necessary to wait between 6 and 9 months. In addition, during regeneration, various problems may arise, such as soft tissue growth or failure of osseointegration. Currently, dentists use X-rays to evaluate the bone regeneration process, which is invasive and ionizing. For this reason, non-invasive ultrasonic techniques are an option to consider when monitoring guided bone regeneration.

In the present dissertation we evaluate the complete demineralization process of human dentin under controlled laboratory conditions using an ultrasonic pulse echo technique. Time-of-flight measurements using this technique allow us to obtain the speed of sound in healthy and demineralized dentin tissue, as well as to characterize the dynamic process of acid penetration. In addition, the technique allows measuring the relevance of the demineralization produced by the acidic residues inside the tooth once it has been removed from the acid solution. Beyond the evaluation of artificial demineralization lesions under laboratory conditions, as demonstrated in this doctoral thesis, the proposed technique opens new approaches for the evaluation of demineralization caused by natural caries *in vivo*. On the other hand, the second main objective of the doctoral thesis is to design a system for monitoring ultrasound-guided bone regeneration. For this purpose, we present a method to monitor the setting process of bone substitutes (calcium sulphate) by means of ultrasonic backscattering techniques. By analysing the backscattered fields, we demonstrate that it is possible to describe dynamically the acoustic properties of the material, which are related to its setting state. This ultrasonic technique is the first step towards developing *in vivo* monitoring systems for complex media such as those present in bone regeneration procedures. The technique has been tested *ex vivo* and a prototype has been designed and built for human application based on the use of a dental splint. Finally, a protocol for monitoring bone regeneration in humans with ultrasound is presented.



# Índice general

Resumen	VII
Índice general	XIII
1 Introducción	1
1.1 Problemática y motivación. . . . .	2
1.2 Objetivos . . . . .	5
1.3 Estructura de la tesis doctoral . . . . .	5
2 Tejidos odontológicos	7
2.1 Tejidos dentarios . . . . .	7
2.2 Tejidos óseos . . . . .	11
3 Propagación de ultrasonidos en tejidos odontológicos	19
3.1 Fundamentos de los ultrasonidos. . . . .	19
3.2 Ultrasonidos en odontología. . . . .	35

4	Monitorización del proceso de desmineralización de la dentina	39
4.1	Introducción . . . . .	40
4.2	Métodos . . . . .	41
4.3	Resultados . . . . .	44
4.4	Conclusiones . . . . .	55
5	Monitorización ultrasónica del proceso de curado de un cemento óseo	57
5.1	Introducción . . . . .	59
5.2	Métodos . . . . .	60
5.3	Resultados . . . . .	63
5.4	Conclusiones . . . . .	69
6	Sistema de monitorización de la regeneración ósea guiada para experimentos in vivo	73
6.1	Diseño del dispositivo de monitorización. . . . .	74
6.2	Estudio del posicionamiento del transductor de ultrasonidos. . . . .	83
6.3	Estudio del acoplamiento transductor - tejido. . . . .	86
6.4	Estudio ex vivo en cerdo . . . . .	89
6.5	Diseño del dispositivo de medida in vivo en humano . . . . .	92
6.6	Conclusiones . . . . .	98
7	Conclusiones	101
7.1	Resumen de resultados . . . . .	101
7.2	Discusión . . . . .	103
7.3	Lineas futuras . . . . .	104

## Capítulo 1

# Introducción

---

La tesis doctoral que aquí se presenta se enmarca en el contexto de la colaboración entre dos instituciones, la Universitat Politècnica de València y el Instituto Valenciano de Investigaciones Odontológicas (IVIO). De la colaboración de estas instituciones nace la Cátedra de Empresa IVIO-UPV. Una Cátedra es un acuerdo entre la universidad y una empresa cuya finalidad principal es desarrollar actividades de interés general para la comunidad universitaria. La Cátedra IVIO-UPV, fundada el 18 de abril de 2016 con sede en la Escola Politècnica Superior de Gandia, se crea para la realización de actividades de formación, investigación, divulgación, transferencia de conocimiento y demás actividades científicas. La finalidad de la Cátedra es la promoción y desarrollo de conocimientos científico-tecnológicos en el ámbito de la Odontología.

La Cátedra IVIO-UPV, está dirigida por el profesor Francisco Camarena Femenía, tutor y codirector de esta tesis doctoral. Esta tesis surge para cubrir las necesidades planteadas por el Dr Joan Faus López, director del IVIO y de esta tesis doctoral, en cuanto a la aplicación de técnicas ultrasónicas en el campo de la odontología.

La mayor parte de los experimentos han sido desarrollados en el Grupo de Detectores para Imagen Molecular del i3M (Instituto de Instrumentación para

Imagen Molecular), que está involucrado en el desarrollo de nueva instrumentación y algoritmos de software en el área de la imagen médica, principalmente enfocada a la imagen in vivo de firmas moleculares y morfológicas de enfermedades en humanos y pequeños animales de laboratorio. Dentro del grupo de detectores se encuentra el Laboratorio de Ultrasonidos Médicos e Industriales (UMIL, de sus siglas en inglés). El laboratorio incluye las siguientes líneas de investigación:

- Haces ultrasónicos focalizados para la caracterización y terapia de tejidos.
- Propagación transcraneal de ultrasonidos.
- Técnicas mixtas de imagen: magnetomortiz y optoacústica
- **Tecnología ultrasónica aplicada a la odontología.**
- Aplicaciones industriales de los ultrasonidos.

Esta tesis doctoral ha sido elaborada en el seno del UMIL, donde se han realizado la mayor parte de los experimentos. Como consecuencia de ello ha surgido una nueva línea de investigación: tecnología ultrasónica aplicada a la odontología.

## 1.1 Problemática y motivación

Desde la Cátedra IVIO-UPV se detecta la necesidad de utilizar herramientas no destructivas que sean capaces de resolver problemas odontológicos con nuevas soluciones tecnológicas, como la monitorización de la regeneración ósea o el estudio de la desmineralización dental. Los ultrasonidos son ondas acústicas con frecuencias iguales o superiores a 20 kHz que se acoplan y transmiten por los medios materiales. Son utilizados tanto en terapia como en diagnóstico en distintas disciplinas médicas. Por tratarse de ondas mecánicas, proporcionan información de las propiedades físicas de los medios por los que se propagan, por esto pueden ser una buena herramienta para abordar de forma no destructiva algunos problemas odontológicos. A continuación se presentan las dos problemáticas que trataremos en esta tesis doctoral:

### 1.1.1 Desmineralización dental

La mineralización es un proceso en el que una sustancia inorgánica precipita minerales sobre una matriz orgánica. Los procesos biológicos normales incluyen la formación de tejidos conectivos duros, como el hueso, la dentina y el cemento, en los que las fibrillas de colágeno forman un andamio para una disposición de cristales de fosfato de calcio axialmente organizados [1].

La desmineralización es el proceso de eliminación de los iones minerales de los cristales de hidroxiapatita (HA) de los tejidos duros, por ejemplo, el esmalte, la dentina, el cemento y el hueso. Este proceso ocurre en la superficie del diente, y se puede perder un número considerable de iones minerales de la HA sin destruir su integridad, pero se esperaría una alta sensibilidad al calor, al frío, a la presión y al dolor. Además, la falta de integridad en el entramado de HA produce caries [1].

La caries dental es la destrucción localizada de los tejidos duros dentales ocasionada por los ácidos orgánicos generados en la fermentación, a cargo de bacterias cariogénicas, y de ciertos carbohidratos contenidos en la dieta, además es la enfermedad infecciosa más frecuente en todo el mundo [2]. Existen varios métodos para la evaluación cuantitativa y cualitativa de la erosión dental, teniendo cada uno de ellos ventajas y desventajas [3]. Los estudios *in vitro* son importantes para poder caracterizar los problemas de desmineralización. Para la realización de estudios *in vitro* es necesaria una cantidad significativa de muestras con lesiones similares para poder hacer un estudio estadístico. Sin embargo, las lesiones de causa natural tienen características distintas y es difícil encontrar una cantidad significativa de lesiones similares. Por este motivo, para obtener un número elevado de muestras es necesario utilizar piezas sanas y aplicarles un ácido para desmineralizarlas artificialmente. El proceso de desmineralización del esmalte ha sido estudiado en profundidad [4], sin embargo, existe desconocimiento sobre el proceso de desmineralización de la dentina. Los métodos de evaluación como el microscopio electrónico por barrido o la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier, permiten ver qué ocurre a nivel superficial, sin embargo no se conoce con exactitud lo que ocurre en profundidad. Además, muchas de las técnicas que se utilizan son destructivas, como la nanoindentación [5]. Por este motivo, los ultrasonidos pueden jugar un papel clave a la hora de monitorizar la desmineralización de la dentina, ya que estos no son invasivos y, al ser ondas mecánicas, proporcionan información de las propiedades elásticas del medio por el que se propagan.

### 1.1.2 *Regeneración ósea*

Los implantes dentales son materiales inertes que se introducen en la maxila o mandíbula para tratar la pérdida de dientes y ayudar a sustituir las estructuras orofaciales perdidas como consecuencia de traumatismos, neoplasias o defectos congénitos [6].

El requisito primordial para el éxito de la colocación de un implante dental es tener un volumen y una densidad ósea adecuados al tamaño del cuerpo del implante. Además de la anchura del implante, se necesitan aproximadamente 2 mm del llamado hueso crítico en el reborde bucal para evitar una reabsorción ósea fisiológica importante en el plano bucolingual, especialmente en la región maxilar anterior. Por lo tanto, en muchos casos puede ser necesario realizar procedimientos de aumento óseo simultáneamente o antes de la colocación del implante [7].

Existen varias técnicas quirúrgicas, como la regeneración ósea guiada, la osteogénesis por distracción y los injertos de bloques de hueso para aumentar el volumen óseo y que soporte adecuadamente la función del implante. El procedimiento de la regeneración ósea guiada, en el que se aplica un injerto óseo autógeno particular o sustitutos óseos y una membrana ocluyente, ha demostrado ser una forma predecible de aumentar el hueso [8]. El procedimiento de regeneración puede promover la curación del defecto óseo en un tiempo de 6 a 10 meses [9]. Sin embargo, pueden producirse complicaciones como la perforación del mucoperiostio, sinusitis maxilar, fracturas mandibulares, fallo de osteointegración, defectos óseos, lesión periapical del implante, formación de quistes, la dehiscencia de la herida y osteonecrosis entre otras [10, 11]. Si surge una complicación postquirúrgica, la intervención temprana es necesaria para ayudar a obtener la mayor regeneración ósea posible [12].

En la actualidad, los odontólogos no utilizan herramientas de monitorización de la regeneración ósea guiada, confían en que funcione bien, o realizan una tomografía computarizada de haz cónico (CBCT de sus siglas en inglés, radiación ionizante) al final del proceso. Si detectan un fallo en la regeneración, deben empezar de nuevo la operación. Así pues, es importante detectar las complicaciones de forma temprana. Los parámetros cuantitativos derivados de las interacciones entre las ondas acústicas y el objeto o los objetos a examinar, han aumentado significativamente el valor diagnóstico de los ultrasonidos. Algunos ejemplos son el uso de la velocidad del sonido para evaluar la densidad y elasticidad ósea [13] y los patrones de intensidad de reflexión del sonido para evaluar la estabilidad de los implantes [14]. En esta tesis doctoral vamos a utilizar los ultrasonidos como herramienta de monitorización de la regeneración

ósea guiada con el objetivo de proporcionar a los odontólogos una herramienta capaz de detectar posibles fallos en la regeneración ósea de manera temprana.

## 1.2 Objetivos

Los objetivos principales de la tesis doctoral son los siguientes:

- **Describir el proceso de desmineralización artificial de la dentina con un método no destructivo ultrasónico.**

Para desarrollar el objetivo se utilizarán muestras de dientes humanos cortados en forma de disco y se les aplicará ácido fosfórico con una concentración del 15% para conseguir la desmineralización de los dientes. Para monitorizar la desmineralización se utilizará la técnica de eco impulso donde se analizará el tiempo de vuelo de los ecos recibidos para medir la penetración del ácido en la dentina. Se pretende encontrar un modelo que se ajuste al proceso de desmineralización dental artificial y utilizar simulaciones basadas en elementos finitos para validarlo.

- **Diseñar un sistema de monitorización de la regeneración ósea guiada por alzado del seno con herramientas no destructivas.**

Para desarrollar el objetivo se estudiarán los parámetros de retrodispersión ultrasónica para adaptarlos a la regeneración ósea. Se realizarán experimentos in vitro usando un cemento óseo a base de sulfato de calcio con el fin de monitorizar el fraguado del cemento. Se validarán los parámetros de retrodispersión con tejidos biológicos ex vivo y se diseñará un sistema de monitorización para la regeneración ósea in vivo.

## 1.3 Estructura de la tesis doctoral

La tesis doctoral está dividida en 7 capítulos:

1. **Introducción:** en el que se pone en contexto la tesis doctoral y se aborda la problemática, la motivación y los objetivos. Por último, se expone la estructura de la tesis.
2. **Tejidos odontológicos:** en el que se contextualiza la tesis doctoral explicando los distintos procesos biológicos que ocurren en los tejidos bucales.

3. **Propagación de ultrasonidos en tejidos odontológicos:** en el que se explican los fundamentos físicos de los ultrasonidos y se hace un repaso bibliográfico a los distintos avances en el campo de la caracterización dental y la implantología.
4. **Monitorización del proceso de desmineralización de la dentina:** en el que se presentan los experimentos y los resultados obtenidos en el campo de la desmineralización dental.
5. **Monitorización del proceso de curado de un cemento óseo:** en el que se presentan los experimentos y los resultados obtenidos en el campo de el uso de técnicas de retrodispersión para la monitorización de cementos óseos.
6. **Sistema de monitorización de la regeneración ósea guiada para experimentos in vivo:** en el que se presentan los experimentos realizados hasta llegar a la construcción de un prototipo de férula dental para realizar medidas de monitorización de la regeneración ósea in vivo.
7. **Conclusiones:** en el que se explican las conclusiones obtenidas en la realización de esta tesis, los objetivos alcanzados y las líneas futuras.



## Capítulo 2

# Tejidos odontológicos

---

En este capítulo se explican las propiedades y características de los tejidos biológicos odontológicos y se introducen las técnicas que se utilizan para su caracterización. El capítulo consta de tres partes, en la primera se definen los componentes de la estructura dental y sus procesos de desmineralización. En la segunda se expone la estructura de los tejidos óseos, los mecanismos de formación, modelado y remodelación, y se explica cómo funciona el proceso de reparación y regeneración del hueso. Por último, se presenta el procedimiento de regeneración ósea guiada para aumentar la cantidad de hueso en la zona maxilar y se justifica la necesidad de llevar a cabo su monitorización mediante técnicas ultrasónicas.

### 2.1 Tejidos dentarios

Los dientes son órganos ectodérmicos presentes en la mayoría de los vertebrados, y aparecen en varios tamaños, formas y número. La mayoría de los vertebrados reemplazan sus dientes continuamente. Los mamíferos, en cambio, tienen una capacidad de regeneración dental restringida y reemplazan sus dientes una sola vez (difodontos), como los *homo sapiens*, o no lo hacen en absoluto (monofodontes) como por ejemplo las belugas o los delfines. Cabe

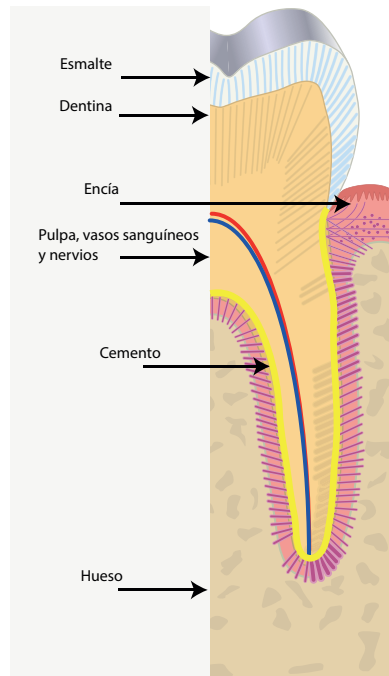
señalar que la mayoría de los monofiodontes tienen dientes en continuo crecimiento, en los que se producen incesantemente matrices mineralizadas para compensar su desgaste [15]. Los humanos desarrollan dos dentaduras durante la vida. La primera es la dentición primaria (también conocida como dientes de leche), que se inicia alrededor de la sexta semana de gestación. Los dientes de leche son reemplazados por los dientes permanentes, cuyo desarrollo se inicia entre la décima y la decimotercera semana de gestación [16]. Las investigaciones publicadas en los últimos años han mejorado nuestra comprensión del desarrollo y la morfología de los dientes, así como las redes de regulación que rigen este proceso. Sin embargo, muchas preguntas siguen sin respuesta, en particular las que se refieren al limitado potencial reparador y regenerativo de estas estructuras.

La mayoría de los órganos humanos están compuestos de células de vida limitada, sin embargo, los órganos mantienen sus propiedades físicas y funciones a lo largo de la vida. El rejuvenecimiento de la estructura celular y extracelular del órgano (regeneración), depende de la presencia de células madre, una población de células autorenovables que pueden reproducir la heterogeneidad celular del órgano adulto a lo largo de los años. Los seres humanos pierden constantemente sus células madre dentales en las primeras etapas de la vida, y, por lo tanto, su capacidad para reparar los cambios perjudiciales está casi ausente a lo largo de la vida [15, 16].

### 2.1.1 Estructura dental

Los dientes son estructuras complejas compuestas de tres tejidos mineralizados: esmalte, dentina y cemento, que encierran los tejidos blandos (pulpa dental, nervios y vasos sanguíneos). El esmalte es la cubierta protectora del diente, que se desgasta progresivamente, se descolora y es menos permeable con el paso del tiempo [17]. Las lesiones o daños en la capa de esmalte no pueden ser regeneradas debido a la pérdida de ameloblastos al inicio de la erupción de los dientes [17]. La dentina es una de las capas interiores del diente que se encarga de proteger la cámara pulpar. La matriz mineralizada de la dentina es producida por el odontoblasto, células que se generan a partir de la mesénquima dental. A diferencia del esmalte, el contenido mineral de la dentina aumenta con la edad debido a la deposición mineral continua procedente de la dentinogénesis. Los cambios graduales en las propiedades mecánicas de la dentina junto con el debilitamiento del esmalte aumentan el potencial de fractura de los dientes [15]. El cemento es el tejido que cubre el exterior de la raíz y es muy similar al hueso, pero sin inervación e irrigación sanguínea o nerviosa y sin los sistemas haversianos que se observan en el hueso [18]. La función principal del cemen-

to es la unión de la raíz del diente al ligamento periodontal, lo que ayuda a proporcionar una estabilización crítica del diente en el hueso alveolar [19]. La pulpa dental es un tejido mesenquimal altamente especializado que se caracteriza por la presencia de odontoblastos y por el hecho de estar rodeada de un tejido mineralizado rígido [20]. Está infiltrada por una red de vasos sanguíneos y haces de nervios que emanan de la región apical [21]. Además, es un tejido oral no mineralizado compuesto de tejido conectivo blando, elementos vasculares, linfáticos y nerviosos que ocupan la cavidad pulpar central de cada diente. La pulpa tiene una consistencia suave y gelatinosa. El 75-80% de la cavidad pulpar es agua [22]. En la Fig. 2.1 se muestra un esquema de la estructura dental.



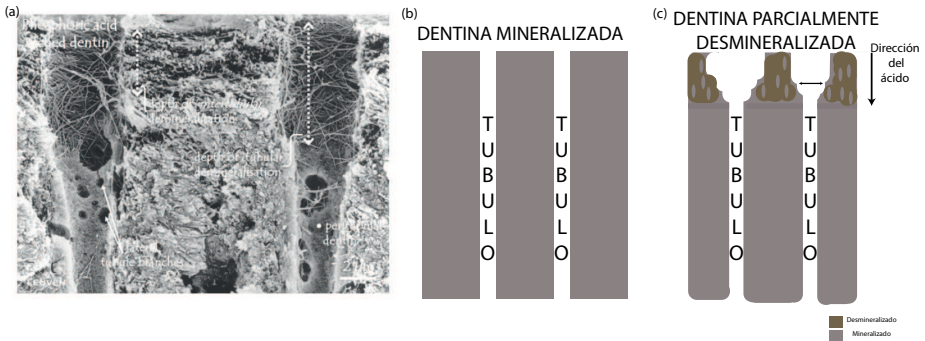
**Figura 2.1:** Esquema de la estructura dental. Figura modificada de Goran tek-en. Licencia creative commons.

### 2.1.2 *Procesos de desmineralización dental*

La caries dental es una de las enfermedades más frecuentes en todo el mundo. Según la Organización Mundial de la Salud, entre el 60 % y el 90 % de los niños en edad escolar y casi el 100 % de los adultos tienen o han tenido lesiones de caries [23]. La caries dental es una enfermedad infecciosa y multifactorial que aparece cuando, en una primera etapa el esmalte, y luego la dentina, pierden sus minerales debido a los ácidos producidos por el metabolismo bacteriano al descomponer los azúcares o los restos de comida [24, 25]. El proceso de caries crónica, de progresión lenta, implica la destrucción localizada de los tejidos duros de las piezas dentales. La desmineralización se refiere al proceso por el cual los ácidos de la placa bacteriana generados en condiciones ligeramente ácidas se difunden en la estructura mineral del diente, causando la destrucción del esmalte y los cristales de dentina. A medida que la destrucción del esmalte continúa y la lesión progresa hacia la dentina subyacente, se produce una invasión bacteriana con la difusión concomitante de los ácidos. Como resultado, puede producirse la necrosis de la pulpa y la propagación de la infección a los tejidos periapicales, que son los tejidos que circundan la porción apical de la raíz de un diente [26]. En condiciones fuertemente ácidas, como las generadas por los ácidos gástricos y bebidas ácidas, un problema erosivo puede dar lugar a la pérdida, a menudo irreversible, de la estructura dental.

El proceso de reparación, la remineralización, se produce bajo una estructura fisiológica casi neutra. Por las condiciones de pH, los iones minerales de calcio y fosfato son redepositados dentro de las lesiones por la saliva y el líquido de la placa. Aunque los procesos de desmineralización y la remineralización se describen por separado, existe un equilibrio íntimo, modulado por factores del huésped como: la dieta, el flujo y composición salival, la frecuencia en la ingesta de carbohidratos y el mantenimiento de la higiene oral, que en última instancia determina el riesgo general de caries de un individuo [27, 28]. Durante el proceso de desmineralización se produce una destrucción de la hidroxiapatita por los ácidos orgánicos, generando un gradiente de concentración para la disolución del calcio y fosfato y la difusión de la masa del tejido dental [29]. Esto implica la pérdida activa de minerales en la zona de progreso de la lesión, que avanza en profundidad debajo de la superficie del esmalte, donde los iones ácidos progresan desde la placa dental.

El conocimiento del proceso de desmineralización de la dentina es crucial para conseguir su reparación, ya que el dentista debe extraer parte de la dentina para preparar una cavidad en la que colocar el empaste, y el criterio para decidir cuándo detener la extracción del tejido tiene que ver con su grado de mineralización. En este punto deben establecerse criterios objetivos. Por otra



**Figura 2.2:** (a) Imagen SEM de una zona de dentina parcialmente desmineralizada, Fuente PhD thesis of J. Perdigão, Katholieke Universiteit, Leuven, 1995 (b) Esquema de una zona de dentina. (c) Esquema de una zona de dentina parcialmente desmineralizada.

parte, recientemente se ha propuesto el uso de materiales bioactivos para facilitar la remineralización de la dentina dañada, lo que permite conservar una mayor cantidad de dentina del paciente [30, 31, 32]. Por lo tanto, es importante poder evaluar el grado de mineralización de la dentina para tomar estas decisiones y cuantificar el grado de mejora de los nuevos productos. Si aplicamos un ácido para desmineralizar la dentina artificialmente, los túbulos dentinarios empiezan a abrirse y la dentina se va desmineralizando progresivamente desde el exterior al interior del diente [33, 34]. En la Fig. 2.2 (a), se observa una imagen de la sección transversal de una pieza de dentina por microscopía electrónica por barrido (SEM). Se observa cómo el ácido va degradando la matriz de la dentina. En 2.2 (b), vemos un esquema de una zona de dentina en estado normal, y en 2.2 (c), un esquema de una zona de dentina a la que se le ha aplicado un ácido. Se observa cómo el ácido va desmineralizando la dentina en la dirección en la que ha sido aplicado. Además, los túbulos dentinarios se van ensanchando y van desmineralizándose.

## 2.2 Tejidos óseos

El sistema óseo participa en dos funciones clave: una función estructural, que proporciona apoyo y protección a los órganos internos vitales, y una función metabólica que funciona como un depósito de minerales para el resto del cuerpo, especialmente en lo que respecta al fosfato y al calcio [35]. El hueso es un material vivo, que evoluciona de acuerdo con diferentes factores que tienen un efecto en la fisiología o biología ósea (actividades físicas, nutrición, hormonas y

medicamentos). Los huesos adaptan su forma y estructura a su entorno físico y, especialmente, a la estimulación mecánica.

### 2.2.1 Estructura ósea

El tejido óseo puede dividirse en hueso cortical y hueso trabecular en función de su estructura a nivel macroscópico. La división también puede basarse en la madurez del tejido óseo. En el hueso inmaduro, la red de fibrillas de colágeno se organiza de forma aleatoria y el contenido en osteocitos y agua es mayor que en el hueso totalmente maduro [36, 37]. El hueso inmaduro experimenta una rápida tasa de deposición y renovación, y su patrón de mineralización es irregular. Durante la maduración del hueso, su estructura, incluyendo las fibras de colágeno y los cristales de hidroxiapatita, se organiza de manera ordenada.

El hueso maduro es más rígido que el hueso inmaduro, debido a su estructura altamente organizada. Además, las propiedades mecánicas del hueso inmaduro son isotrópicas mientras que el hueso maduro es mecánicamente anisotrópico [38]. Según la Ley de Wolff, el hueso adapta su arquitectura interna y externa para resistir la fuerza en la principal dirección de carga mecánica [39]. En la Fig. 2.3 se presenta una ilustración esquemática de la estructura ósea.

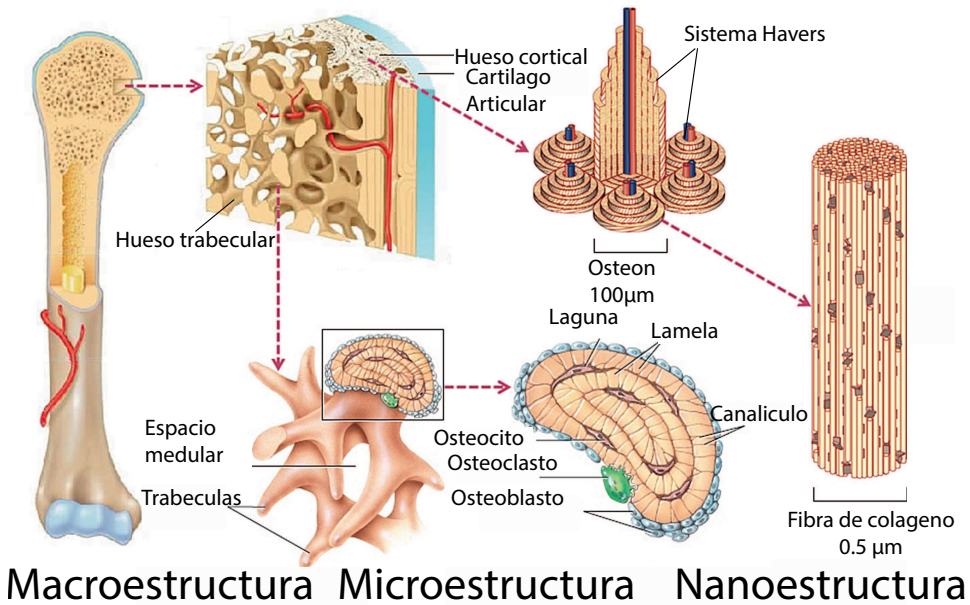


Figura 2.3: Estructura jerárquica del hueso. Figura modificada de [40].

El hueso cortical forma la capa exterior de los huesos [41, 42], como vemos en la Fig. 2.3. Es un hueso compacto (de 5% a 10% de porosidad) y además es un hueso denso (1600-2000  $kg/m^3$ ). El esqueleto humano está compuesto principalmente (80% - 90%) por hueso cortical [38, 43, 44]. El hueso cortical está formado por osteones, véase la Fig. 2.3. Los osteones forman el sistema de Havers [45, 46]. En comparación con el hueso trabecular, el hueso cortical tiene una tasa de regeneración baja y un metabolismo más lento.

El hueso trabecular es altamente poroso (75% - 95%) y consiste en una red de trabéculas. El diámetro típico de una trabécula es de 100 a 200 micrómetros [47]. La densidad volumétrica del hueso trabecular es mucho menor que la del hueso cortical. Por lo tanto, la superficie del hueso trabecular es unas veinte veces más alta que la del hueso cortical con una masa similar. Sin embargo, la densidad de la matriz calcificada es aproximadamente la misma en el hueso cortical y trabecular. El volumen entre las trabéculas está lleno de médula ósea. Dado que las células del hueso trabecular se encuentran en la superficie de las trabéculas, están en proximidad o en contacto directo con la médula ósea, los vasos sanguíneos y las células. Esto, junto con un área de superficie a volumen elevado, facilita una alta tasa de regeneración y una actividad metabólica más rápida, además de buena sensibilidad a la remodelación bajo carga mecánica [38, 48].

El tejido óseo es un tejido dinámico que se renueva de forma continuada e ininterrumpida. Por lo tanto, las células óseas están constantemente en remodelación. Las células encargadas de las funciones de formación, resorción, homeostasis mineral y reparación del hueso son las siguientes: osteoblastos, osteocitos y osteoclastos.

- Los **osteoblastos** son responsables de la formación de los huesos. Su función principal es sintetizar la matriz ósea, pero también controlan los flujos entre el líquido extracelular y el líquido óseo [35]. También segregan abundante colágeno tipo I y otras proteínas de la matriz, que forman el osteoide. Esta fase orgánica del hueso sirve de plantilla para el posterior depósito de mineral en forma de hidroxapatita [49].
- Los **osteocitos** son las células más abundantes (90%) en el tejido óseo [49]. Estas células se forman a partir de osteoblastos [35], y se distribuyen regularmente por toda la matriz ósea mineralizada, manteniendo la homeostasis mineral. Aunque la actividad metabólica de los osteoblastos disminuye una vez que está completamente encapsulada en la matriz ósea, siguen produciendo proteínas de la matriz [50].

- El **osteoclasto** es la única célula responsable de la resorción del hueso. Los osteoclastos son multinucleados, células gigantes desarrolladas a partir de células madre hematopoyéticas que residen en la médula y el bazo [51]. Los osteoclastos activados reabsorben el hueso mediante la acidificación y la proteólisis de la matriz ósea y los cristales de hidroxapatita [52].

### 2.2.2 *Formación, modelado y remodelación ósea*

La formación ósea (osteogénesis) es el proceso de formación de nuevos huesos por los osteoblastos, y se produce en tres fases sucesivas: la producción, la maduración de la matriz osteoide y la mineralización de la matriz. El hueso experimenta un crecimiento longitudinal y radial durante la vida. En el hueso adulto, estos procesos ocurren a la misma velocidad, de modo que el equilibrio entre la producción de matriz y la mineralización es idéntica. Además, el desarrollo y el mantenimiento de los huesos se regulan mediante dos procesos, el modelado y la remodelación [53].

El modelado óseo (construcción), controla el crecimiento y la adaptación inducida mecánicamente del hueso que se forma por los osteoblastos sin resorción ósea previa [54]. Así, el modelado conduce a un ajuste gradual del esqueleto a las fuerzas que encuentra. El modelado óseo se produce durante el crecimiento y es responsable de la ganancia de masa esquelética y de los cambios en la forma del esqueleto.

La remodelación ósea (reconstrucción), es responsable de la eliminación y reparación del hueso dañado para mantener la integridad del sistema esquelético y la homeostasis mineral. Este proceso ocurre a lo largo de la vida e implica la eliminación del hueso viejo, el reemplazo con una nueva matriz proteínica sintetizada y la mineralización para formar un nuevo hueso [50].

### 2.2.3 *Regeneración ósea y reparación*

La masa ósea en un humano adulto alcanza su nivel máximo a los veinte años, pero luego disminuye gradualmente a medida que la velocidad de resorción ósea excede la formación de huesos [55]. Además, muchas personas sufren de defectos óseos. Estos defectos óseos a menudo son el resultado de resección tumoral, traumas, fracturas, cirugías o periodontitis, así como de enfermedades como la osteoporosis o la artritis. Curiosamente, a diferencia de otros tejidos que se reparan predominantemente a través de la producción de cicatrices, los



defectos en el tejido óseo se curan formando un nuevo hueso. Así, la osteogénesis es altamente estimulada en lesiones como las fracturas.

El proceso de reparación de una fractura comienza inmediatamente después de la lesión y se produce en 4 pasos:

- **Formación de hematomas.** Después de una fractura ósea, el daño a la circulación sanguínea local produce un hematoma o un coágulo de sangre. Este hematoma está formado por productos sanguíneos, fibrina, factores de crecimiento y citoquinas. Esta etapa también se caracteriza por la inflamación y la hipoxia local [56].
- **Formación de callo cartilaginoso.** Este paso se caracteriza por la formación de nueva vascularización sanguínea. La hipoxia local estimula la formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis), lo que permite el reclutamiento de condrocitos (formación de la matriz de cartílago) y osteoblastos (formación de hueso nuevo). Se forma un callo cartilaginoso que actúa como estructura de fijación [56].
- **Formación de callo óseo.** A medida que la reparación progresa, el callo se mineraliza, formando el hueso [57].
- **Remodelación.** Fase final en la que la región de la fractura se modifica gradualmente para formar nuevo hueso y reabsorber el exceso de callo. El suministro vascular vuelve a un estado normal.

Aunque este es el mecanismo normal para que el hueso se regenere por sí mismo, hay algunas condiciones óseas difíciles en las que este proceso se ve afectado. Así, por desgracia, el tejido óseo no es capaz de regenerarse y repararse adecuadamente en pacientes con estructuras óseas comprometidas, con una calidad o cantidad de hueso pobre, como por ejemplo en la zona maxilar y mandibular.

La pérdida de hueso alveolar puede ocurrir antes de la extracción del diente debido a la enfermedad periodontal, patología periapical o traumatismo en los dientes y el hueso. El daño a los tejidos óseos durante los procedimientos de extracción de los dientes también puede resultar en la pérdida de hueso. Otras posible causa es la atrofia del hueso alveolar después de la extracción de un diente. Un volumen suficiente de hueso alveolar y una arquitectura favorable de la cresta alveolar son esenciales para obtener una reconstrucción protésica funcional y estética ideal después de la terapia de implantes [58]. La regeneración ósea guiada (ROG) y la regeneración tisular guiada (RTG) son procedimientos quirúrgicos odontológicos que utilizan membranas de barrera para dirigir

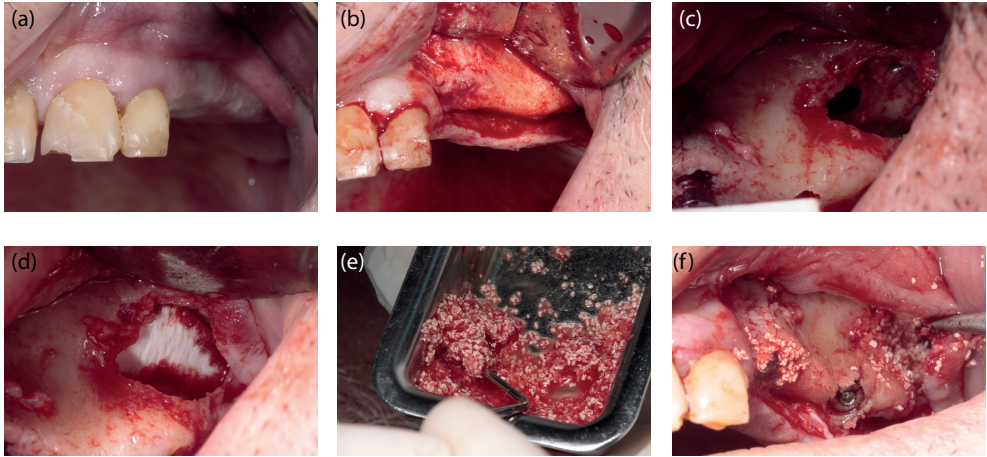
el crecimiento de nuevo hueso y tejido periodontal en sitios con volúmenes o dimensiones de hueso o periodonto insuficientes para el funcionamiento adecuado, la estética o la restauración protésica.

#### ***2.2.4 Regeneración ósea guiada por elevación del seno***

Los implantes dentales requieren un volumen de hueso suficiente para lograr estabilidad y durabilidad. La pérdida de dientes afecta la calidad y el grosor del hueso [58]. En los casos en los que el volumen óseo es insuficiente, se aplican las técnicas de regeneración ósea guiada (ROG) [58]. En particular, la ROG por procedimientos de aumento del suelo del seno maxilar se utilizan desde hace 50 años, y fueron propuestos por primera vez por Tatum, que comenzó a utilizar la técnica en 1974. La descripción del procedimiento se publicó una década después [59]. Esta operación se realiza debido a que tras la pérdida del diente, el tamaño del hueso decrece y el seno maxilar ocupa la zona ósea. Es un procedimiento quirúrgico que tiene como objetivo aumentar la cantidad de hueso en la zona posterior del maxilar superior, en el área de los dientes premolares y molares. Se realiza un acceso al interior del seno mediante una ventana lateral realizada en la pared ósea facial, se levanta la membrana de Schneider o membrana del seno, en el caso de existir alguna pequeña perforación, se coloca una membrana reabsorbible, Fig. 2.4 (d), que selle la perforación y se inserta un injerto de hueso, véase la Fig. 2.4 (e,d). La ventana se recubre con una membrana de lenta reabsorción de pericardio o colágeno.

Existen distintos tipos de injertos, que se clasifican por el tipo de material. Estos materiales sirven de andamio sobre el cual se va a regenerar el hueso nuevo.

- **Autólogos.** El donante y el receptor son la misma persona. Existe poco riesgo de rechazo.
- **Alloinjertos.** El donante y el receptor son genéticamente distintos, pero pertenecen a la misma especie. Existe riesgo de rechazo,
- **Xenoinjertos.** El donante y el receptor tienen una composición genética no idéntica y pertenecen a diferentes especies. Injertos de hueso animal. Existe riesgo de rechazo.
- **Sintéticos.** Los materiales son sintetizados en un laboratorio (cerámicas, fosfatos cálcicos...). Existe un riesgo mínimo de rechazo.



**Figura 2.4:** Operación de regeneración ósea guiada por levantamiento del seno. (a) Boca del paciente. (b) Colgajo del paciente. (c) Ventana lateral en la zona del seno maxilar. (d) Colocación de la membrana de pericardio. (e) Material utilizado para la ROG. (f) Colocación del injerto óseo.

El objetivo del aumento del seno es injertar hueso extra en el seno maxilar para aumentar el hueso disponible y, así, soportar un implante dental. El proceso de regeneración ósea se completa aproximadamente entre 6 y 9 meses. Cuando se utiliza la técnica con injertos óseos, deben cumplirse los siguientes criterios:

1. La zona receptora debe tener un suministro de sangre satisfactorio.
2. Un buen contacto entre el hueso injertado y el lecho receptor.
3. Inmovilización absoluta del injerto.
4. Sellado de la mucosa perfecto para proporcionar un aislamiento completo de la cavidad oral.

El procedimiento puede fracasar [10] y pueden aparecer diferentes complicaciones postoperatorias, por ejemplo, crecimiento de tejido blando o fracaso de la generación de un hueso de correcta calidad y cantidad [60]. Los odontólogos esperan a que el proceso se complete satisfactoriamente y en algunos casos utilizan técnicas radiológicas de rayos X para evaluar el proceso de regeneración ósea [61]. Sin embargo, la monitorización del proceso de regeneración completo mediante estas técnicas implica riesgos potenciales, como la exposición excesiva a radiación ionizante [61, 62]. Por este motivo en los siguientes capítulos

vamos a estudiar las posibilidades de la técnica ultrasónica de eco impulso para la monitorización de los procesos de ROG.

# Propagación de ultrasonidos en tejidos odontológicos

---

En este capítulo se presentan los fundamentos básicos de los ultrasonidos y la técnica no destructiva que se utilizará para la caracterización de los tejidos odontológicos: técnica de eco impulso. La señal de eco procedente del tejido sometido a estudio es capturada y procesada con el fin de obtener la velocidad de propagación de las ondas y los parámetros de retrodispersión del medio. Finalmente, se incluye una revisión bibliográfica de los sistemas ultrasónicos utilizados en odontología.

### 3.1 Fundamentos de los ultrasonidos

Los ultrasonidos son oscilaciones mecánicas en tiempo y espacio que ocurren en medios materiales (fluidos y sólidos). Se propagan a frecuencias por encima del rango de audición humana (convencionalmente 20 kHz) [63]. La ecuación de onda describe un movimiento ondulatorio general. Si elegimos el eje X de un sistema de coordenadas cartesianas como dirección de propagación, la ecuación de propagación de una onda plana viene definida por:

$$\frac{\delta^2 p}{\delta x^2} = \frac{1}{c^2} \frac{\delta^2 p}{\delta t^2}, \quad (3.1)$$

Su solución general es:

$$p(x, t) = F(x - ct) + G(x + ct), \quad (3.2)$$

Donde  $F$  y  $G$  denotan funciones arbitrarias con segundas derivadas existentes. El primer término del lado derecho de la ecuación describe una perturbación de presión que viene dada por  $F(x)$  en el momento  $t = 0$  y que a partir de ese momento se desplaza con velocidad  $c$  hacia valores crecientes de  $x$  sin cambiar su fuerza y forma. La relación entre la presión sonora ( $p$ ) y la velocidad de las partículas ( $v_x$ ) en una onda plana que se propaga en la dirección  $x$  positiva es conocida como su impedancia característica y se define con la siguiente ecuación:

$$\frac{p}{v_x} = \rho_0 c = Z_0, \quad (3.3)$$

Donde  $\rho_0$  es la densidad y  $c$  es la velocidad del sonido.

Si consideramos el caso de las ondas armónicas. En el caso de las ondas progresivas planas  $F$  se especifica como una función seno o coseno y  $G = 0$ . Aunque solo sea por razones dimensionales, tenemos que introducir dos constantes  $A$  y  $k$ , obteniendo la siguiente ecuación:

$$p(x, t) = A \cos k(x - ct) = A \cos(\omega t - kx), \quad (3.4)$$

Donde  $A$  es la amplitud de la presión sonora que fluctúa armónicamente y  $k$  es el número de onda.  $\omega$  es la frecuencia angular que viene definida por:

$$\omega = kc = 2\pi f, \quad (3.5)$$

Donde  $f$  es la frecuencia en hercios (Hz).

Como la función coseno tiene un periodo de  $2\pi$ , existe una distancia recorrida por la onda tras la cual se repiten los valores de presión. Esta distancia se denomina longitud de onda y viene dada por:

$$\lambda = \frac{2\pi}{k}, \quad (3.6)$$

Además, la longitud de onda por la frecuencia determinan la velocidad  $c$ .

$$\lambda f = c, \quad (3.7)$$

Si expresamos la notación compleja de las ondas armónicas, obtenemos la siguiente ecuación:

$$p(x, t) = Ae^{i(\omega t - kx)}, \quad (3.8)$$

Las ondas planas sufren una disminución exponencial de la amplitud al aumentar la distancia, así que si se tienen en cuenta las pérdidas, la ecuación sería la siguiente:

$$p(x, t) = Ae^{-\alpha x} e^{i(\omega t - kx)}, \quad (3.9)$$

Donde  $\alpha$  es el coeficiente de atenuación.

Cuando se trata de la propagación en sólidos la complejidad de las ecuaciones aumenta y aparecen una mayor variedad de tipos de ondas. La longitudinal, donde el desplazamiento a través del medio material se produce en la dirección paralela a la vibración de las partículas, puede propagarse en todo tipo de materiales (sólidos, líquidos y gases), la energía es transferida a través de la compresión y expansión del medio. La onda transversal o de cizallamiento, solo se propaga en sólidos, donde el desplazamiento de las partículas se produce en la dirección perpendicular a la dirección de la propagación de la onda. Y por último la de superficie o Rayleigh, que es una superposición de onda longitudinal y transversal, formando una órbita elíptica en el desplazamiento de partículas. Si consideramos sólidos isótropos y homogéneos, se puede derivar un sistema de tres ecuaciones diferenciales parciales simultáneas, que sustituyen a la ecuación de onda. En coordenadas cartesianas, estas ecuaciones son:

$$\begin{aligned}
 \mu\Delta\xi + (\mu + \lambda)\frac{\delta\phi}{\delta x} &= \rho_0\frac{\delta^2\xi}{\delta t^2}, \\
 \mu\Delta\eta + (\mu + \lambda)\frac{\delta\phi}{\delta y} &= \rho_0\frac{\delta^2\eta}{\delta t^2}, \\
 \mu\Delta\zeta + (\mu + \lambda)\frac{\delta\phi}{\delta z} &= \rho_0\frac{\delta^2\zeta}{\delta t^2},
 \end{aligned}
 \tag{3.10}$$

Donde  $\mu$  y  $\lambda$  son las constantes elásticas también llamadas constantes de Lamé (no confundir con la longitud de onda  $\lambda$ ), y  $\xi$ ,  $\eta$  y  $\zeta$  son las componentes del vector de desplazamiento de las ondas. A partir de estas ecuaciones, la velocidad de propagación de la onda longitudinal  $c_L$  se calcula de la siguiente forma:

$$c_L = \sqrt{\frac{2\mu + \lambda}{\rho_0}},
 \tag{3.11}$$

Y la velocidad de propagación para una onda transversal  $c_T$  es:

$$c_T = \sqrt{\frac{\mu}{\rho_0}},
 \tag{3.12}$$

Las constantes elásticas  $\mu$  y  $\lambda$  también se pueden calcular a partir de el Módulo de Young  $E$  y el coeficiente de Poisson  $\nu$ :

$$\mu = \frac{1}{2} \frac{E}{1 + \nu},
 \tag{3.13}$$

$$\lambda = \frac{E}{(1 + \nu)(1 - 2\nu)},
 \tag{3.14}$$

Además la relación de la velocidad de propagación longitudinal y la velocidad de propagación transversal se puede calcular a partir del coeficiente de Poisson:

$$\frac{c_L}{c_T} = \sqrt{\frac{2(1 - \nu)}{1 - 2\nu}},
 \tag{3.15}$$



### 3.1.1 Reflexión y refracción

La reflexión y la refracción son fenómenos ondulatorios que se producen en la frontera entre dos medios con diferentes propiedades acústicas. Si la superficie es lisa, parte de la onda acústica se refleja de forma especular, mientras que, en el caso de superficies rugosas, las reflexiones son difusas [64]. La reflexión constituye la base de la imagen ultrasónica de eco impulso (ecografía) y permite la formación de imágenes que muestran los límites de los órganos.

En un caso sencillo, bajo condiciones de propagación de una onda plana y una interfaz de dos medios líquidos con propiedades acústicas distintas, si la onda incide en una interfaz plana lisa (reflexión especular), se genera una onda reflejada y otra transmitida, ambas longitudinales. El ángulo de reflexión  $\theta_1$  y el de refracción  $\theta_2$  vienen descritos según la ley de Snell:

$$\frac{\sin\theta_1}{c_1} = \frac{\sin\theta_2}{c_2} \quad (3.16)$$

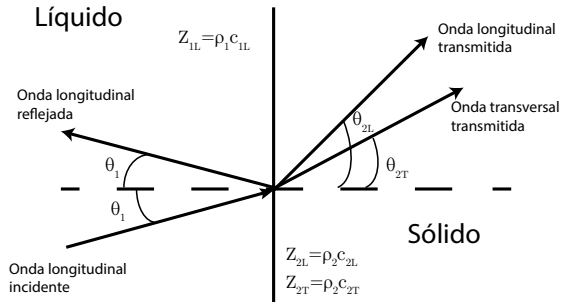
Donde  $c_1$  y  $c_2$  son las velocidades de propagación de los dos medios respectivamente. Además, los índices de reflexión  $R$  y de transmisión  $T$  vienen definidos por las siguientes ecuaciones:

$$\begin{aligned} R &= \left( \frac{Z_2 \cos\theta_1 - Z_1 \cos\theta_2}{Z_2 \cos\theta_1 + Z_1 \cos\theta_2} \right)^2 \\ T &= \frac{4Z_1 Z_2 \cos^2\theta_1}{(Z_2 \cos\theta_1 + Z_1 \cos\theta_2)^2}, \end{aligned} \quad (3.17)$$

Siendo  $Z_1$  y  $Z_2$  la impedancia acústica de los distintos medios.

Para el caso particular de incidencia normal ( $\theta_1 = 0^\circ$ ), las ondas reflejadas y transmitidas son normales ( $\theta_2 = 0^\circ$ ) a la interfaz de ambos líquidos. En el caso en que las propiedades acústicas entre dos medios sean distintos, (tejido blando-hueso cortical), cuando el ultrasonido llega a una interfaz de hueso cortical en incidencia normal, aproximadamente entre el 25 % y el 50 % de la energía incidente se transfiere a la onda reflejada y sólo entre el 75 % y el 50 % a la onda incidente longitudinal es refractada [65]. En la figura 3.1 podemos ver una representación sencilla de los fenómenos de reflexión y transmisión para una interfaz líquido-sólido. Como hay un medio sólido en transmisión, se genera una onda transversal además de la onda longitudinal.

En el contexto de esta tesis doctoral, resulta conveniente distinguir las interfaces fluido-fluido como la discontinuidad entre dos tejidos blandos (músculos, piel...) y las interfaces fluido-sólido, que representan el límite entre el tejido blando y el hueso cortical. La interacción entre la ecografía y el hueso trabecular es más complicada, ya que éste es un hueso poroso compuesto por tejido óseo trabeculado, donde parte de la onda acústica se refleja de manera difusa. Mediante los fenómenos acústicos de dispersión, que se explican en la sección 3.1.2, podemos describir cómo interactúa una onda acústica con un hueso trabecular.



**Figura 3.1:** Reflexión y transmisión entre un fluido y un sólido.

### 3.1.2 Difracción y dispersión

Los fenómenos de dispersión acústica son el resultado de la interacción entre una onda ultrasónica y las inhomogeneidades del medio por el que se propaga. Cuando el elemento que produce la dispersión está localizado, se le denomina dispersor. El movimiento oscilatorio del dispersor es diferente al del medio circundante, lo que da lugar a la emisión de una onda secundaria denominada onda dispersa [65]. La dispersión acústica puede ocurrir en medios fluidos, sólidos o viscosos. Cuando una onda acústica se propaga por un fluido e interacciona con algún obstáculo, se generan ondas dispersas cuyas características acústicas dependen de las propiedades del objeto, la composición, forma y dimensiones en relación con la longitud de onda.

Atendiendo a la densidad del dispersor pueden clasificarse como:

- **Dispersor fluido.** Cuando la densidad del dispersor es mucho menor a la del medio de propagación, por ejemplo burbujas de aire en agua.
- **Dispersor sólido.** Cuando la densidad del dispersor es mayor a la del medio, por ejemplo, un hueso cortical en tejido blando.

- **Dispersor viscoso.** Cuando la densidad del dispersor es similar a la del medio de propagación. Como es el caso de los órganos o los músculos en tejido blando.

En el caso en que la propagación de los ultrasonidos interactúe con un dispersor sólido, pueden ocurrir dos situaciones distintas. En el primer caso, toda la energía se refleja. En el segundo caso, parte de la energía se transmite al interior del dispersor y se propaga como ondas superficiales, transversales y longitudinales. El dispersor sólido actúa, por tanto, como una nueva fuente acústica.

La intensidad de dispersión de los tejidos blandos es generalmente menor que la intensidad reflejada de forma especular por los límites de los órganos. Sin embargo, al igual que la reflexión especular, esos eventos de dispersión son de importancia primordial para la formación de imágenes y para evaluar las propiedades microestructurales del medio [65]. En las imágenes de ultrasonido de tejidos blandos, la dispersión causa un aspecto granulado o ecoestructura, también denominado ruido *speckle* [66]. En el tejido blando, los valores típicos de la densidad y la compresibilidad de los dispersores son próximos a los del medio circundante. Por lo tanto, la contribución de la dispersión a la atenuación general es relativamente pequeña. En el rango de MHz, la atenuación por dispersión en el tejido blando es típicamente entre el 10 % y el 15 % de la atenuación total [65]. En contraste, en tejidos duros como el hueso, la dispersión es un importante mecanismo de atenuación [65, 67].

La utilización de técnicas basadas en el estudio de la dispersión es importante porque puede explicar mecanismos responsables de la atenuación [67] y de la dispersión de la velocidad [68]. La dispersión ultrasónica se produce predominantemente en el hueso trabecular en comparación con el hueso cortical. El hueso trabecular puede considerarse como un medio de dispersión altamente no homogéneo. Se trata de un medio similar al tejido blando, compuesto por la médula ósea, que contiene una matriz sólida (como el colágeno mineralizado) de elementos trabeculares interconectados con un grosor medio que va de 50  $\mu\text{m}$  a 150  $\mu\text{m}$  [65].

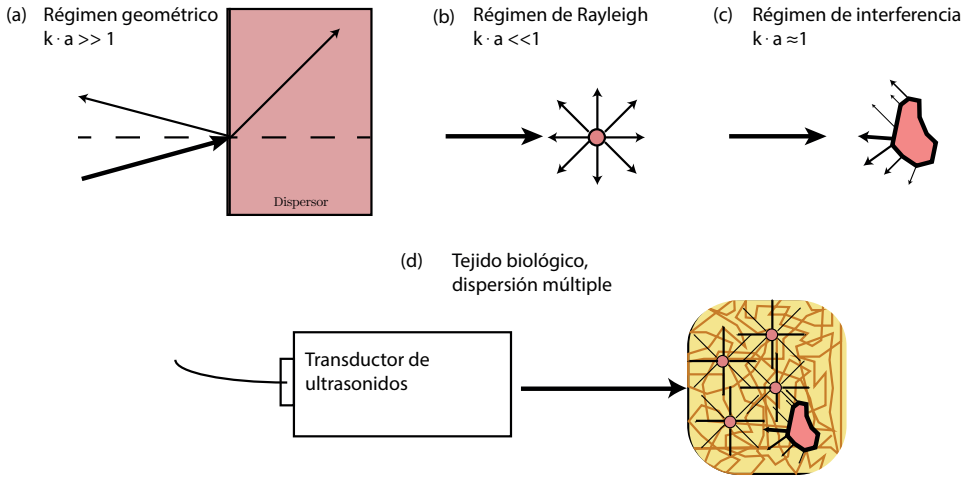
Como se ha comentado anteriormente, la dispersión acústica depende principalmente de la relación entre la dimensión del objeto y la longitud de onda. Se identifican tres regímenes dependiendo del valor del parámetro adimensional  $k \cdot a$ , siendo  $k$  el número de onda y  $a$  la dimensión característica del objeto dispersor.

- **Régimen geométrico** ( $k \cdot a \gg 1$ ). Para longitudes de onda pequeñas comparadas con el tamaño del dispersor, los efectos de difracción son menores. En este caso, se aplica la teoría de rayos en la que se considera únicamente la reflexión especular. (Véase la figura 3.2 (a)).
- **Régimen de Rayleigh** ( $k \cdot a \ll 1$ ). Los dispersores tienen dimensiones mucho menores que la longitud de onda. En estas condiciones, las posibles reflexiones producidas por los dispersores no producen ningún efecto de interferencia notable ya que las diferencias entre las fases de cada reflexión no son significativas. Si los dispersores presentan una densidad igual a la del medio y distinta compresibilidad, el dispersor reacciona al paso de la onda sonora expandiéndose y comprimiéndose en fase opuesta al medio. Como consecuencia de ello, se produce una reemisión de ondas en todas direcciones, originando una radiación de tipo monopolo. (Véase la figura 3.2 (b)).
- **Régimen de interferencia** ( $k \cdot a \approx 1$ ). El dispersor tiene dimensiones del orden de la longitud de onda. Se incrementa la cantidad de energía reflejada especularmente sumada a efectos de difracción, produciendo interferencias constructivas y destructivas. (Véase la figura 3.2 (c)).

Cuando se trata de tejidos biológicos existen múltiples fuentes de dispersión dependiendo del tipo de dispersor con el que se encuentre la onda de ultrasonidos. En la figura 3.2 (d) se muestra esquemáticamente cómo las ondas de ultrasonidos interactúan con distintos tipos de dispersores, generando una dispersión múltiple.

### 3.1.3 Propiedades acústicas de los tejidos

Las propiedades acústicas de los medios elásticos con pérdidas se pueden describir en régimen lineal por medio de dos parámetros característicos: la impedancia acústica y el coeficiente de atenuación. La impedancia acústica depende de la densidad de masa volumétrica del medio y de la velocidad del sonido en el medio. La velocidad del sonido depende del módulo de elasticidad (o Módulo de Young), el coeficiente de Poisson y la densidad de masa volumétrica. Las propiedades acústicas de los tejidos biológicos dependen de su contenido de colágeno y minerales [65, 69]. La atenuación resulta principalmente de la dispersión, la reflexión, la absorción y la propagación del haz [63, 70]. A continuación se presenta en la tabla 3.1 un resumen de las propiedades acústicas de los tejidos biológicos, con los órdenes de magnitud de las densidades, velocida-



**Figura 3.2:** Relación entre las dimensiones del objeto y la longitud de onda para (a) Régimen geométrico, (b) Régimen de Rayleigh (c) Régimen de interferencia. (d) Esquema de una interacción de ultrasonidos con un tejido biológico donde se genera una dispersión múltiple

des de sonido e impedancias acústicas de los diferentes tejidos que se tratarán durante la tesis doctoral.

#### 3.1.4 Técnica de eco impulso

La técnica de eco impulso es un método de medida en el que se utiliza un solo transductor tanto para emitir como para registrar la señal ultrasónica de eco. (ver figura 3.3, (a)). Éste emite un pulso acústico o un tren de ondas cortas en el medio a inspeccionar y captura las ondas acústicas que son reflejadas por el medio o por sus heterogeneidades [63]. Es la técnica más común en inspecciones médicas. Llamamos eco a la parte de la señal que se refleja hacia el transductor cuando el pulso encuentra un obstáculo con distintas propiedades acústicas. Existen otros tipos de medidas ultrasónicas, como las que se realizan en modo emisión recepción, donde el emisor y el receptor están separados por el medio que se pretende inspeccionar (ver Fig. 3.3, (b)). En ambos casos, la velocidad y la atenuación del sonido pueden obtenerse midiendo la variación de la amplitud de la onda y el tiempo de vuelo, es decir, el tiempo que tarda la onda en recorrer la distancia entre emisor y receptor.

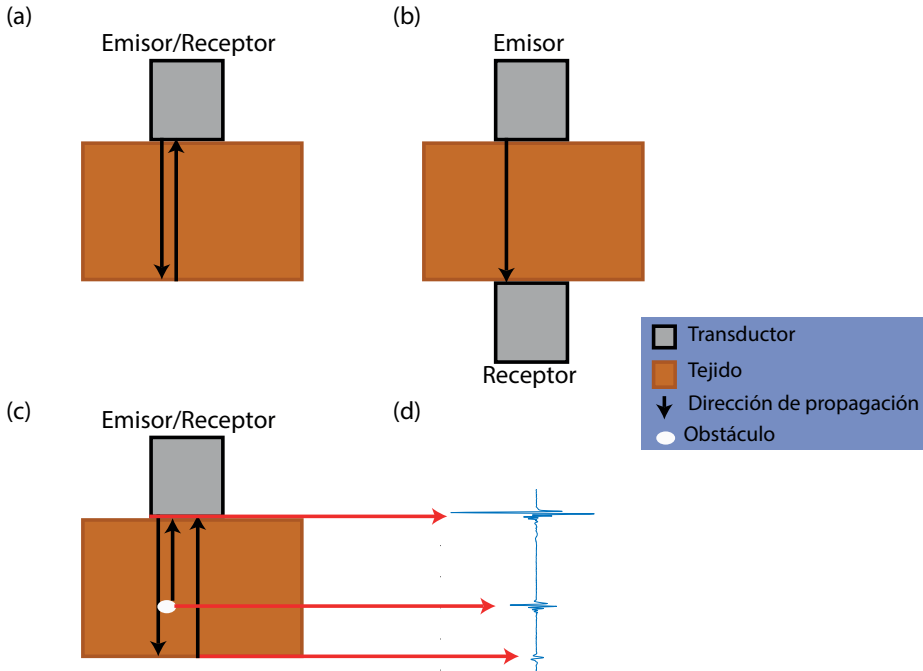
**Tabla 3.1:** Valores típicos de la densidad de masa, la velocidad del sonido y la impedancia acústica característica en diferentes tejidos biológicos para temperaturas en el rango entre 20°C y 37°C. Estos valores son sólo indicativos del orden de magnitud, debido a la gran variabilidad biológica [65, 69] .

Tejido	$\rho$ (Kg/m <sup>3</sup> )	$c_l$ (m/s)	$c_s$ (m/s)	Z (MRayls)
Agua	1	1480	-	1480
Hueso cortical	1850	3000-4000	1800	4000-8000
Hueso trabecular	640	1450-1800	1100-1400	1540-2200
Esmalte	3000	6250	3100	18800
Dentina	2000	3800	1900	7600
Pulpa	1000	1570	800	1570
Encía	-	1540	-	630
Grasa	-	1450	-	1380
Músculo	-	1550-1630	-	1650-1740
Piel	-	1600	-	1700

$\rho$  = Densidad de la masa volumétrica,  $c_l$  = Velocidad de onda longitudinal,  $c_s$  = Velocidad de onda transversal y Z = Impedancia acústica específica.

### A-scan

El modo A-Scan, (de las palabras inglesas Amplitude Scan), es un modo de representar las señales de ultrasonido registradas con la técnica de eco impulso. El tiempo que pasa desde que el transductor emite el pulso hasta que recibe la onda acústica producida por un dispersor es proporcional a la profundidad del medio que se está inspeccionando. La información recibida es representada en gráficas con el valor de las amplitudes de los ecos recibidos en el eje de ordenadas y el tiempo que tarda el pulso emitido en recorrer el medio que se está inspeccionando en el eje de abscisas. En la Fig. 3.3 (c) se muestra un ejemplo de la representación A-scan donde se está inspeccionando un medio que tiene un dispersor. La señal muestra tres ecos: el primer eco se corresponde con la interfaz transductor-medio, el segundo eco se corresponde con el dispersor y el tercer eco corresponde al fondo del medio inspeccionado. A partir de la imagen A-scan de la Fig. 3.3 (d), se extrae información de las propiedades acústicas del medio que se está representando. Si este es conocido se puede



**Figura 3.3:** (a) Técnica de eco impulso. (b) Modo emisión recepción. (c) Técnica de eco impulso con obstáculo. (d) Modo A-scan.

calcular la distancia a la que se encuentra el dispersor interno utilizando el tiempo de vuelo y la velocidad de propagación.

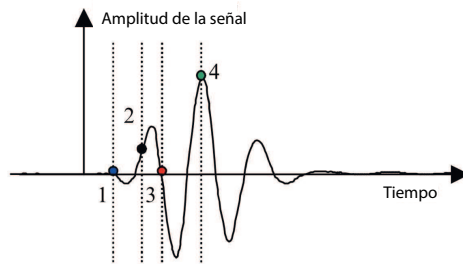
### *Velocidad del sonido*

La velocidad del sonido, (se define en la literatura científica mediante la letra  $c$  o también SOS, de sus siglas en inglés), es uno de los parámetros más utilizados por los ensayos no destructivos por ultrasonidos [65]. Consiste en estimar la velocidad de propagación efectiva de una excitación pulsada en un medio. Si suponemos que la velocidad es independiente de la frecuencia, se puede calcular a partir de dos medidas del tiempo de vuelo y el espesor de la muestra, mediante la ecuación:

$$SOS = \frac{2h}{\Delta t} \quad (3.18)$$

Siendo  $c$  la velocidad de propagación,  $h$  el espesor de la muestra y  $\Delta t$  el tiempo de vuelo. En la técnica de eco impulsivo, la distancia recorrida por el pulso en la propagación es el doble del espesor de la muestra, ya que la onda realiza el viaje de ida y el de vuelta.

Para estimar el tiempo de vuelo hay que definir un punto común en cada pulso recibido por el transductor. Existen varios criterios a la hora de determinar este punto. En la Fig. 3.4 se observan varios ejemplos: el primer punto de la señal que se desvía de la base, un umbral fijo del flanco ascendente de la señal, el primer punto que cruza por cero o el pico máximo de la señal. Como la forma de la señal varía al propagarse a través de distintos tejidos biológicos, la envolvente de la señal recibida puede diferir considerablemente de la señal de referencia. Utilizar la envolvente puede resultar en un error si se utiliza para evaluar el tiempo asociado al pulso [71, 72].



**Figura 3.4:** Criterios utilizados para estimar el inicio de la señal del pulso en el cálculo del tiempo de vuelo (1) Primera desviación de la base. (2) Umbral fijo. (3) Primer cruce por cero. (4) Máximo. Fuente: Figura modificada de [65].

### 3.1.5 Parámetros de retrodispersión

La retrodispersión (backscattering en inglés) es un fenómeno físico en el cual las ondas que inciden en un material en un ángulo determinado son reflejadas en el mismo ángulo, volviendo a la fuente que las produjo [73]. Existen diferentes parámetros para evaluar la retrodispersión que generan los tejidos óseos. Se van a presentar los parámetros más utilizados en la literatura.

El coeficiente de retrodispersión se utiliza para cuantificar las propiedades de dispersión de los tejidos biológicos. Se define como la sección transversal de dispersión diferencial por unidad de volumen para un ángulo de dispersión de  $180^\circ$  [74]. A partir de este coeficiente se calculan distintos parámetros.

El parámetro denominado retrodispersión ultrasónica de banda ancha (BUB del inglés Broadband Ultrasonic Backscatter) es el coeficiente de retrodispersión promediado en frecuencia y se mide en dB [75, 76]. Se calcula a partir de la señal procedente de la zona de interés, la zona donde está la información que



se desea analizar y de una señal de referencia procedente de un reflector plano. Además, se compensa la atenuación. La ecuación para el calculo del BUB es la siguiente:

$$\text{BUB} = \frac{1}{\Delta f} \int_{f_1}^{f_2} 10 \log_{10} \left( \left( \frac{A_{bs}(f)}{A_{\text{ref}}(f)} \right) + \beta \right) df, \quad (3.19)$$

donde  $A_{bs}(f)$  es la potencia espectral de una señal de retrodispersión  $a_{bs}(t)$  y  $A_{\text{ref}}(f)$  es la potencia espectral del primer eco en un reflector plano de referencia,  $\Delta f = f_2 - f_1$ , donde las frecuencias  $f_1$  y  $f_2$  están definidos por el ancho de banda a -6 dB del sistema ultrasónico y  $\beta$  es el parámetro adimensional de compensación de la atenuación.

Para el calculo de  $\beta$  se pueden aplicar diferentes funciones según la literatura. Para ello, es necesario conocer la atenuación dependiente de la frecuencia  $\alpha$  y la velocidad del sonido  $c$  de la pieza en inspección. O'Donnel y Miller [77] propusieron la siguiente ecuación:

$$\beta_{OM} = e^{4 \cdot \alpha \cdot x_0} \left( \frac{2 \cdot \alpha \cdot c \cdot t_w}{e^{\alpha \cdot c \cdot t_w} - e^{-\alpha \cdot c \cdot t_w}} \right), \quad (3.20)$$

donde  $t_w$  es la longitud de la ventana temporal de retrodispersión. La compensación de O'Donnel y Miller se formula a partir de la estimación del volumen que contiene dispersores cilíndricos distribuidos aleatoriamente.

Nicholson y Bouxsein [78] aplicaron una función de compensación combinando la atenuación medida  $\alpha$ , la velocidad del sonido  $c$  y la longitud de la ventana de tiempo  $t_w$  de la siguiente manera:

$$\beta_{NB} = \frac{\alpha c t_w}{2}, \quad (3.21)$$

No existe una expresión matemática única para la compensación de la atenuación en un tejido biológico. Las dos funciones presentadas se han utilizado en medidas de hueso trabecular [79, 80].

En todos los casos, la compensación de la atenuación requiere un conocimiento previo del coeficiente de atenuación y de la velocidad del sonido en el tejido, lo que dificulta la aplicación del BUB desde el punto de vista clínico. En cam-

bio existen otros parámetros de retrodispersión que, a diferencia de BUB, no requieren compensación de la atenuación, lo que los hace más adecuados para las medidas in vivo.

Muchas técnicas de retrodispersión ultrasónica se basan en medidas de la función de transferencia de retrodispersión aparente (ABTF del inglés Apparent Backscatter Transfer Function) [81, 82, 83]. El término aparente se refiere al hecho de que la señal retrodispersada no se compensa por los efectos de la atenuación, como ocurre con el BUB. A diferencia de las medidas basadas en el coeficiente de retrodispersión, los parámetros basados en la retrodispersión aparente pueden medirse mucho más fácilmente in vivo utilizando un único transductor. El parámetro ABTF representa la potencia de retrodispersión de la muestra corregida por la respuesta en frecuencia del sistema de medida. El análisis se realiza utilizando una ventana de retardo con tiempo de duración  $\tau_d$  para no considerar la parte de la señal que no corresponde a la zona de interés, y una ventana con tiempo de duración  $\tau_w$  para analizar únicamente la zona de interés. Se calcula la potencia espectral de la zona de interés y la potencia espectral de un reflector plano que se utiliza como señal de referencia. ABTF viene dada por la ecuación:

$$\text{ABTF} = 10 \log_{10} \left( \frac{A_{bs}(f)}{A_{\text{ref}}(f)} \right), \quad (3.22)$$

donde  $A_{bs}(f)$  es la potencia espectral de una señal de retrodispersión  $a_s(t)$  usando una ventana de tiempo de duración  $\tau_w$ , y  $A_{\text{ref}}(f)$  es la potencia espectral del primer eco en un reflector plano de referencia, por ejemplo, una placa de acero [83].

A partir de esta ecuación 3.22, se obtienen los siguientes parámetros. La retrodispersión integrada aparente (AIB del inglés Apparent Integrated Backscatter) se calcula como el promedio en frecuencia del ABTF:

$$\text{AIB} = \frac{1}{\Delta f} \int_{f_1}^{f_2} \text{ABTF}(f) df, \quad (3.23)$$

donde  $\Delta f = f_2 - f_1$ , y  $f_1$  y  $f_2$  están definidos por el ancho de banda a -6 dB del sistema ultrasónico.

La pendiente de la frecuencia de la retrodispersión aparente (FSAB del inglés Frequency Slope of Apparent Backscatter) se determina mediante un ajuste lineal en el dominio de la frecuencia al parámetro ABTF, sobre el ancho de banda de análisis [81].

El espectro de diferencia de retrodispersión  $D(f)$  se obtiene a partir de una señal medida en un tejido, analizando dos ventanas temporales consecutivas en la zona de interés. El uso de este parámetro permite eliminar la necesidad de utilizar una señal de referencia, y viene definido por la ecuación:

$$D(f) = 10 \log_{10} \left( \frac{A_{bs1}(f)}{A_{bs2}(f)} \right), \quad (3.24)$$

donde  $A_{bs1}(f)$  es la potencia espectral de una señal de retrodispersión  $a_{bs1}(t)$  usando una ventana de tiempo de duración  $\tau_{w1}$ , y  $A_{bs2}(f)$  es la potencia espectral de una señal de retrodispersión  $a_{bs2}(t)$  usando una ventana de tiempo de duración  $\tau_{w2}$  [82].

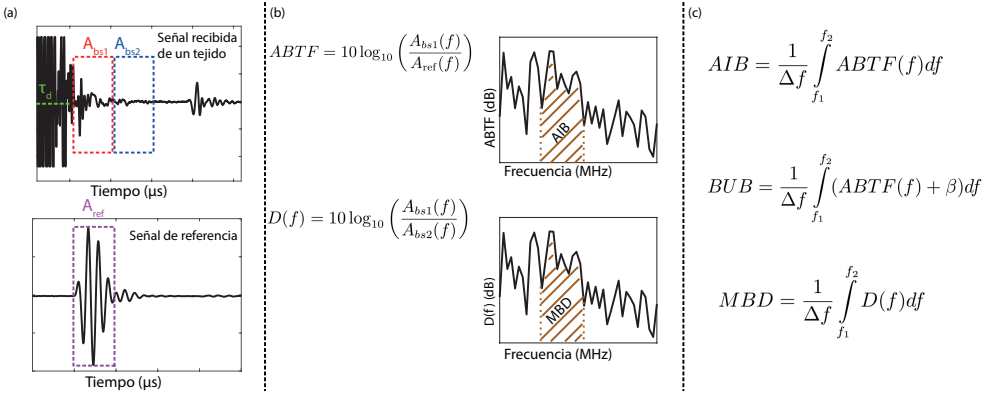
A partir del espectro de diferencia se determina el parámetro promedio del espectro de diferencia de retrodispersión (MBD del inglés Mean of Backscatter Difference spectrum) que se obtiene promediando la frecuencia de la diferencia entre el espectro de retrodispersión a lo largo del ancho de banda de análisis de dos ventanas diferentes de la señal ultrasónica, y viene definido por la siguiente ecuación:

$$MBD = \frac{1}{\Delta f} \int_{f_1}^{f_2} D(f) df, \quad (3.25)$$

donde  $\Delta f = f_2 - f_1$ , y  $f_1$  y  $f_2$  están definidos por el ancho de banda a -6 dB del sistema ultrasónico.

En la figura 3.5 se presentan las definiciones y la interpretación gráfica de los parámetros más utilizados y las ecuaciones que los definen.

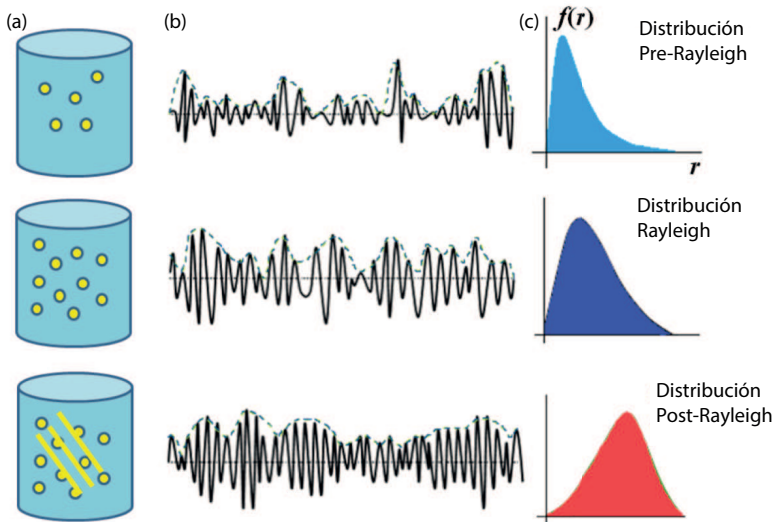
Los parámetros definidos anteriormente se basan en el análisis espectral de la señal de retrodispersión registrada por el sistema ultrasónico. Existen otros parámetros basados en modelos estadísticos como el de Nakagami [84], en el que se analiza la envolvente de la señal de retrodispersión para calcular parámetros basados en la densidad de probabilidad de la señal envolvente. El parámetro  $m$  de Nakagami, calculado a partir de la densidad de probabilidad de la envolvente



**Figura 3.5:** Esquema para el cálculo de parámetros de retrodispersión. (a) En la parte de arriba se observa una señal obtenida a partir de un tejido biológico, en verde se señala el tiempo de retardo para seleccionar la ventana de análisis  $\tau_d$ , en rojo vemos la ventana de análisis de backscatter  $A_{bs1}$ , en azul la ventana de análisis de la señal de backscatter  $A_{bs2}$ , en la parte inferior, la señal de referencia y la ventana de análisis  $A_{ref}$ , en (b) las ecuaciones para el cálculo de ABTF y  $D(f)$ , en la parte superior una representación del resultado de ABTF y de AIB, en la parte inferior una representación de  $D(f)$  y de MBD, en (c) las ecuaciones que describen AIB, BUB y MBD.

de la señal de retrodispersión, se utiliza para describir la distribución estadística de los dispersores. La variación del parámetro de Nakagami de 0 a 1 indica cambios de las distribuciones pre-Rayleigh a Rayleigh, cuando el parámetro supera el valor 1 se denomina distribución post-Rayleigh. En la figura 3.6, se explican esquemáticamente los distintos modelos de distribución Rayleigh a partir de los parámetros de Nakagami.

La estadística de la envolvente retrodispersada sigue la distribución de Rayleigh cuando la muestra contiene un gran número de dispersores distribuidos aleatoriamente. Si contiene dispersores que tienen secciones transversales de dispersión que varían aleatoriamente con un grado de varianza comparativamente alto, las estadísticas de la envolvente son distribuciones pre-Rayleigh. Si la muestra contiene dispersores localizados periódicamente además de dispersores distribuidos aleatoriamente, las estadísticas de la envolvente son distribuciones post-Rayleigh [85].



**Figura 3.6:** Modelos de distribución Rayleigh a partir del cálculo de parámetros de Nakagami. En (a) diferentes bloques con distintos tipos de resolución de dispersores, en (b) señales de retrodispersión ultrasónica con la envolvente punteada y en (c) distribuciones estadísticas según parámetros de Nakagami. Figura modificada de [86].

### 3.2 Ultrasonidos en odontología

Los ultrasonidos son conocidos por su utilización como herramienta de diagnóstico médico en distintas especialidades médicas como la reumatología, ginecología o cardiología entre otras. Cuando se trata de odontología los ultrasonidos suelen asociarse a las puntas vibrantes, como los bisturís ultrasónicos o las herramientas para el raspado dental. Sin embargo, existen numerosos estudios de los ultrasonidos como herramienta de diagnóstico. Un claro ejemplo se encuentra en [87], donde se presenta una revisión de los progresos e investigaciones realizadas desde 1960 hasta la actualidad.

El primer uso de US de diagnóstico para aplicaciones dentales data de 1963. Baum et al. [88] utilizan un transductor de 15 MHz para obtener imágenes de la estructura interna del diente. Desde entonces, empiezan a aparecer diferentes estudios que vamos a agrupar en dos secciones: por una parte estudios de caracterización dental donde se exponen los parámetros acústicos de los tejidos dentales como la velocidad de propagación y los estudios realizados analizando la desmineralización dental y por otra parte estudios de caracterización ósea .

- **Tejidos dentales.** Las técnicas ultrasónicas se han utilizado ampliamente para la caracterización de los dientes durante las últimas décadas. Marotti et al, presentaron en 2013 un artículo en el que se describía y analizaba el uso de los ultrasonidos en varias esferas como la exploración dental, la detección de caries y la odontología de implantes, entre otras [89]. Las propiedades acústicas de los tejidos dentales han sido evaluadas por diferentes autores mediante técnicas ultrasónicas no invasivas. Diferentes autores midieron la velocidad de onda longitudinal en la dentina de los molares humanos obteniendo valores de 3317 a 4050 m/s en función del tipo de dientes [90, 91, 92, 93, 94, 95].

Watanabe et al. midieron la velocidad del sonido longitudinal y transversal para determinar el módulo elástico en la dentina humana mineralizada (17,4 GPa) y desmineralizada (1,46 GPa) [96]. Un estudio similar fue realizado por Yasuda et al. para dientes de bovino, obteniendo un módulo elástico de 16,9 GPa (mineralizado) y 2,1 GPa (desmineralizado) y una velocidad de 3675 m/s (mineralizado) y 1597 m/s (desmineralizado) [97]. Estos estudios muestran cuantitativamente que la dentina se comporta acústicamente como un tejido blando después de la desmineralización completa. Lees et al. usaron un sistema ultrasónico para monitorear continuamente el desarrollo de una capa desmineralizada debido al grabado por ácido clorhídrico [98]. Yamaguchi et al. realizaron un experimento en dientes de bovino para demostrar las capacidades de protección contra la desmineralización de la pasta de fosfato de calcio amorfo-fosfato de caseína y los resultados se supervisaron comparando los cambios en la velocidad de onda longitudinal [99, 100]. Un estudio similar fue realizado por Endo et al. para evaluar las capacidades de protección del desensibilizante de fosfato de calcio para prevenir la desmineralización [101]. Todos estos estudios han demostrado la hipótesis de que la concentración volumétrica de minerales en el tejido duro dental está relacionada con la velocidad de propagación de las ondas ultrasónicas.

- **Tejidos óseos.** Los tejidos óseos son un medio bifásico heterogéneo compuesto de una matriz viscoelástica porosa de escala múltiple, sólidos blandos y fluidos viscosos [65]. Por lo tanto, la propagación acústica a través de estos medios complejos es fuertemente dispersiva. La velocidad de propagación, dada como un valor único, debe interpretarse como un parámetro efectivo en lugar de un parámetro físico intrínseco localmente relacionado con las propiedades mecánicas del hueso. De hecho, tanto la velocidad de grupo, como la de fase en el hueso dependen de la frecuencia. Por ejemplo, en muestras de alta densidad de masa de huesos trabeculares de bovinos,

la velocidad de fase de los modos rápidos puede variar hasta 250 m/s en la gama de frecuencias de 0,5 MHz a 3 MHz [102], mientras que en muestras de huesos corticales de bovinos se ha observado una variación de la velocidad de fase de 20 m/s en la gama de frecuencias de 3,5 MHz a 4,5 MHz [68].

Se han aplicado técnicas que incluyen la transmisión axial de ultrasonidos, donde se evalúa la mineralización de los huesos como técnica de diagnóstico para la rehabilitación de fracturas [103]. En odontología, se ha propuesto la velocidad de transmisión de los ultrasonidos para evaluar la calidad del hueso antes de la implantación dental, donde se observaron valores de  $1538 \pm 177$  m/s para el maxilar femenino y  $1713 \pm 153$  m/s para la mandíbula femenina [13]. Los estudios clínicos incluyen el uso de ultrasonido cuantitativo para evaluar la pérdida de hueso mandibular, donde se encontró una buena correlación entre los valores de SOS, la densidad ósea alveolar y el nivel de fijación alrededor de los dientes en mujeres con periodontitis [104].

En las últimas décadas se ha propuesto la imagen ultrasónica convencional en odontología para tomar imágenes de las estructuras óseas alveolares de los dientes y sus morfologías [5, 87, 105, 106], o para detectar dientes fracturados, por ejemplo, utilizando la espectroscopia de ondas elásticas no lineales [107]. Sin embargo, estas técnicas no ofrecen índices cuantitativos sobre el hueso. Por el contrario, los ultrasonidos cuantitativos se han utilizado de manera fructífera para caracterizar las propiedades físicas del hueso. La tecnología para la estimación de la densidad ósea es hoy en día madura [65, 108, 109, 110]. Existen muchos dispositivos comerciales en el mercado utilizados para el diagnóstico de la osteoporosis, por ejemplo, para el calcáneo o la falange [111, 112]. Los parámetros acústicos y elásticos están correlacionados con las propiedades físicas del hueso para fines de diagnóstico.

Es importante tener en cuenta la retrodispersión cuando los ultrasonidos interactúan con tejidos biológicos, sobre todo con el hueso trabecular. Debido a su compleja y heterogénea microestructura, las ondas ultrasónicas que viajan por los huesos se dispersan de forma difusa [113]. Durante las dos últimas décadas, diferentes técnicas basadas en la evaluación de la energía de retrodispersión han sido propuestas para la caracterización ósea [114, 76]. La energía de retrodispersión ultrasónica puede vincularse a las propiedades físicas del tejido óseo, como la fracción de volumen óseo o la densidad mineral ósea [65, 115, 116], lo que permite aplicar técnicas de ultrasonido cuantitativo para la caracterización del hueso. En odonto-

logía, se han aplicado técnicas de ultrasonidos cuantitativos para evaluar la estabilidad de los implantes dentales [14, 117], para cuantificar la cantidad de hueso en contacto con los implantes dentales [118] o para evaluar la osteointegración de un implante in vitro durante la curación del hueso [119].



# Monitorización del proceso de desmineralización de la dentina

---

En el capítulo 4 realizamos un estudio aplicando ácido ortofosfórico sobre unas piezas de dentina humana y monitorizando con ultrasonidos el proceso de desmineralización dental. Se ha realizado una colaboración entre la Universitat Politècnica de València, la Universidad Cardenal Herrera CEU San Pablo y el Instituto Valenciano de Investigaciones Odontológicas, dando como fruto las siguientes publicaciones:

- **Revista:**

**J. Rodríguez-Sendra**, I. Torres, N. Jiménez, S. Sauro and F. Camarena, Ultrasonic Monitoring of Dentin Demineralization, in IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control, vol. 68, no. 3, pp. 570-578, March 2021, doi: 10.1109/TUFFC.2020.3015668.

- **Congreso:**

**Rodríguez-Sendra, Josep**; Jimenez, Noe; Inés Torres; Salvatore Sauro; Camarena Femenia, Francisco. Monitorización ultrasónica del proceso de

desmineralización de la dentina. Tecniacústica. XI Congreso Ibérico de Acústica. 51º Congreso Español de Acústica. (808 - 819). Online: Sociedade Portuguesa de Acústica (SPA), Octubre 2020.

**Josep Rodríguez-Sendra**, Alicia Carrión, Inés Torres, Noé Jiménez, Salvatore Sauro, Francisco Camarena. Ultrasonic Monitoring of the Dentin Demineralization Dynamics. International Ultrasonics Symposium, IEEE Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control Society. Virtual Symposium. September 11-16, 2021

## 4.1 Introducción

La dentina está compuesta por un 70 % de material inorgánico (hidroxiapatita), un 20 % de base orgánica (fibras de colágeno de tipo I altamente mineralizadas) y un 10 % de agua [120]. Su proceso de desmineralización implica al menos dos etapas: la disolución de los biominerales por los ácidos orgánicos y la subsiguiente degradación de la matriz de la dentina por las proteasas [121]. Los procesos naturales de desmineralización de la dentina son geométricamente complejos, con variaciones en anchura, profundidad, severidad y color, haciendo difícil encontrar muchas lesiones similares para estudios *in vitro* de la dentina. Por esta razón se han propuesto protocolos artificiales estandarizados utilizando ácidos para reproducir lesiones reales [121].

Las lesiones de desmineralización artificial estandarizadas ofrecen muchas ventajas en comparación con el uso de las lesiones naturales para la investigación. Los protocolos de desmineralización pueden ser reproducibles y las lesiones de diferente tamaño pueden hacerse fácilmente en base a la cinética de desmineralización de un determinado ácido [122]. Algunos estudios han demostrado que estos ácidos, principalmente el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) o el ácido fosfórico (PA), pueden desmineralizar selectivamente los minerales extrafibrilares y mantener parcialmente los minerales intrafibrilares, desmineralizando con una mínima degradación del colágeno [123]. Los agentes ácidos remueven la capa de frotis y abren los túbulos dentinarios, desmineralizando la superficie de la dentina y aumentando la porosidad de la dentina intertubular.

En el presente trabajo se estudia el proceso completo de desmineralización de la dentina humana bajo condiciones de laboratorio controladas. Utilizando la técnica ultrasónica no destructiva de eco impulso, se demuestra la capacidad de los ultrasonidos para caracterizar un proceso de desmineralización artificial de la dentina con ácido PA. El uso del ácido PA es una práctica extendida en investigaciones odontológicas para preparar muestras que van a utilizarse

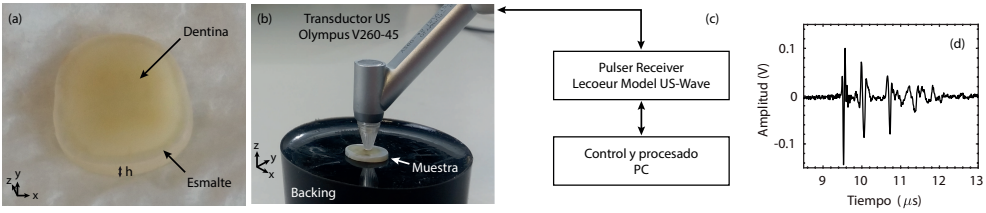
en estudios posteriores. El cálculo del tiempo de vuelo de los pulsos acústicos permite obtener la velocidad efectiva del sonido en el tejido dentinario desmineralizado y sano, así como demostrar que el proceso de penetración del ácido define un límite claro entre dos medios con propiedades mecánicas muy diferentes.

El documento está organizado de la siguiente manera: en la sección 4.2 se presenta el procedimiento de preparación de la muestra, el protocolo de desmineralización y los métodos de medida ultrasónica. La sección 4.3 expone los resultados obtenidos en los estudios de desmineralización. Por último, la sección 4.4 muestra la discusión y las conclusiones.

## 4.2 Métodos

### 4.2.1 *Preparación de las muestras*

Se utilizaron un conjunto de 18 molares humanos sanos, sin caries ni empastes, extraídos por razones ortodónticas o periodontales con consentimiento firmado de los pacientes. Los dientes se almacenaron en agua destilada. Las superficies oclusales se pulieron usando grados secuenciales de papel de pulir SI-C cada vez más fino, de grano 320, 500 y 1000 (Versocit, Struers A/S, Copenhague, Dinamarca) hasta que el esmalte oclusal fue completamente eliminado. Para ello se utilizó un cabezal de pulido que aplica una fuerza constante de 10 N (Vector LC Power Head, Buehler, Lake Bluff, Illinois, EE.UU.) junto con una máquina de pulido rotativa refrigerada por agua (Meta-Serv 3000 Grinder-Polisher, Buehler, Lake Bluff, Illinois, EE.UU.) a una velocidad de rotación de 250 rotaciones por minuto. Los molares sin superficies oclusivas se colocaron en una sierra de diamante refrigerada por agua (Micromet evolution, Remet, Bolonia, Italia) y se seccionaron transversalmente hasta obtener muestras de aproximadamente 1,1 mm de grosor, como se muestra en la Fig. 4.1 (a). Las superficies se pulieron con papel abrasivo para obtener un espesor estandarizado de  $1.09 \pm 0.05$  mm. Todas las muestras se sumergieron en agua destilada y se limpiaron con un baño de ultrasonidos para eliminar los restos pegados.



**Figura 4.1:** (a) Fotografía de una muestra. (b) Fotografía del transductor, la muestra y (c) diagrama de bloques del dispositivo experimental. (d) Ejemplo de una señal de radio frecuencia obtenida a partir de una muestra parcialmente desmineralizada.

### 4.2.2 Procedimiento de desmineralización

Un total de 14 muestras se trataron con un ácido fosfórico (Panreac Química, Barcelona, España) al 10 % en un recipiente de Pyrex. Durante el proceso de desmineralización se utilizó un agitador magnético con el fin de homogeneizar la disolución.

Un conjunto de 6 muestras de dentina se evaluaron con el microscopio electrónico de barrido SEM ( Scanning Electron Microscope) y con espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier, FTIR (Fourier-transform infrared spectroscopy). La mitad de los especímenes,  $N = 3$ , se desmineralizaron completamente durante 5 horas y la otra mitad,  $N = 3$ , se mantuvieron en agua destilada y se utilizaron como muestras de control.

Para el primer experimento ultrasónico (E1), se desmineralizaron completamente 5 muestras durante 290 minutos y una muestra estuvo en agua destilada para ser utilizada como referencia de control. Cada 10 minutos, todas las muestras se retiraron de la solución ácida y se limpiaron con agua destilada para realizar las medidas ultrasónicas, que duraban aproximadamente 3 minutos. Después, las muestras se devolvían a la solución ácida para continuar con el proceso de desmineralización. La muestra de control se monitorizó siguiendo el mismo procedimiento, pero conservándose en agua destilada todo el tiempo.

Para el segundo experimento ultrasónico (E2), se desmineralizaron 6 muestras en diferentes grados. Las 6 muestras se ubicaron en un recipiente de Pyrex con ácido fosfórico al 10 % de concentración. Cada hora, una de las muestras era extraída, limpiada y medida por ultrasonidos. Luego, la muestra se conservaba en agua destilada y era monitoreada cada 60 minutos.

### 4.2.3 Medidas SEM y FTIR

Se analizaron 3 muestras recién cortadas y 3 muestras desmineralizadas utilizando el espectrómetro ATR/FTIR (Perkin-Elmer, Beaconsfield, Reino Unido) con una resolución espectral de  $4\text{ cm}^{-1}$  para caracterizar la composición química de la dentina antes y después del tratamiento con ácido. Después del análisis FTIR, las muestras se analizaban por SEM. Las muestras se deshidrataban en concentración ascendente de alcohol, se montaban en tacos de aluminio y se recubrían de polvo de aluminio. La morfología de las muestras se analizaba con un microscopio electrónico de barrido Hitachi S3500 (Hitachi High Technologies, Maidenhead, Reino Unido).

### 4.2.4 Medidas Ultrasónicas

Como emisor y receptor se utilizó un transductor Olympus SONOPEN V260-45 con una frecuencia central nominal de 15 MHz y un ancho de banda de 5,98 a 17,68 MHz (-6 dB), usando la técnica de eco impulso para obtener el tiempo de vuelo. Este transductor posee una línea de retardo con un diámetro inferior de  $D = 2\text{ mm}$  y una relación entre el diámetro y la longitud de onda de  $D/\lambda = 20$  aperturas por longitud de onda en el agua. La elección de la fuente es un compromiso entre una pequeña dimensión física obligatoria para las aplicaciones dentales y una alta relación  $D/\lambda$  para mejorar la energía acústica recogida por el transductor.

La Fig. 4.1 (b,c) muestra una fotografía y el diagrama de bloques del dispositivo experimental. El transductor se colocó perpendicularmente a la superficie de la muestra de dentina para registrar las señales de eco. En el lado opuesto, la muestra estaba en contacto con un soporte rígido para mejorar la reflexión de las ondas ultrasónicas. La señal recibida se digitalizó con un emisor receptor (US-wave, Lecoeur Electronique, Chuelles, France) a una frecuencia de muestreo de 125 MHz. En la Fig. 4.1 (d) se presenta un ejemplo de la señal de RF registrada para una muestra de dentina parcialmente desmineralizada. Para cada experimento, se realizaron un total de 500 adquisiciones en 5 puntos diferentes de la superficie de la dentina (100 adquisiciones por punto, cada punto distribuido aleatoriamente, véase la Fig. 4.1 (b)). La duración aproximada de cada medida ultrasónica fue de 3 minutos. A continuación, la muestra de dentina era depositada en la solución ácida (experimento ultrasónico E1) o en el tanque de agua destilada (experimento ultrasónico E2). Todos los experimentos se realizaron a una temperatura controlada de  $23 \pm 0.2^\circ\text{ C}$ .

### 4.2.5 Simulaciones

Se realizaron simulaciones de la propagación de un pulso a través de medios estratificados y homogéneos utilizando el módulo de acústica del software COMSOL Multiphysics (Método de Elementos Finitos (FEM)) en una dimensión y en el dominio del tiempo. Para definir en la simulación las propiedades mecánicas de la dentina desmineralizada y de la dentina sana, se utilizaron los datos experimentales medidos con la técnica ultrasónica antes y después de la desmineralización completa. La forma de onda de entrada en las simulaciones en el límite aire-dentina fue la primera derivada de un pulso gaussiano (pulso bipolar) con componentes espectrales de 5,98 a 17,68 MHz, es decir, similar a los experimentales.

## 4.3 Resultados

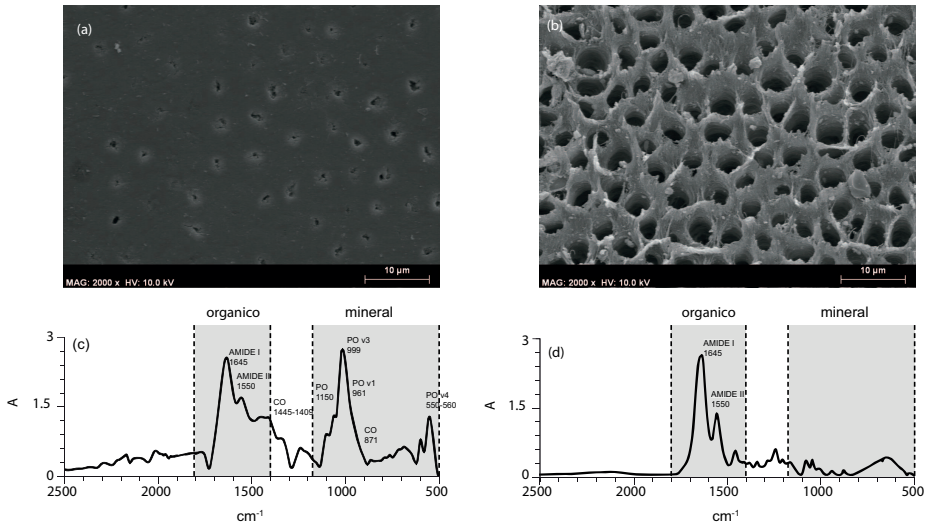
### 4.3.1 Experimentos SEM y FTIR

El examen SEM revela la pérdida de minerales debido al efecto del ácido, como se muestra en las Figs. 4.2 (a, b). Después de la desmineralización, los túbulos dentinarios son más anchos (compare Fig. 4.2 (b) y Fig. 4.2 (a)).

En los espectros FTIR, mostrados en las Figs. 4.2 (c, d), el espectro orgánico de la dentina (grupo Amide) se conserva en su mayor parte. La Amida I y II muestran valores similares antes y después del baño de ácido. En el espectro inorgánico, hay una importante pérdida del grupo de fosfato de calcio (PO). Los picos de minerales 961 y 1019  $\text{cm}^{-1}$  que pueden observarse claramente en el caso mineralizado, mostrados en la Fig. 4.2 (c), son apenas visibles después del proceso de desmineralización causado por el ácido, mostrado en la Fig. 4.2 (d).

### 4.3.2 Experimento ultrasónico E1

En la figura 4.3 (a) se observan 29 señales de RF adquiridas durante la monitorización ultrasónica del proceso de desmineralización de una de las 5 muestras durante el primer experimento ultrasónico (E1). El tiempo entre cada medida fue de 10 minutos, alcanzando la desmineralización completa después de 280 minutos de acción ácida en este caso particular. Las señales de radiofrecuencia para el resto de las muestras y para la muestra de control se ven en las Figs. 4.4 (a-f). Al analizar las señales reflejadas en la Fig. 4.3 (a), observamos que la dentina puede considerarse como un medio homogéneo para las frecuencias involucradas en estos experimentos. Esto se deduce de la ausencia

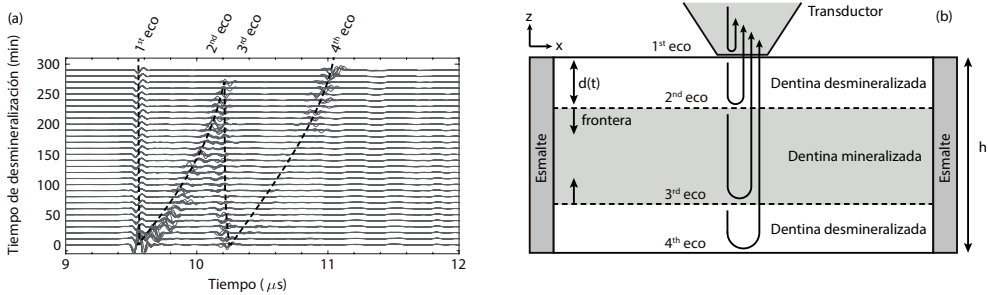


**Figura 4.2:** Scanning Electron Microscopy (SEM) imagen de (a) una muestra no desmineralizada y (b) una muestra desmineralizada. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) espectro de (c) una muestra no desmineralizada y (d) una muestra desmineralizada.

de dispersión en la primera señal RF ( $t = 0$  min, correspondiente a la dentina mineralizada) y en la última señal RF ( $t = 290$  min, correspondiente a la dentina completamente desmineralizada). En los casos inicial y final, los ecos corresponden al cambio de impedancia acústica entre el transductor ultrasónico y la superficie superior de la dentina (primer eco) y entre la dentina y la superficie de la base sólida en la Fig. 4.1 (b) (último eco). Midiendo el espesor de la muestra, la velocidad de onda longitudinal puede ser calculada tanto para dentina sana ( $3415 \pm 30$ ) m/s, como para dentina completamente desmineralizada ( $1710 \pm 70$ ) m/s usando la relación:

$$c = \frac{2h}{\Delta t}, \quad (4.1)$$

donde  $c$  es la velocidad de la onda longitudinal en m/s,  $h$  es el espesor de la muestra en m y  $\Delta t$  es el tiempo entre ecos en segundos (tiempo de vuelo). Las señales RF se procesaron utilizando MATLAB (Mathworks, USA) para estimar el tiempo de vuelo de los ecos. En primer lugar, se calculó la envolvente de cada señal como el valor absoluto de su transformada de Hilbert. Luego, se utilizó un algoritmo detector de picos, basado en la detección a partir de



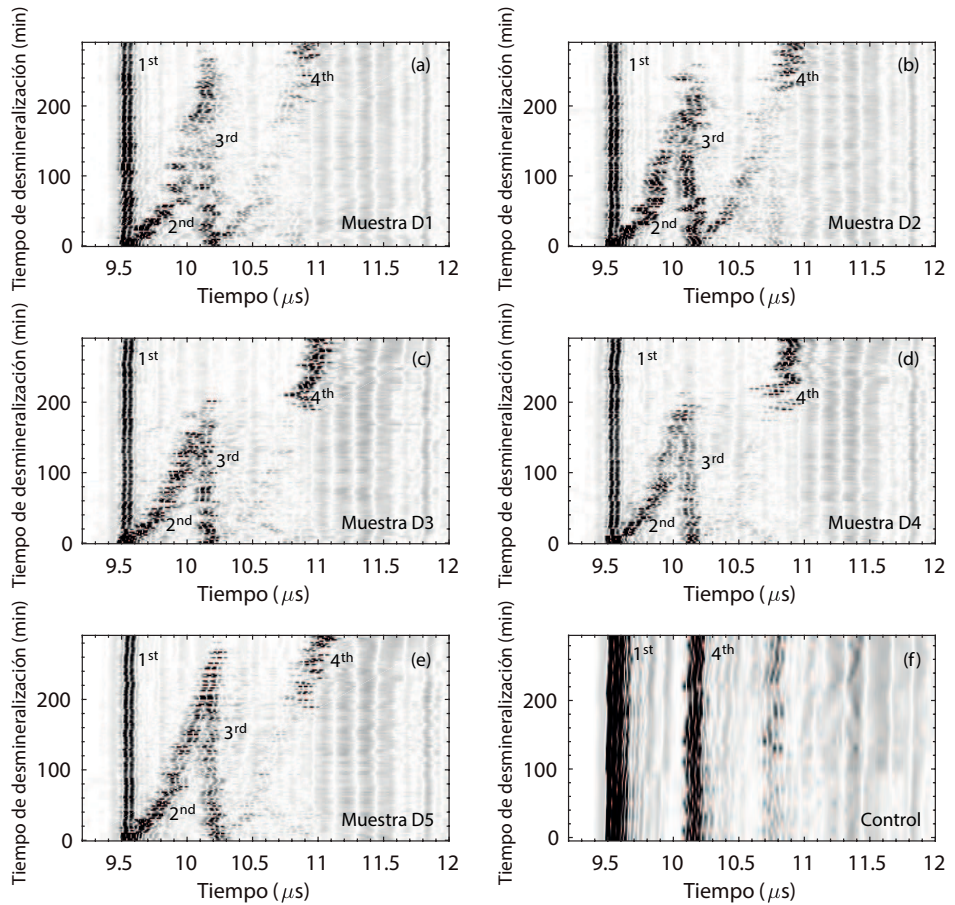
**Figura 4.3:** (a) Señales de RF correspondientes a la monitorización ultrasónica del proceso de desmineralización de la muestra D1. Las líneas discontinuas se dibujaron manualmente como guía ocular. (b) Esquema de la dentina estratificada con capas de diferente rigidez y los ecos ultrasónicos esperados según la hipótesis de que el efecto del ácido crea límites bien definidos. La profundidad de la capa de movimiento desmineralizada está marcada como  $d(t)$

un umbral determinado, para estimar el tiempo correspondiente al tiempo de llegada de los dos primeros ecos. Finalmente, el tiempo de vuelo se calculó como la diferencia de estos tiempos de llegada.

Durante el proceso de desmineralización se pueden observar ecos claros procedentes de límites físicos bien definidos. Una vez que comienza el proceso de desmineralización (señales de  $t > 0$  min), aparecen dos nuevos ecos en el centro de las señales RF que muestran que hay dos límites dentro de la dentina. A medida que aumenta el tiempo de desmineralización, el tiempo de llegada de estos ecos cambia progresivamente como consecuencia de la acción del ácido sobre la dentina. Un modelo simple para explicar la forma en que las señales de eco impulso están cambiando se muestra en las Figs. 4.3 (b). Partimos de la hipótesis de que la acción del ácido durante el proceso de desmineralización genera un medio estructurado en capas debido a la progresiva penetración del ácido hacia el núcleo de la muestra desde su superficie superior e inferior. A medida que el proceso evoluciona, la capa central se hace más fina y, eventualmente, toda la muestra se desmineraliza y los límites internos se desvanecen, como se observa en las señales de RF de la Fig. 4.3 (a) a  $t = 290$  min. Todo el proceso produce el patrón característico de “W” asimétrico que puede verse para todas las muestras experimentales en la Fig. 4.4 (a-e). Por el contrario, durante la monitorización ultrasónica de la muestra de control conservada en agua destilada, que se observa en la Fig. 4.4 (f), no aparecen ecos internos.

En resumen, un primer eco a unos  $9,4 \mu s$  es siempre visible para todos los experimentos porque corresponde al límite entre la línea de retardo del transductor y la superficie superior de la dentina, por lo que no se ve afectado por





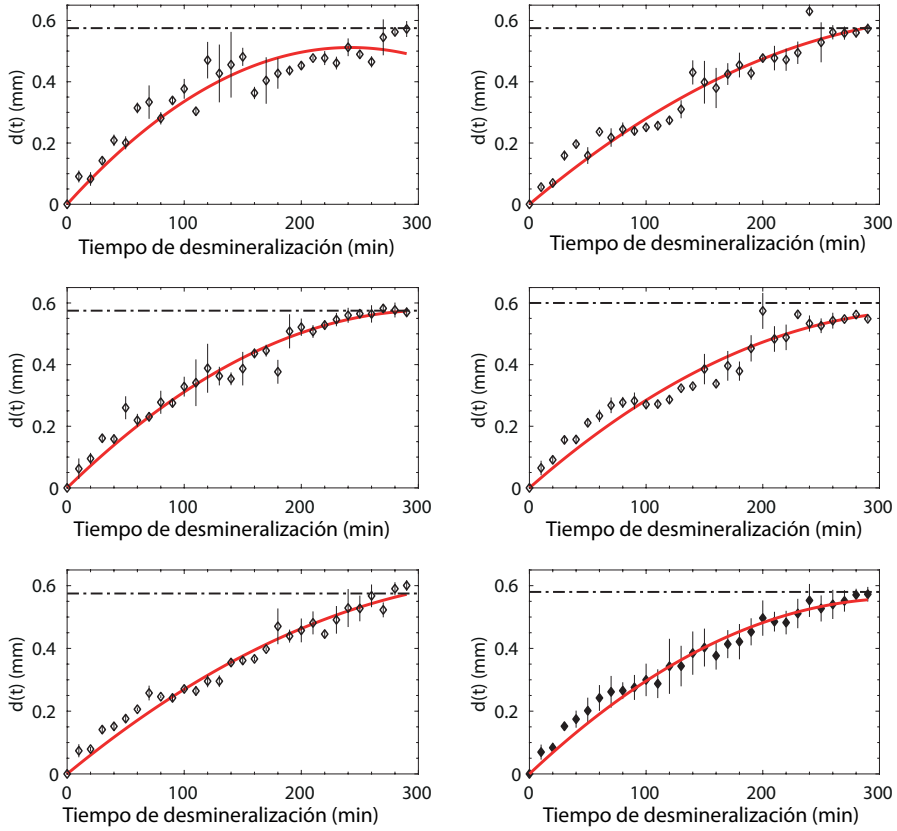
**Figura 4.4:** (a-e) Señales RF correspondientes a la monitorización ultrasónica de todo el proceso de desmineralización de las muestras D1-D5 y (f) muestra de control.

el proceso de desmineralización. Un segundo eco corresponde al límite entre la primera zona desmineralizada y el núcleo central mineralizado de la dentina: el retardo temporal de este eco aumenta durante el experimento porque el límite se mueve hacia mayor profundidad en la dentina. El tercer eco corresponde al límite creado por el ácido de la superficie inferior de la muestra. El tiempo de retardo de este eco se reduce ligeramente a medida que el ácido actúa (para algunas muestras permanece casi constante) debido a la acción conjunta de dos efectos opuestos: por un lado, el límite interior se acerca a la sonda ultrasónica y, por otro lado, la velocidad del sonido en la capa desmineralizada disminuye. Por último, se genera un cuarto eco en la superficie inferior: se retrasa progresivamente porque las capas desmineralizadas de dentina con menor velocidad de sonido crecen durante el proceso de desmineralización, aumentando en consecuencia el tiempo total de vuelo de la onda reflejada en este límite.

La figura 4.4 muestra en escala de grises la amplitud de los ecos para el resto de las muestras. El último eco se atenúa una vez que el ácido crea los dos límites internos que reflejan una parte importante de la energía del pulso a la sonda ultrasónica. Sólo cuando el proceso de desmineralización se completa y los dos límites internos desaparecen, la amplitud del último eco aumenta de nuevo. Además, nótese que al final de los experimentos el segundo y el tercer eco se desvanecen simultáneamente para todas las muestras en un momento que se corresponde con el centro de la muestra, es decir, entre el primer y el cuarto eco, mostrando una acción simétrica del ácido en ambos lados de la muestra.

La distancia desmineralizada,  $d(t)$ , definida como la profundidad de la capa desmineralizada, ver Fig. 4.3 (b), se calcula a partir del tiempo de vuelo entre el primer y el segundo eco suponiendo que la velocidad del sonido de la capa desmineralizada coincide con el valor que se obtiene cuando la muestra está completamente desmineralizada. La velocidad del sonido en el medio desmineralizado se calcula a partir de las últimas medidas utilizando la Ec. (4.1). La figura 4.5 (a-e) muestra la distancia desmineralizada en función del tiempo de desmineralización de las 5 muestras estudiadas. Además, la Fig. 4.5 (f) muestra los resultados de las 5 muestras juntas para demostrar la buena repetibilidad de los experimentos. La desmineralización presenta una tasa no uniforme que disminuye con el tiempo como resultado del proceso natural de difusión del ácido en la dentina: la acción del ácido es más eficiente en las áreas más superficiales. Como era de esperar, al final del proceso la distancia de desmineralización converge a la mitad del grosor de la muestra,  $h/2$ , mostrando la desmineralización completa de las muestras.

Un modelo empírico parabólico se ajusta a los datos experimentales para modelar la tasa de desmineralización como:



**Figura 4.5:** (a-e) Distancia desmineralizada versus tiempo de desmineralización para las muestras D1-D5, respectivamente. Datos experimentales (marcados), modelo empírico parabólico (línea roja continua). La línea discontinua muestra la mitad del grosor de cada muestra ( $h/2$ ), es decir, el estado de desmineralización total. f) Todos los datos fusionados y su correspondiente ajuste.

$$d(t) = v_0 t + \frac{1}{2} a_d t^2, \quad (4.2)$$

donde  $d(t)$  es la distancia desmineralizada,  $v_0$  es la velocidad inicial del proceso de desmineralización,  $a_d$  es la aceleración del proceso de desmineralización y  $t$  es el tiempo de desmineralización.

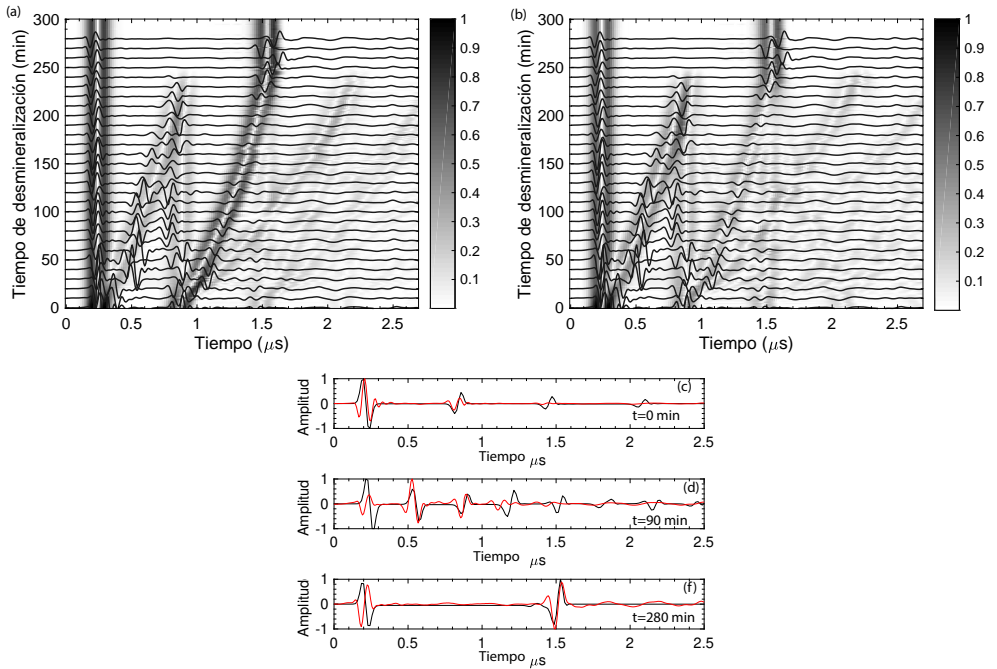
Los coeficientes ajustados para las 5 muestras desmineralizadas están listados en la Tabla 5.1. Se observa una buena repetibilidad entre los experimentos. Los resultados muestran que el ácido fosfórico a una concentración del 10% produce una velocidad media inicial de desmineralización en la dentina humana de  $v_0 = 3,5 \pm 0,4 \mu\text{m}/\text{min}$ , con una deceleración media de  $a_d = 11,0 \pm 3,5 \text{ nm}/\text{min}^2$ .

**Tabla 4.1:** Grosor de la muestra y los parámetros de ajuste.

	Grosor $h$ (mm)	Velocidad inicial $v_0$ ( $\mu\text{m}/\text{min}$ )	Aceleración $a_d$ ( $\text{nm}/\text{min}^2$ )
Muestra 1 (D1)	1.15	$4.2 \pm 0.2$	$-17.5 \pm 1.1$
Muestra 2 (D2)	1.15	$3.2 \pm 0.2$	$-8.5 \pm 1.1$
Muestra 3 (D3)	1.15	$3.7 \pm 0.2$	$-11.9 \pm 1.1$
Muestra 4 (D4)	1.20	$3.3 \pm 0.2$	$-9.6 \pm 1.1$
Muestra 5 (D5)	1.15	$3.1 \pm 0.2$	$-7.6 \pm 1.1$
Promedio	1.16	$3.5 \pm 0.4$	$-11.0 \pm 3.0$

Para contrastar la hipótesis propuesta del medio estructurado en capas, se realizó una simulación acústica numérica 1D FEM utilizando un medio con tres capas homogéneas. Las capas externas se fijaron como dentina desmineralizada ( $c = 1710 \text{ m}/\text{s}$ ), y el núcleo central fue fijado como dentina mineralizada ( $c = 3415 \text{ m}/\text{s}$ ). Se realizaron dos conjuntos de 200 simulaciones moviendo los límites entre las capas externas e internas de acuerdo con el modelo empírico de todos los datos fusionados ( $v_0 = 3,5 \mu\text{m}/\text{min}$ ,  $a_d = -11,0 \text{ nm}/\text{m}^2$ ). Para el primer conjunto de simulaciones, que se muestra en la Fig. 4.6 (a), la densidad fue la misma en ambas capas, correspondiendo a la dentina sana ( $\rho = 2010 \text{ kg}/\text{m}^3$ ), y para el segundo conjunto, que se muestra en la Fig. 4.6 (b), la densidad para la muestra mineralizada fue  $\rho = 2010 \text{ kg}/\text{m}^3$  y para la capa desmineralizada fue  $\rho = 1050 \text{ kg}/\text{m}^3$  según literatura [124].

Las señales RF simuladas se muestran en escala de grises en la Fig. 4.6, superpuestas a las señales RF medidas experimentalmente para la muestra D1 (líneas continuas). En primer lugar, para la simulación de la densidad homogénea (Fig. 4.6 (a)), se puede observar que el tiempo de llegada de los ecos



**Figura 4.6:** Señales RF de la muestra D1 obtenidas experimentalmente (líneas) y utilizando una simulación FEM (superficie normalizada en escala de grises) para (a) un medio con densidad homogénea y velocidad de sonido en capas, y (b) un medio en capas con cambios en la densidad y la velocidad del sonido. (c-e) Señales de radiofrecuencia obtenidas experimentalmente (rojo) y por simulación (negro) en tres etapas de desmineralización: (c) en la etapa inicial ( $t = 0$  min), d) durante la desmineralización ( $t = 90$  min) y e) al final del experimento ( $t = 280$  min).

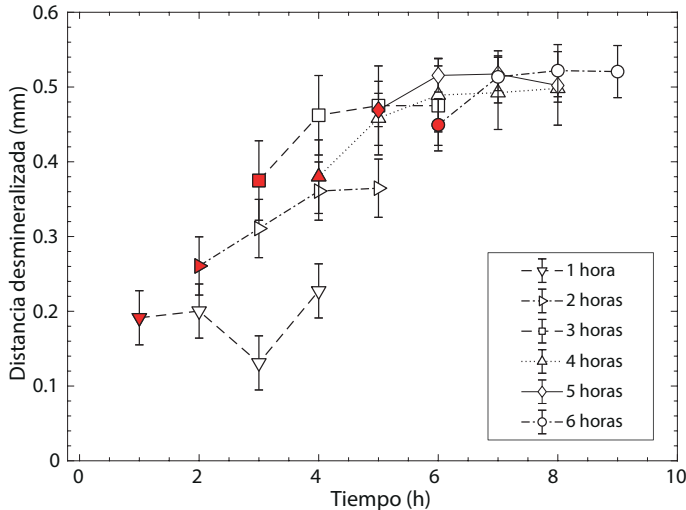
simulados coincide con el experimental, así como su evolución durante el proceso de desmineralización (las señales se alinearon a  $t = 0$  retrasando los datos experimentales  $9,4 \mu\text{s}$ ). El cuarto eco recibido se identifica en las simulaciones como el del límite inferior, mientras que el segundo y el tercero corresponden a los límites interiores. Sin embargo, el desajuste de impedancia al cambiar sólo la velocidad del sonido en la simulación es débil y, por lo tanto, una gran cantidad de energía impacta en el límite inferior.

La figura 4.6 (b) muestra los resultados de una simulación más realista estableciendo diferentes valores para la densidad de las capas de dentina mineralizada y desmineralizada. Se observa claramente el efecto de apantallamiento de las capas internas que disminuye la energía de los ecos reflejados en el límite inferior. Cuando la capa interna de la dentina es muy fina o desaparece debido a una desmineralización completa ( $t > 240$  min), la amplitud del eco generado en el límite inferior aumenta fuertemente porque el pulso no se dispersa en ningún cambio brusco de impedancia durante la propagación y, por lo tanto, llega a ese límite con mayor energía. Los procesos dinámicos observados en las simulaciones están en excelente acuerdo con todas las muestras medidas. Además, un conjunto de ecos secundarios correspondientes a reflexiones de segundo orden es claramente visible en los datos simulados ( $t > 1,2 \mu\text{s}$ ) debido a la falta de absorción en la simulación. Estos ecos secundarios no interfieren con los ecos principales ya que llegan a la sonda ultrasónica más tarde en el tiempo. Obsérvese que algunos ecos secundarios aparecen en los datos experimentales al comienzo del proceso de desmineralización.

### 4.3.3 Experimento ultrasónico 2

Se diseñó un segundo experimento para evaluar la inercia del efecto desmineralizador del ácido fosfórico, es decir, la continuación del proceso de desmineralización incluso cuando se ha retirado la dentina de la solución ácida. Se desmineralizó un conjunto de 6 muestras de dentina (grosor medio  $1,03 \pm 0,05$  mm) siguiendo el procedimiento previamente definido en la Sec.4.2.2. Cada hora, se extrajo una muestra de la solución ácida, se limpió con agua destilada y se midió ultrasónicamente de acuerdo con el procedimiento descrito en la Sec. 4.2.4. A continuación, la muestra fue conservada en agua destilada y monitoreada continuamente con una frecuencia de una hora.

La figura 4.7 muestra la distancia desmineralizada en función del tiempo para las muestras de 6 dientes. Las barras de error corresponden a la desviación estándar de 20 medidas. Como puede observarse, la distancia desmineralizada es mayor cuanto más tiempo se ha conservado la dentina en la solución ácida

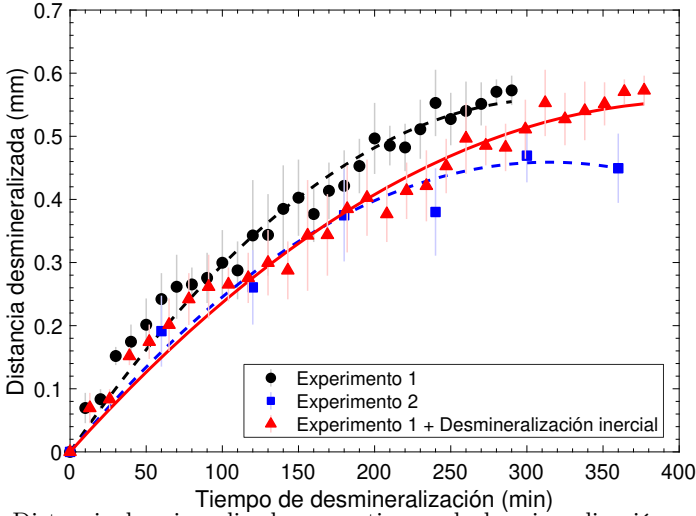


**Figura 4.7:** Primer punto en cada conjunto (marcadores rojos): distancia desmineralizada en función del tiempo mantenido en la solución ácida. Sigüientes puntos de cada conjunto (marcadores blancos): evolución de la distancia desmineralizada una vez retiradas las muestras de la solución ácida.

(primer punto de cada curva), pero también puede observarse (puntos posteriores de cada curva) que la distancia desmineralizada sigue creciendo para cada muestra incluso cuando el diente se ha extraído de la solución ácida y conservado en agua destilada. Este efecto se debe a la presencia de moléculas de ácido fosfórico en estado no disociado en la región sub-superficial [125], que se disocian como iones de hidrógeno y proporcionan iones de fosfato para atacar el mineral.

La inercia del efecto desmineralizador del ácido es más importante cuanto más tiempo haya permanecido la muestra en la solución ácida, ya que la concentración de moléculas de ácido fosfórico en la dentina es mayor. La tabla 4.2 muestra la distancia de desmineralización producida una vez que cada diente ha sido extraído de la solución ácida y conservado en agua destilada. Aumenta  $36 \mu\text{m}$  para la muestra mantenida 1 hora en la solución ácida y  $118 \mu\text{m}$  para la muestra mantenida 4 horas. Las muestras D5 y D6 estaban prácticamente desmineralizadas después de sacarlas de la solución ácida, por este motivo no se aprecia el efecto de desmineralización inercial.

A partir de esta hipótesis, el valor de la velocidad de desmineralización del ácido obtenido en el experimento 1 está sobrestimado, ya que no se ha considerado



**Figura 4.8:** Distancia desmineralizada versus tiempo de desmineralización en el experimento E1 (círculos negros), el experimento E2 (cuadrados azules) y el experimento E1 corrigiendo el efecto de desmineralización inercial (triángulos rojos). Las líneas muestran los ajustes polinómicos para E1 y E2 (líneas discontinuas), y E1 con la corrección inercial (línea roja).

**Tabla 4.2:** Distancia de desmineralización inercial después de retirar la muestra de la solución ácida.

Muestra	D1	D2	D3	D4	D5	D6
Desmineralización inercial ( $\mu\text{m}$ )	36.0	104.0	100.2	118.1	48.2	72.5



**Tabla 4.3:** Parámetros de ajuste para el modelo fenomenológico dados por Eq. (4.2).

	Velocidad inicial $v_0$ ( $\mu\text{m}/\text{min}$ )	Aceleración $a_d$ ( $\text{nm}/\text{min}^2$ )
Experimento 1 (E1)	$3.5 \pm 0.4$	$-11.0 \pm 3.0$
Experimento 2 (E2)	$2.9 \pm 0.2$	$-9.3 \pm 1.4$
Experimento 1 (E1+ Corrección inercial)	$2.7 \pm 0.4$	$-6.5 \pm 3.0$

como tiempo de desmineralización los 3 minutos necesarios para llevar a cabo las medidas ultrasónicas realizadas cada 10 minutos. En la figura 4.8 se muestran los resultados obtenidos de los experimentos 1 y 2, y sus correspondientes ajustes a la Ec. (4.2). Tanto la velocidad del proceso de desmineralización como la aceleración son menores en el experimento 2 que en el experimento 1, ver Tabla 4.3, como consecuencia de la inercia en la acción del ácido. Se ha introducido en los datos del experimento 1 una corrección para tener en cuenta el efecto de inercia del ácido durante cada medida, teniendo en cuenta la duración de la prueba ultrasónica. Los datos corregidos (marcadores blancos) de la Fig. 4.8 y su correspondiente ajuste polinómico concuerdan con el proceso de desmineralización medido en el experimento 2. Después de la corrección, la velocidad inicial recuperada y la aceleración del límite interno se acercan más a los valores del experimento 2 (véase la tabla 4.3), lo que demuestra que debe considerarse la desmineralización inercial.

## 4.4 Conclusiones

Se ha propuesto el uso de la técnica ultrasónica de eco impulso para estudiar el proceso de desmineralización artificial de la dentina humana utilizando una solución de ácido fosfórico con una concentración del 10%. El sistema ultrasónico incluía una línea de retardo para separar los ecos receptores de los pulsos emisores, así como para reducir el área monitorizada en la superficie de la dentina a  $3,1 \text{ mm}^2$ .

Todo el proceso de desmineralización de la dentina ha sido monitorizado por ultrasonidos, mostrando que el ácido reduce la rigidez de la dentina, y por consiguiente la velocidad de onda longitudinal sobre ella, formando una estructura en capas con límites bien definidos. A medida que la desmineralización se produce bajo la acción del ácido, estos límites crecen progresivamente en profundidad siguiendo un patrón de desaceleración. Este modelo, que se ajusta a los datos experimentales, ha sido corroborado mediante simulaciones. Obser-

vamos que el proceso de desmineralización no es constante, se estimó que la velocidad de penetración de la capa desmineralizada comienza a  $3,5 \mu\text{m}/\text{min}$ , es decir, cuando el ácido ataca la superficie de la dentina, pero a medida que el ácido penetra esta velocidad se desacelera en  $11 \text{ nm}/\text{min}^2$ . Además, se ha demostrado el hecho de que el proceso de desmineralización no se detiene una vez que la muestra se retira de la solución ácida. En su lugar, se desmineralizan varias decenas de micrómetros adicionales, dependiendo de la concentración de cationes en la dentina. La corrección del efecto de la inercia de desmineralización cambia la dinámica del proceso de desmineralización a  $2,9 \mu\text{m}/\text{min}$  para la velocidad inicial de desmineralización y  $9,3 \text{ nm}/\text{min}^2$  para la desaceleración.

La técnica proporciona una indeterminación de  $40 \mu\text{m}$  en el cálculo de la distancia desmineralizada, incluyendo las incertidumbres debidas a irregularidades en la preparación de las muestras, en la estimación del tiempo de vuelo y en la medida del espesor de la muestra durante la prueba ultrasónica. Cabe señalar aquí que la muestra puede comprimirse ligeramente durante el contacto con la línea de retardo de la sonda, ya que cuanto mayor es la desmineralización, menor es la rigidez de la dentina.

La técnica propuesta puede utilizarse para monitorizar las lesiones de desmineralización artificial normalizada en condiciones de laboratorio, pero también, debido a la reducida dimensión de la sonda, para evaluar la desmineralización producida por la caries natural in vivo. Cabe mencionar aquí que la medida del espesor de la muestra no es necesaria para evaluar la pertinencia de un proceso de desmineralización, ya que el cambio de la rigidez entre el tejido desmineralizado y el mineralizado proporciona un eco claro cuyo tiempo de vuelo informa sobre la profundidad de la desmineralización si se ha obtenido una base de datos previa de las velocidades del sonido.

# Monitorización ultrasónica del proceso de curado de un cemento óseo

---

En este capítulo se estudia el proceso de curado de un cemento óseo, analizando el cambio de estado de líquido viscoso a sólido poroso. Para ello se utiliza la técnica de eco impulso de ultrasonidos y se aplican parámetros de retrodispersión que sean extrapolables a un proceso de regeneración ósea en humanos.

Los resultados obtenidos han sido publicados en distintas revistas y congresos.

### ■ Revistas:

**J. Rodríguez-Sendra**, N. Jiménez, R. Picó, J. Faus and F. Camarena, Monitoring the Setting of Calcium Sulfate Bone-Graft Substitute Using Ultrasonic Backscattering, in *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, vol. 66, no. 10, pp. 1658-1666, Oct. 2019, doi: 10.1109/TUFFC.2019.2926827.

■ **Congresos:**

**Rodríguez-Sendra, Josep.**, Jiménez, Noé., Pico, Rubén., Faus, Joan., Camarena, Francisco. Calcium sulfate setting monitoring with ultrasonic backscattering analysis. In Proceedings of Meetings on Acoustics ICU (Vol. 38, No. 1, p. 020009). DOI: 10.1121/2.0001093 Acoustical Society of America. Septiembre del 2019.

**Rodríguez-Sendra, Josep;** Jimenez, Noé; Picó Vila, Rubén; Joan Faus; Camarena Femenia, Francisco (2018). Monitoring the setting of bone cements using ultrasonic backscattering. Tecnicacústica. XI Congreso Iberoamericano de Acústica. X Congreso Ibérico de Acústica. 49<sup>o</sup> Congreso Español de Acústica. (1526 - 1532). Cádiz, Spain: Sociedad Española de Acústica. Octubre de 2018.

**Rodríguez-Sendra, Josep;** Jimenez, Noé; Picó Vila, Rubén; Joan Faus; Camarena Femenia, Francisco (2018). Modelling ultrasonic signal backscattering in bone-cement. EN VI Jornadas de Modelización Matemática. (5 - 6). Valencia, España. Mayo 2018.

■ **Proyectos:**

Picó Vila, Rubén (I.P.); **Rodríguez-Sendra, Josep;** Camarena Femenia, Francisco; Jimenez, Noé. Monitorización del Proceso de Regeneración Ósea Guiada en Implantes Dentales. (01/01/19 - 01/01/20). Relación científica y técnica internacional competitiva. Universitat Politècnica de València.

■ **Premios:**

**Accésit al Premio Andrés Lara (2018).** Sociedad Española de Acústica

Además, se han dirigido dos tesinas del Máster Universitario en Ingeniería Acústica por la Universitat Politècnica de València.

A A. L. con el trabajo: Monitorización ultrasónica del proceso de regeneración ósea guiada en implantología dental. Defendido el 20 de Julio del 2017 obteniendo una nota de un 9.0.

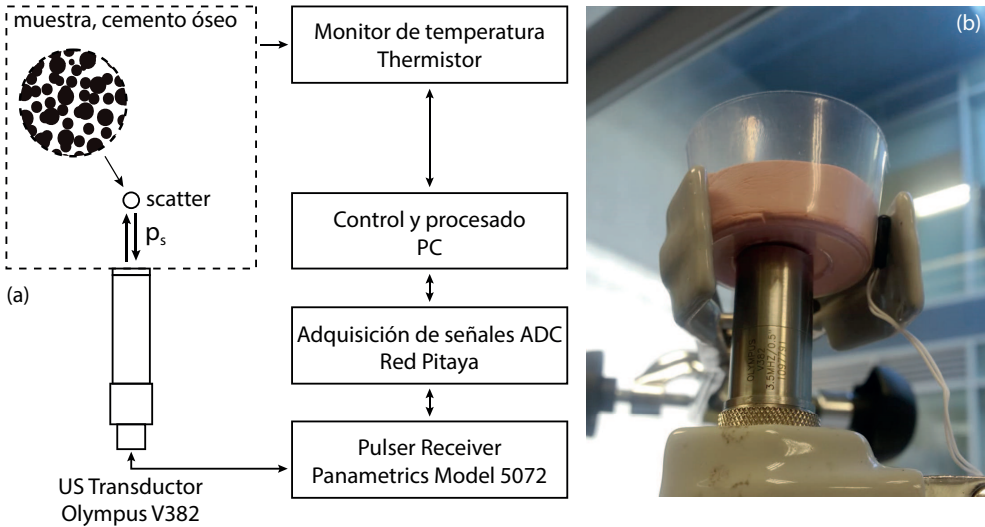
Y a Y. P. con el trabajo: Técnicas ultrasónicas no destructivas para la monitorización del proceso de regeneración ósea guiada. Defendido el 27 de Septiembre del 2018 obteniendo una nota de un 10.0.

## 5.1 Introducción

Durante el proceso de regeneración ósea, las propiedades mecánicas del hueso se modifican desde el injerto óseo inicial hasta el hueso consolidado. Se produce un cambio de estado como consecuencia de la osteointegración. Así pues, una solución para detectar posibles anomalías durante la curación del hueso en las aplicaciones de la ROG (Regeneración ósea guiada) consiste en monitorizar las propiedades mecánicas del tejido mediante ultrasonidos. En este sentido, se han aplicado técnicas para la caracterización de materiales que varían lentamente en el tiempo, como cementos, véase [126, 127]. En particular, las técnicas ultrasónicas de eco impulso pueden utilizarse para caracterizar la dependencia temporal de la velocidad de propagación del sonido (SOS) y la impedancia acústica durante su proceso de fraguado [128, 129, 130]. El cemento comienza a fraguar cuando se mezcla con agua y se producen una serie de reacciones químicas de hidratación. Los componentes se hidratan lentamente y el mineral se solidifica. En particular, el tiempo de fraguado típico de los materiales de injerto óseo basados en sulfato de calcio oscila entre 30 y 60 minutos [131, 132]. Al igual que el fraguado del cemento, la ROG es un proceso en el que las propiedades mecánicas (y acústicas) del material varían con el tiempo y se produce un cambio de estado. Por este motivo vamos a monitorizar el fraguado de un sustituto de injerto óseo para preparar los métodos y parámetros que utilizaremos para la monitorización de la ROG.

En este trabajo utilizamos un phantom de sulfato de calcio [133, 134], material que ha sido utilizado como injerto óseo para la ROG en el pasado [135, 136], para monitorizar el cambio de estado de un fluido viscoso a un sólido poroso. Este proceso se asemeja al cambio de estado que se produce durante la ROG. Vamos a utilizar la técnica de eco impulso y parámetros de retrodispersión ultrasónica para caracterizar las propiedades del material. El proceso de curado del sulfato cálcico tiene una duración corta, lo que nos permite estudiar y testar las técnicas en condiciones de laboratorio. Proponemos el uso de un único sensor que mejore la accesibilidad de la instrumentación médica para la caracterización de los tejidos biológicos.

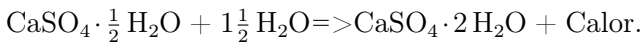
## 5.2 Métodos



**Figura 5.1:** (a) Diagrama de bloques del montaje experimental. (b) Fotografía de un experimento.

### 5.2.1 Preparación de la muestra

El sulfato de calcio tipo IV (Ventura Pinkmod) es el sustituto óseo sintético utilizado para realizar los experimentos. En particular, en su estado de polvo el material es sulfato de calcio hemihidratado ( $\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ ) en su forma  $\alpha$ . Cuando el hemihidrato se mezcla con agua, se forma el sulfato de calcio dihidratado con una reacción exotérmica moderada como [136]:



De esta manera, durante el proceso de fraguado el material muestra un cambio de fase de un líquido viscoso a un sólido poroso. El tiempo total de fraguado es de unos 20 minutos. Para estudiar la repetibilidad, se realizaron cuatro experimentos con muestras compuestas por 23 ml de agua y 50 g de sulfato de calcio. El polvo se disolvió en agua a  $20.0 \pm 0,2^\circ$  y se mezcló para obtener muestras homogéneas. El material fue depositado en un recipiente cilíndrico de plástico de 36 mm de diámetro para obtener muestras de aproximadamente 18 mm de grosor. El grosor de la muestra ha sido medido con un calibre Vernier

en diferentes lugares a lo largo de la muestra. El valor medio es de  $18,3 \pm 0,2$  mm, donde el error se obtiene de la desviación estándar de 7 medidas.

### 5.2.2 *Medidas ultrasónicas*

Para la realización de las medidas ultrasónicas se ha utilizado la técnica de eco impulso. El emisor y receptor utilizado fue un transductor Olympus V382 con una frecuencia central nominal de 3,5 MHz y un ancho de banda de 2,34 MHz (-6 dB). El transductor presenta un diámetro de  $D = 13$  mm y una relación entre el diámetro y la longitud de onda de  $D/\lambda = 30,3$  en el agua. La figura 5.1 muestra el diagrama de bloques y una fotografía del montaje experimental. El transductor se colocó en contacto con el fondo del recipiente. Se aplicó vaselina entre el transductor y el recipiente y entre el recipiente y la muestra para evitar el desacoplamiento durante el proceso de solidificación. En el lado opuesto la muestra se dejó libre, en contacto con el aire, mejorando la reflexión de las ondas ultrasónicas en la interfaz superior. Se utilizó un emisor receptor de pulsos ultrasónicos (Modelo Panametrics 5072) para emitir y recibir los pulsos acústicos. La señal recibida se digitalizó con una plataforma de adquisición de datos (Red Pitaya) a una frecuencia de muestreo de 125 MHz. Para cada experimento se realizaron un total de 1600 adquisiciones. La duración total de cada experimento fue de 53 minutos, suficiente para cubrir todo el proceso de fraguado del cemento adquiriendo cada señal cada 2 segundos. La temperatura se registró con una sonda de termistor (Tinytag Temperature Logger TK 4023) situada externamente en contacto con el recipiente contenedor. Las medidas se procesaron posteriormente para proporcionar los parámetros acústicos del proceso de fraguado.

### 5.2.3 *Velocidad del sonido*

La velocidad del sonido, se calculó como la relación entre el doble del grosor de la muestra y el tiempo de vuelo entre los dos primeros ecos registrados:

$$c = \frac{2L}{\Delta t}, \quad (5.1)$$

donde  $L$  es el espesor de la muestra y  $\Delta t$  es el tiempo de vuelo, estimado como los tiempos correspondientes al valor máximo de los dos primeros ecos capturados por el transductor. El SOS se estimó durante el tiempo de fraguado del cemento óseo y se ajustó un modelo fenomenológico. El modelo propuesto

describe una transición suave y asimétrica entre dos fases, fluida y sólida, que viene dada por:

$$c(t) = c_1 + (c_2 - c_1) \tan^{-1} \left[ \frac{\gamma}{\pi} (t - t_m) + \frac{1}{2} \right]^\beta, \quad (5.2)$$

donde  $c_1$  es la velocidad del sonido en estado líquido,  $c_2$  es la velocidad del sonido en fase sólida,  $\gamma$  modela la velocidad de la transición de la fase líquida a la sólida,  $t$  es el tiempo de ajuste,  $t_m$  es el tiempo medio del proceso de ajuste y  $\beta$  está relacionado con la simetría de la función. Este modelo sencillo es puramente fenomenológico: fue elegido porque describe con precisión la variación del SOS durante la transición de fase de las muestras, los parámetros ajustados tienen una interpretación física y con ellos podemos comparar cuantitativamente el proceso de ajuste de los experimentos.

#### 5.2.4 Parámetros de retrodispersión

En este trabajo se han considerado dos parámetros cuantitativos basados en la energía de retrodispersión: la función de transferencia de retrodispersión aparente (ABTF) y la energía de retrodispersión integrada aparente (AIB). Ambos han demostrado ser fiables y robustos para caracterizar el tejido óseo [83]. Por un lado, la ABTF viene dada por la función de transferencia entre la señal de retrodispersión y una señal de referencia como:

$$ABTF = 10 \log_{10} \left( \frac{P_s(f)}{P_{\text{ref}}(f)} \right), \quad (5.3)$$

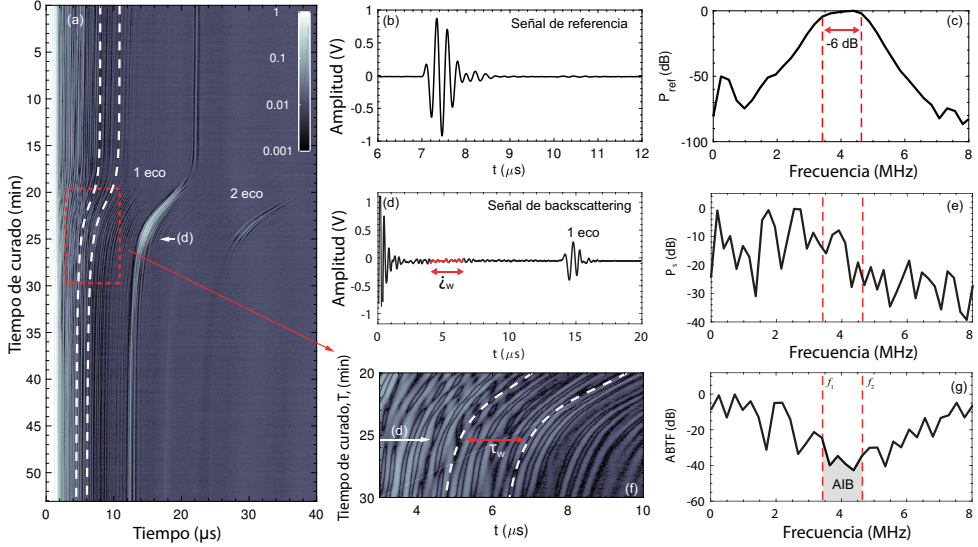
donde  $P_s(f)$  es la potencia dependiente de la frecuencia de una señal de retrodispersión  $p_s(t)$  usando una ventana de tiempo de duración  $\tau_w$ , y  $P_{\text{ref}}(f)$  es la potencia dependiente de la frecuencia del primer eco en un reflector de referencia, por ejemplo, una placa de acero [83]. Por otro lado, el AIB se obtiene como el ABTF promediado en frecuencia como:

$$AIB = \frac{1}{\Delta f} \int_{f_1}^{f_2} ABTF(f) df, \quad (5.4)$$

donde  $\Delta f = f_2 - f_1$ , y  $f_1$  y  $f_2$  están definidos por el ancho de banda de -6 dB del sistema ultrasónico. El pulso de referencia y su espectro se muestran



en las Figs. 5.2 (b,c), respectivamente. Los valores correspondientes para las frecuencias límite efectivas son  $f_1 = 3,4$  MHz y  $f_2 = 4,6$  MHz.



**Figura 5.2:** (a) Representación de todas las señales experimentales (datos RAW) en función del tiempo de fraguado. Colormap en escala normalizada de dB. Las líneas punteadas blancas marcan la ventana temporal utilizada para calcular la energía de retrodispersión integrada aparente (AIB). (b) Señal de referencia y (c) espectro correspondiente. (d) Ejemplo de una señal de retrodispersión medida a  $t = 25$  min y (e) espectro correspondiente. (f) Zoom de los datos experimentales durante el período de transición. (g) Función de transferencia de retrodispersión aparente (ABTF) y representación de la energía de retrodispersión integrada aparente (AIB) (área sombreada).

## 5.3 Resultados

### 5.3.1 Descripción de las señales de retrodispersión

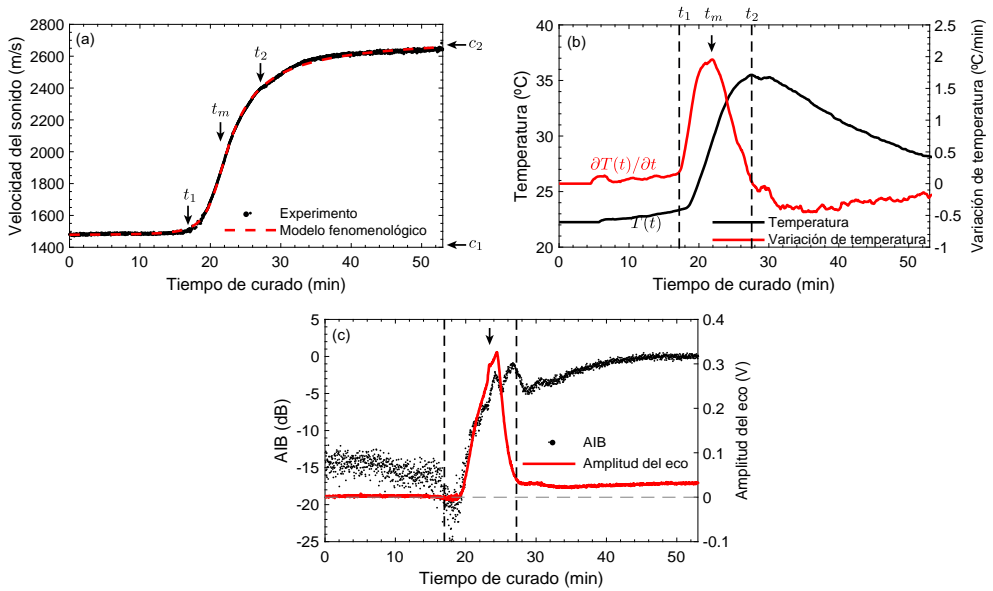
Las señales ultrasónicas de un experimento se muestran en la Fig. 5.2. Primero, en la Fig 5.2 (a) las líneas A-scan se presentan en función del tiempo de fraguado. Aquí, la amplitud de la señal ultrasónica registrada por el transductor se representa en escala logarítmica normalizada al máximo valor de visualización. El eje vertical representa el tiempo del experimento durante el proceso de fraguado (en minutos) y el eje horizontal representa el tiempo de la

señal ultrasónica (en  $\mu\text{s}$ ). Como ambas escalas son muy diferentes ( $\sim 10^6$ ), se desacoplan y se puede suponer que cada captura ultrasónica es instantánea.

Desde  $t = 0 \mu\text{s}$  hasta  $t = 2 \mu\text{s}$ , todas las señales ultrasónicas tienen un valor máximo de 0 dB, correspondiente al pulso de emisión. Entonces, aparecen trazas grises verticales que corresponden a las ondas retrodispersadas recibidas. En primer lugar, cuando se inicia el experimento, la muestra presenta un estado fluido viscoso. Al inicio del experimento ( $T = 0 \text{ min}$ ), en la parte superior de la Fig. 5.2 (a), el eco del final de la muestra es visible a  $t = 23 \mu\text{s}$ . Durante los primeros 15 min, las señales de retrodispersión son estables y sólo son visibles pequeños cambios, como se observan en los trazos verticales rectos del mapa. Sin embargo, desde aproximadamente el minuto 18 al 27 se observa un cambio repentino y drástico en la señal: la línea correspondiente al eco de la parte posterior de la muestra se desplaza hacia el principio de la señal. Esta compresión temporal de la señal está relacionada con el aumento de SOS en el material: el eco de la parte posterior llega antes, como veremos más adelante. A los 27 minutos las señales vuelven a ser estables y, por lo tanto, SOS presenta un valor estable al final del experimento. A los 50 min la muestra es físicamente un material sólido poroso.

Las líneas discontinuas en la Fig. 5.2 (a) muestran los límites de la ventana temporal utilizada para el post-procesamiento de la retrodispersión. Para su estimación, tanto el valor temporal inicial como el final fueron corregidos usando el SOS para capturar una ventana espacial dinámica. La figura 5.2 (f) muestra en detalle el seguimiento de las líneas durante la transición del estado líquido al estado sólido en el proceso de ajuste. Aquí, los rastros de las ondas retrodispersadas capturadas coinciden con la ventana de análisis marcada por las líneas blancas discontinuas.

Los parámetros de retrodispersión usan como referencia una señal obtenida de una placa de acero plana, que se muestra en la Fig. 5.2 (b). En la Fig. 5.2 (d), se observa un ejemplo de la señal de A-scan registrada por el transductor durante el experimento del sustituto óseo (a  $t = 25 \text{ min}$ ). Tanto la contribución eléctrica inicial como el primer eco causado por el final de la muestra pueden observarse a  $t = 0 \mu\text{s}$  y  $t = 15 \mu\text{s}$ , respectivamente. En comparación, la energía retrodispersada es muy baja y se extiende a lo largo de la señal. Consideramos una ventana de duración de  $\tau_w = 2,8 \mu\text{s}$ , es decir, 10 veces el período correspondiente a la frecuencia central del transductor al comienzo del experimento, según [137]. La ventana se fijó inicialmente centrada en  $8 \mu\text{s}$ . Este valor se desplaza a los 25 minutos (Fig. 5.2 (d)) a  $5 \mu\text{s}$  debido al cambio de SOS con el tiempo de ajuste (ver líneas punteadas blancas en Fig. 5.2 (a)). Los espectros de la señal de referencia y el ejemplo de la señal retrodispersada se muestran en



**Figura 5.3:** (a) Evolución de la velocidad del sonido (SOS), el experimento (puntos) y el modelo ajustado (rayas rojas) utilizando la Ec.(5.2). (b) Evolución de la temperatura (negro) y variación de la temperatura (rojo). (c) Energía de retrodispersión integrada aparente (AIB) (puntos) y amplitud máxima del primer eco (rojo), en función del tiempo de ajuste.

las Figs. 5.2 (c,e), respectivamente. Luego, para cada señal temporal se calcula el ABTF utilizando la Ec. (5.3), como se muestra en la Fig. 5.2 (f). Finalmente, el AIB se estima utilizando la Ec. (5.4) promediando la ABTF sobre el ancho de banda de interés, véase en la Fig. 5.2 (f) como la región sombreada.

### 5.3.2 Evolución de la velocidad del sonido

En la Fig. 5.3 (a) se observa la evolución del SOS respecto al tiempo de fraguado. Además, en la Fig. 5.3 (b) se presenta la evolución de la temperatura y su variación, es decir,  $\partial T/\partial t$ . El valor inicial medido para el SOS corresponde a  $c_1 = 1477 \pm 50$  m/s cerca del valor del agua líquida a la misma temperatura (1495 m/s). El valor se ha estimado a partir de 7 medidas consecutivas de eco impulso. Hasta  $t_1 = 17,32$  min, la temperatura es aproximadamente estable y su tasa de variación es pequeña, alrededor de  $0,1^\circ\text{C}/\text{min}$ . Sin embargo, después de este tiempo ( $t_1$ ), la reacción química entre el sulfato de calcio y el agua aumenta repentinamente. Cuando la temperatura comienza a aumentar, se empiezan a detectar pequeñas variaciones de SOS.

La máxima variación de la temperatura se alcanza a 21,6 min, lo que corresponde a 1,9° C/min. Este punto corresponde a la máxima activación química exotérmica [138]. Este tiempo casi corresponde al tiempo  $t_m = 20,7$  min dado por el ajuste del modelo SOS. A partir de ese momento hay más material consolidado que el sulfato de calcio hemihidratado y agua disponible para mantener la reacción química a este ritmo y, por lo tanto, la actividad exotérmica se reduce suavemente. Entonces, a  $t_2 = 27,6$  min la temperatura alcanza su valor máximo, 35,5° C. La muestra comienza a enfriarse suavemente debido a los procesos de difusión de calor y a la falta de actividad química. Una vez completado el cambio de estado, la muestra se transforma de un líquido viscoso a un material sólido poroso. Cuando el material se solidifica, el SOS alcanza un valor estable cercano a  $c_2 = 2731,5$  m/s. El comportamiento de este sustituto óseo sintético concuerda con el reportado para otros cementos medidos usando un modo de emisión/recepción [128, 129, 130].

Como era de esperar, se puede observar que el cambio de estado del material corresponde a un aumento abrupto del SOS. Esta transición suave en particular se midió en todas las muestras, y puede describirse mediante tres fases diferentes: el estado líquido, la transición y el estado sólido. Los datos experimentales de SOS se ajustaron al modelo fenomenológico dado por la Ec. (5.2). Los parámetros del modelo ajustado describen cuantitativamente el proceso de fraguado. Estos parámetros se enumeran en la Tabla 5.1 para los 4 experimentos, mostrando valores similares.

En primer lugar, el parámetro  $c_1$  está vinculado al SOS físico en el estado inicial líquido viscoso de la muestra. El valor medio de  $c_1$  en los cuatro experimentos es de  $1514 \pm 98$  m/s. Como el material en el proceso inicial es principalmente agua con polvo no disuelto, el SOS medido para la muestra es cercano al SOS del agua. El valor final del SOS en el experimento está relacionado con  $c_2$ , es decir, el SOS del material en estado sólido. El valor medio de  $c_2$  es  $2858 \pm 155$  m/s.

El tiempo de transición para el proceso de ajuste viene dado por el parámetro  $t_m$ . Este parámetro toma un valor medio de  $t_m = 20,4$  min, muy cerca del pico de máxima actividad química exotérmica (21,6 min para la muestra 1). El factor  $\gamma$  está relacionado con la duración de la transición del estado líquido al sólido, su valor medio es  $1,8 \pm 0,3$  min<sup>-1</sup>. Por último, el factor  $\beta$  está relacionado con la simetría de la función y toma un valor medio de  $0,345 \pm 0,016$ . La dispersión de los parámetros es baja, y todos los experimentos presentan curvas de transición similares. Sin embargo, se observan algunas discrepancias en los valores de SOS, que pueden estar asociadas a la incertidumbre en la estimación del espesor de la muestra  $L$ .

**Tabla 5.1:** Parámetros ajustados para el modelo fenomenológico dado por la ecuación (5.2).

	Asimetría	Velocidad	Tiempo	SOS inicial	SOS final
	$\beta$	$\gamma$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$t_m$ (min)	$c_1$ (m/s)	$c_2$ (m/s)
(E1)	2.1	0.346	20.7	1477.2	2731.5
(E2)	1.9	0.341	20.8	1399.7	2490.9
(E3)	1.4	0.327	19.9	1553.9	2919.5
(E4)	1.7	0.367	20.1	1627.2	3049.8
Promedio	$1,8 \pm 0,3$	$0,345 \pm 0,016$	$20,4 \pm 0,4$	$1514 \pm 98$	$2858,1 \pm 155,5$

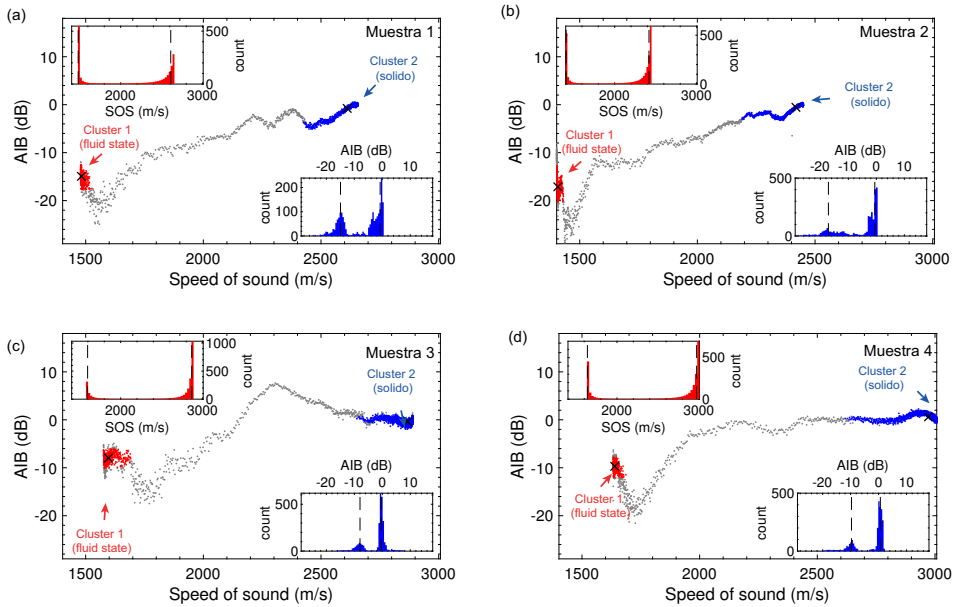
### 5.3.3 Evolución de la energía de retrodispersión integrada aparente (AIB, Apparent Integrated Backscatter)

Además del SOS, los parámetros energéticos también pueden proporcionar información sobre el cambio de fase del sulfato de calcio. En particular, mostramos en la Fig. 5.3 (c) el AIB en función del tiempo de fraguado. Además, la amplitud del primer eco también se muestra en la curva roja de la Fig. 5.3 (c). Cuando la muestra se encuentra en un estado líquido viscoso, desde  $t = 0$  hasta aproximadamente  $t_1$ , el valor medio del AIB es bajo y constante, tomando un valor de aproximadamente  $-15$  dB. Sin embargo, las estimaciones de AIB presentan una alta dispersión debido a la baja amplitud de las señales de retrodispersión. Además, la amplitud del primer eco es también muy baja. La débil dispersión y reflexión del eco son causadas por la fuerte absorción y la alta homogeneidad de la muestra en su fase inicial viscosa-líquida. Cuando comienza la reacción química exotérmica, tanto la señal del AIB como la del eco disminuyen inicialmente. El AIB baja a  $-20$  dB a los 20 minutos.

Sin embargo, a medida que la reacción continúa (después de  $t_1$ ) tanto la energía de dispersión como la amplitud máxima del eco aumentan: la absorción intrínseca del sustituto óseo sintético consolidado es menor en comparación con su fase líquido-viscosa. Así, el AIB aumenta progresivamente y su dispersión se reduce. Durante este tiempo se produce la transición de estado en el proceso de fraguado; las características mecánicas y acústicas de la muestra se modifican drásticamente y la microestructura del material sólido poroso comienza a consolidarse, lo que conduce a un aumento de la amplitud de la señal de retrodispersión. El material consolidado presenta menos absorción, y en la mitad de la transición el eco de la retrodispersión llega con una amplitud notable. Sin embargo, a medida que el estado sólido poroso se consolida en su microestructura interna, la energía de retrodispersión aumenta. Como consecuencia, la amplitud del primer eco del fondo se reduce de nuevo cuando las ondas llegan al final de la muestra con menor amplitud. Después de algunas

pequeñas oscilaciones durante la transición, el AIB termina con un valor de aproximadamente -5 dB a los 25 min.

Finalmente, después de 30 min, la muestra se transforma en estado sólido y el AIB se incrementa suavemente de -5 dB alcanzando un valor máximo de 0 dB a los 50 min. Por lo tanto, mientras la dispersión del AIB es baja y alcanza un valor estable, la cantidad de energía del pulso ultrasónico que llega al final de la muestra se reduce debido a los procesos de dispersión. Esto se debe a las propiedades finales del sustituto del injerto óseo que presentan una alta micro heterogeneidad y porosidad. Después de este tiempo, el proceso de fraguado se completa y el material es mecánica y acústicamente estable.



**Figura 5.4:** (a-d) Correlación de AIB y SOS y agrupación de las cuatro muestras. Los recuadros muestran los histogramas correspondientes de SOS (rojo) y AIB (azul). Cada grupo detectado se muestra en color (rojo y azul), correspondiendo a un estado diferente. El valor medio de cada cúmulo está marcado con cruces negras.

### 5.3.4 Correlación entre SOS y AIB

Realizamos un análisis más profundo mostrando la correlación entre AIB y SOS, en la Figura 5.4 (a-d) se presenta esta correlación para los cuatro experimentos. Para cada experimento, los recuadros muestran los histogramas correspondientes para los datos de SOS y AIB, donde se pueden observar dos picos correspondientes a los estados inicial y final. Aunque existe una correlación positiva entre AIB y SOS, los datos muestran ciertas oscilaciones.

Se puede observar una concentración de puntos experimentales en dos zonas, marcadas por flechas. Por un lado, cuando el material está en su fase líquida viscosa es cuando los valores de SOS son mínimos. Por otro lado, cuando el material es un sólido poroso tanto SOS como AIB presentan valores máximos. Como los datos experimentales se concentran en estos dos límites, podemos aplicar técnicas de agrupación para identificarlos. Se empleó aquí una técnica de agrupación espacial basada en la densidad de aplicaciones con ruido (DBSCAN) [139] para discernir entre los datos correspondientes a los dos puntos de concentración y la transición. Esto nos da los correspondientes clusters marcados en rojo y azul de la figura 5.4, ayudando a monitorizar el proceso de fraguado del cemento óseo: cuando un cluster está claramente poblado, la muestra ha alcanzado una fase estable. Obsérvese que usando sólo el histograma para el AIB algunas de las señales correspondientes al punto de transición pueden presentar el mismo AIB que en el estado final debido a las oscilaciones de este parámetro, véase por ejemplo Fig. 5.4 (c).

## 5.4 Conclusiones

Se ha monitorizado y caracterizado el cambio de estado de un sustituto de injerto óseo (sulfato de calcio) mediante un análisis de retrodispersión ultrasónica. La temperatura, la velocidad del sonido (SOS) y la energía de retrodispersión aparentemente integrada (AIB) se midieron durante el proceso de ajuste de la muestra mediante una técnica de eco impulso. La evolución de la SOS muestra una transición suave entre dos valores límite, correspondientes al estado líquido viscoso y sólido poroso de las muestras de sulfato de calcio. Se encuentra una excelente concordancia entre la evolución del SOS y un modelo simple fenomenológico para describir el proceso de fraguado. Los experimentos también muestran una buena repetibilidad.

Además, se muestra que la evolución del AIB está correlacionada con el SOS. La energía de retrodispersión aparente integrada ha demostrado ser un parámetro apropiado para describir la transición de un estado viscoso líquido, con valores

alrededor de -15 dB, a un sólido poroso complejo, con valores alrededor de 0 dB.

Si bien todos los experimentos mostraron una dinámica similar, en el caso del SOS las diferencias en los valores iniciales y finales son notables. Esto podría deberse a las incertidumbres en la estimación del espesor de la muestra en la fase líquida viscosa del cemento óseo. Para el AIB existen también discrepancias entre las muestras, pero en todos los casos la magnitud del parámetro en el estado final es al menos 10 dB mayor que al principio del experimento, y este parámetro es notablemente constante al final del experimento. La técnica basada en la retrodispersión energética ha demostrado ser más robusta que la técnica de velocidad ultrasónica. Obsérvese que para AIB no se requiere la medida del espesor. Esta relación confirma que el análisis de retrodispersión con ultrasonido es una herramienta poderosa para monitorizar materiales complejos con propiedades mecánicas que varían en el tiempo utilizando un solo transductor apropiado y técnicas de eco impulso.

Este estudio representa una contribución al uso de los ultrasonidos para el seguimiento de la ROG. Se ha utilizado un sustituto óseo sintético como modelo óseo porque sus propiedades mecánicas cambian durante el proceso de fraguado de un líquido viscoso a un material rígido y poroso, como ocurre, con simplificaciones razonables, en las aplicaciones de la ROG. La técnica, que utiliza un único transductor, podría proporcionar un sistema de bajo costo, pero presenta algunas limitaciones. En un escenario clínico, será difícil localizar la sonda ultrasónica en el mismo punto durante el proceso de monitorización real, que dura de seis meses a nueve meses. Posibles mitigaciones de esta limitación pueden ser el uso de un sistema portátil de bajo costo para incorporar en el análisis de retrodispersión la información espacial o el uso o la utilización de una férula dental específica del paciente para controlar la ubicación de un transductor ultrasónico de un solo elemento. Por lo tanto, muchas cuestiones prácticas siguen abiertas y deben ser exploradas. Entre ellas figuran el efecto del acoplamiento variable del transductor y el tejido entre las adquisiciones, el comportamiento mecánico/acústico del tejido real durante la regeneración ósea, las propiedades de dispersión de estos tejidos no consolidados y consolidados, la variabilidad de los pacientes o el impacto de las propiedades intrínsecas de los huesos reales durante la regeneración, por ejemplo, la porosidad, la viscosidad, en los parámetros estimados. Estas cuestiones deberían explorarse en estudios futuros. La técnica que aquí se propone para los implantes dentales también puede explorarse para estudiar otros tipos de implantes como el cuello femoral. Por supuesto, debe utilizarse un transductor apropiado para ajustarse



a los requisitos del campo sonoro impuesto por la profundidad de penetración desde la superficie hasta la zona de inspección.

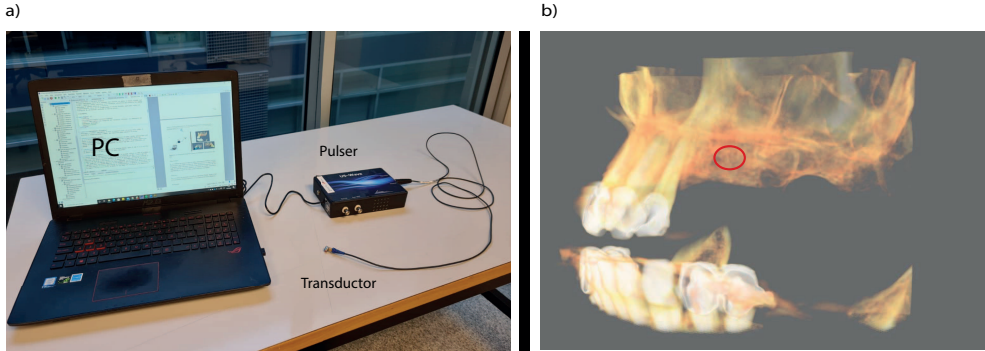
Por último, cabe mencionar que una ventaja del análisis de retrodispersión con respecto a la velocidad del sonido es que mediante las técnicas de retrodispersión no es necesario conocer el grosor de la muestra. Esto es un beneficio significativo para las aplicaciones de implantes previstos *in vivo*, en las que se puede monitorizar la ROG.



# Sistema de monitorización de la regeneración ósea guiada para experimentos in vivo

---

En este capítulo se diseña y caracteriza un sistema de monitorización de la regeneración ósea guiada (ROG) basado en la técnica de eco impulso y en los parámetros de retrodispersión testados en el capítulo 5 para ser utilizado en un procedimiento clínico. Se describen los diferentes aspectos a tener en cuenta a la hora de realizar la monitorización: las dimensiones del sistema de medida deben adaptarse a la boca del paciente, la zona de interés debe de estar bien señalizada y la presión que se ejerce con el transductor sobre la boca del paciente debe tenerse en cuenta. Para ello se realiza un estudio in vivo con personas sanas, y un experimento ex vivo en cerdo. En este capítulo se realiza un prototipo y se propone un protocolo de medida para realizar un futuro estudio clínico.



**Figura 6.1:** (a) Parte electrónica del dispositivo experimental. (b) Tomografía computarizada de haz cónico (CBCT) de la boca del paciente con la zona de interés marcada.

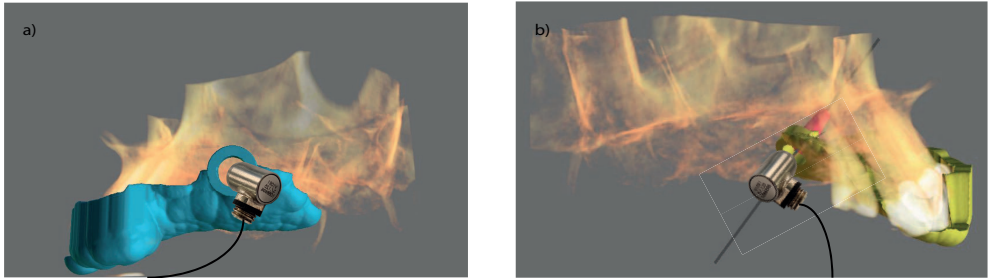
## 6.1 Diseño del dispositivo de monitorización.

El dispositivo que vamos a utilizar para la monitorización de la ROG consta de una parte electrónica y una mecánica. La parte electrónica consiste en un ordenador para procesar los datos, un *pulser receiver* para enviar y registrar señales eléctricas y un transductor ultrasónico que convierte las señales eléctricas en señales acústicas y viceversa. Véase en la figura 6.1,(a) el dispositivo experimental de la parte electrónica.

La parte mecánica consta de un sistema basado en férulas dentales para poder sujetar el transductor de ultrasonidos en el interior de la boca del paciente orientado hacia la zona de interés. En la figura 6.1,(b) se observa una tomografía computarizada de haz cónico (CBCT de sus siglas en inglés) de la boca del paciente. Destaca en rojo la zona donde falta hueso y donde se realizará la operación. En la fig. 6.2,(a) y (b) se observa una férula con la sujeción desde el exterior y desde el interior de la maxila respectivamente.

### 6.1.1 Equipamiento ultrasónico

El equipamiento de ultrasonidos para la monitorización incluye varios elementos con ciertas características. Para la correcta utilización del sistema, se requiere que este sea portable y cómodo de usar, de forma que sus dimensiones se adecúen a las del entorno bucal. El equipamiento ultrasónico consta de 3 partes, el sistema de generación y recepción de señales de ultrasonidos, la estación de trabajo y el transductor ultrasónico.



**Figura 6.2:** (a) Férula con sujeción del transductor exterior. (b) Férula con sujeción del transductor interior.

### *Emisor - receptor*

Para emitir los pulsos de excitación eléctrica del transductor, así como para registrar los pulsos eléctricos causados por los ecos de las señales acústicas, se utiliza el sistema US-wave (Lecoeur Electronique, Chuelles, France). La señal recibida se digitaliza en el mismo dispositivo a una frecuencia de muestreo de 125 MHz. Se trata de un sistema compacto que cuenta con emisión, recepción y digitalización; se conecta vía USB a una estación de trabajo y se controla mediante el software Matlab.

### *Estación de trabajo para cálculo y computación*

Se utiliza un ordenador portátil con el software Matlab, desde el cual se controla el emisor - receptor y se procesarán los datos medidos.

### *Transductor*

Como emisor y receptor acústico se ha utilizado el transductor de ultrasonidos V1091 de OLYMPUS con una frecuencia central nominal de 5 MHz. Tiene un ancho de banda de 2,44 MHz a 7,46 Mhz (-6 dB). Este dispositivo presenta un diámetro de  $D = 4$  mm y una relación entre el diámetro y la longitud de onda de  $D/\lambda = 1,42$ . La elección del dispositivo es el resultado del compromiso entre una pequeña dimensión física obligatoria para facilitar la aplicación dental particular y una alta relación  $D/\lambda$  para mejorar la energía acústica recogida por el transductor. La figura 6.3 muestra una fotografía del transductor.

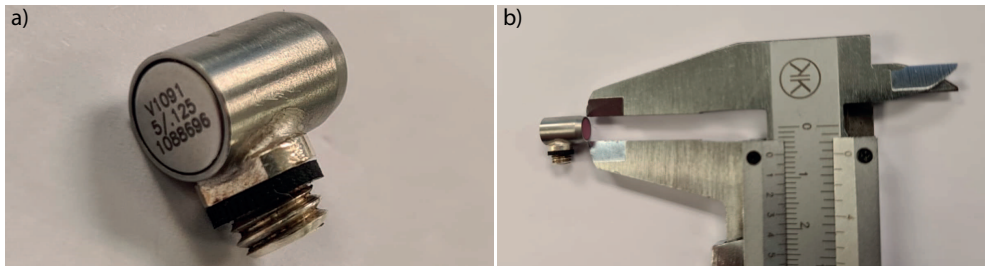


Figura 6.3: (a) Fotografía y (b) dimensiones del transductor V109 utilizado.

### 6.1.2 Prototipos de sujeción del transductor

Para realizar el proceso de monitorización de la ROG es necesario localizar con precisión la zona de interés. También es necesario que el sistema sea robusto. Se han diseñado y construido 5 prototipos. El número de prototipos es el resultado de varios ensayos teniendo en cuenta diferentes consideraciones, como son: (1) el posicionamiento de la sonda de ultrasonidos (cara exterior del maxilar o cara interior), y (2) la sujeción de ésta (*hendidura, soporte u orificio*).

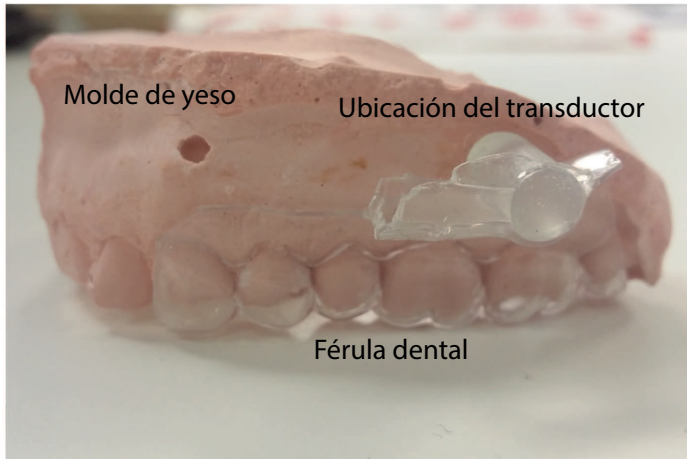
#### Prototipo 1. Férula acrílica

- Proceso de elaboración:

La férula dental acrílica se construye mediante un proceso que consta de dos partes. La realización de un molde dental del paciente, primero obteniendo un negativo con alginato [140] y, posteriormente, fabricando un molde positivo por medio de un yeso dental que debe prepararse y secarse. Una vez secado, se utiliza para confeccionar la férula acrílica mediante una máquina de vacío, adaptando una resina acrílica al molde de yeso. Previamente se ha imprimido con una impresora 3D una réplica del transductor, la cual se incorpora en el diseño de la férula, como vemos en la Fig 6.4. El transductor se coloca acorde al criterio del odontólogo que va a realizar la operación de ROG, pero siempre desde la cara exterior de los dientes.

- Características:

- Férula de construcción mecánica.
- Transductor en la cara exterior del maxilar.



**Figura 6.4:** Fotografía de un molde de yeso con el prototipo de la férula dental acrílica.

- Sujeción tipo *soporte*.
- Ventajas:
  - Bajo coste.
- Inconvenientes:

El proceso de elaboración es laborioso y rudimentario. Esto provoca que exista poca precisión a la hora de colocar el soporte del transductor en la zona de interés. La fricción del transductor con la parte exterior maxilar resulta molesta para el paciente. La elección de la zona de interés es subjetiva, ya que se basa en el criterio subjetivo del especialista odontólogo.

#### *Prototipo 2. Férula exterior con hendidura*

- Proceso de elaboración:

Mediante el uso de un escáner intraoral se capturan las estructuras anatómicas de la cavidad bucal, permitiendo crear un documento digital de la misma sobre el que se diseña la férula mediante CAD (Computer-aided design), tal y como se muestra en la Fig.6.5 (a). El escáner proyecta una luz sobre el tejido dentario, captura y procesa los datos obtenidos mediante sensores para crear imágenes 3D. Esta información es equivalente

a la que proporcionan los moldes fabricados con alginato. A partir de la imagen 3D se utiliza el software Meshmixer Autodesk (version 3.5, Autodesk, CA, USA, 2019) para editar la imagen, se carga el archivo STL (STereoLithography) de la boca del paciente y se diseña la férula con una *hendidura* situada en la zona de interés, tomando en consideración las recomendaciones del odontólogo.

■ Características:

- Férula de construcción digitalizada. Impresa con impresora 3D con tinta Clear FLGPCL04.
- Transductor en la cara exterior del maxilar.
- Sujeción tipo *hendidura*.

■ Ventajas:

El escáner intraoral proporciona mayor precisión y versatilidad a la hora de diseñar las férulas dentales.

■ Inconvenientes:

La sujeción tipo *hendidura* no proporciona estabilidad suficiente al transductor. La fricción del transductor con la parte exterior maxilar resulta molesta para el paciente. El odontólogo basándose en su propia experiencia profesional elige la zona de interés de manera subjetiva, perdiendo así precisión.

### *Prototipo 3. Férula exterior con soporte*

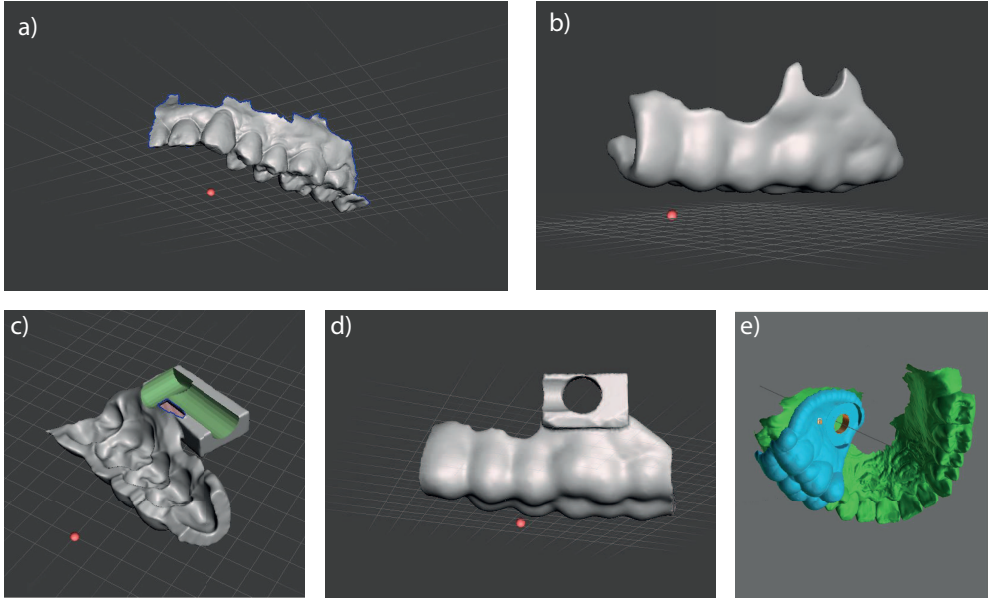
■ Proceso de elaboración:

El proceso de elaboración del prototipo 3 es igual al del prototipo 2, a diferencia de que se ha utilizado una sujeción tipo *soporte* con objeto de apoyar el transductor, como podemos ver en la figura 6.5, (c).

■ Características:

- Férula de construcción digitalizada. Impresa con impresora 3D con tinta Grey FLGPGR04.
- Transductor en la cara exterior del maxilar.





**Figura 6.5:** (a) Captura 3D del escáner intraoral. (b) Férula exterior con hendidura. (c) Férula exterior con soporte para transductor en verde. (d) Férula exterior con orificio. (e) Férula interior con orificio

- Sujeción tipo *soporte*.

- Ventajas:

El escáner intraoral proporciona mayor precisión y versatilidad a la hora de diseñar las férulas dentales. El tipo *soporte* ofrece estabilidad para la colocación del transductor.

- Inconvenientes:

La sujeción tipo *soporte* impide aplicar presión por parte del odontólogo en el transductor sobre la zona de interés, esto impide tener un acoplamiento perfecto. La fricción del transductor con la parte exterior maxilar resulta molesta para el paciente. La elección de la zona de interés es subjetiva.

#### Prototipo 4. Férula exterior con orificio

- Proceso de elaboración:

El proceso de elaboración del prototipo 4 es igual al del prototipo 2 y el prototipo 3, a diferencia de que se ha utilizado una sujeción tipo *orificio* como podemos ver en la figura 6.5, (d).

- Características:

- Férula de construcción digitalizada. Impresa con impresora 3D con tinta Grey FLGPGR04.
- Transductor en la cara exterior del maxilar.
- Sujeción tipo *orificio*.

- Ventajas:

El escáner intraoral proporciona gran precisión y versatilidad para el diseño de las férulas dentales. La sujeción de tipo *orificio* presenta estabilidad para la colocación del transductor. Además, permite aplicar presión sobre el transductor, permitiendo así ajustar el acoplo con la zona de interés.

- Inconvenientes:

La fricción del transductor con la parte exterior maxilar resulta molesta para el paciente. La elección de la zona de interés es subjetiva.

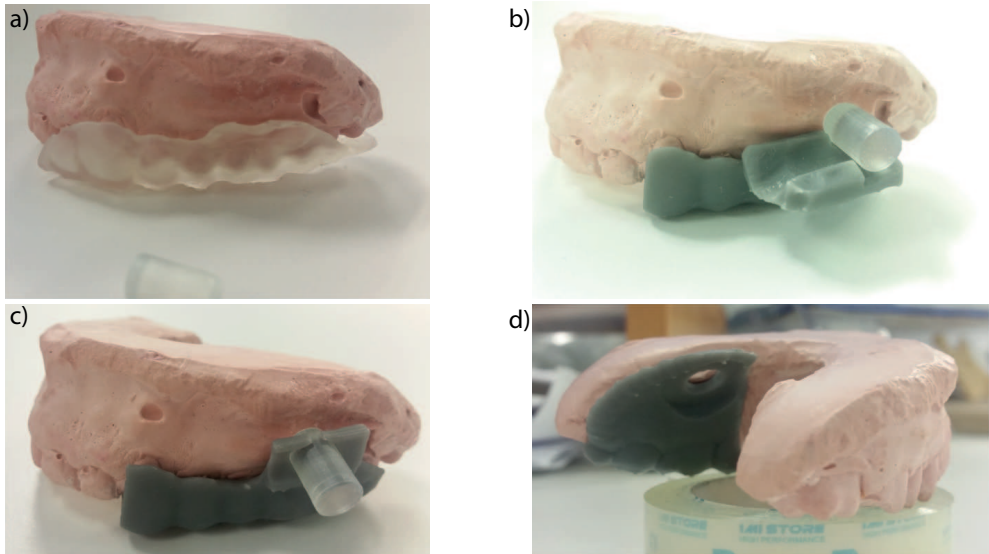
#### Prototipo 5. Férula interior con orificio

- Proceso de elaboración:

El proceso de elaboración del prototipo 5 es igual al del prototipo 2, a diferencia de que se ha utilizado el software Blue Sky Plan 4. El software permite utilizar la CBCT del paciente, lo que facilita la localización de la zona de interés. Además, utilizamos una sujeción tipo *orificio* como podemos ver en la figura 6.5, (e).

- Características:

- Férula de construcción digitalizada. Impresa con impresora 3D con tinta Grey FLGPGR04.
- Transductor en la cara interior del maxilar.



**Figura 6.6:** (a) Férula exterior con hendidura. (b) Férula exterior con soporte. (c) Férula exterior con orificio. (d) Férula interior con orificio.

- Sujeción tipo *orificio*.
- Ventajas:
- Inconvenientes:

No se observa ningún inconveniente.

Para probar los distintos prototipos, se han impreso los distintos diseños de férula dental con una impresora 3D (Formlabs, Form 2) con las resinas Grey FLGPGR04 y Clear FLGPCL04. (Ver la figura 6.6).

Para realizar los distintos estudios se han decidido utilizar prototipos con el método *orificio* para la sujeción del transductor, ya que presentan mayor estabilidad y comodidad para el paciente, fig. 6.6 (c,d), por lo que se descartan los

**Tabla 6.1:** Prototipos de sujeción del transductor

	Ventajas	Inconvenientes
Férula acrílica (P1)	Bajo coste	Laborioso y rudimentario Sujeción no estable Fricción molesta Zona de interés subjetiva
Férula exterior con hendidura (P2)	Precisión y versatilidad	Sujeción no estable Fricción molesta Zona de interés subjetiva
Férula exterior con soporte (P3)	Precisión y versatilidad	Difícil ejercer presión Fricción molesta Zona de interés subjetiva
Férula exterior con orificio (P4)	Precisión y versatilidad Estabilidad Permite presión	Fricción molesta Zona de interés subjetiva
Férula interior con orificio (P5)	Precisión y versatilidad Estabilidad Permite presión	No se observan inconvenientes

prototipos 1 acrílico, prototipo 2, férula exterior con hendidura y prototipo 3, férula exterior con soporte. Ver figura 6.4 y figura 6.6 (a,b).

### 6.1.3 Parámetros de seguridad

El transductor y el pulser utilizados cumplen con la recomendación según las guías de buenas prácticas del Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales y el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo NTP 205 [141]. En este documento se detallan los límites de exposición a ultrasonidos transmitidos por contacto según el criterio citado por Nyborg en 1978 [142]. Se considera que, con independencia del tiempo de exposición, el valor umbral por debajo del cual no se aprecian efectos biológicos es de  $100 \text{ mW/cm}^2$ . Además, se recomienda que se deben de evitar exposiciones a intensidades mayores de  $10 \text{ W/cm}^2$ .

Con objeto de comprobar que se cumple con este criterio, se propone un diseño experimental para la medida de la intensidad máxima del sistema fig. 6.7 (a). Se ha utilizado un hidrófono HGL-0200(Onda Corp., Sunnyvale, CA). Este hidrófono esta calibrado a la frecuencia de interés del sistema y presenta una respuesta plana. La sensibilidad a 5 Mhz es de  $19.71 \mu V/MPa$ . Se ha realizado un barrido lineal en 2 dimensiones utilizando unos ejes (PI L511 Physik Instrumente) controlados con unos motores (PI C884 Physisk Instrumente), dentro de un tanque de agua, para calcular la intensidad acústica máxima. En la figura 6.7 (b,c) se representa la amplitud de pico en voltios, medida con el hidrófono. A partir de la amplitud y la sensibilidad del hidrófono calculamos la presión máxima, a partir de esta, calculamos la intensidad en  $W/m^2$ . La expresión para la intensidad acústica máxima,  $I_{max}$ , proporcionada por la norma IEC 61157:2007 [143] es:

$$I_{max} = p_{max}^2 / \rho c, \quad (6.1)$$

Donde  $p_{max}$  es la presión acústica máxima.  $\rho$  es la densidad del medio, y  $c$  es la velocidad del sonido en el medio.

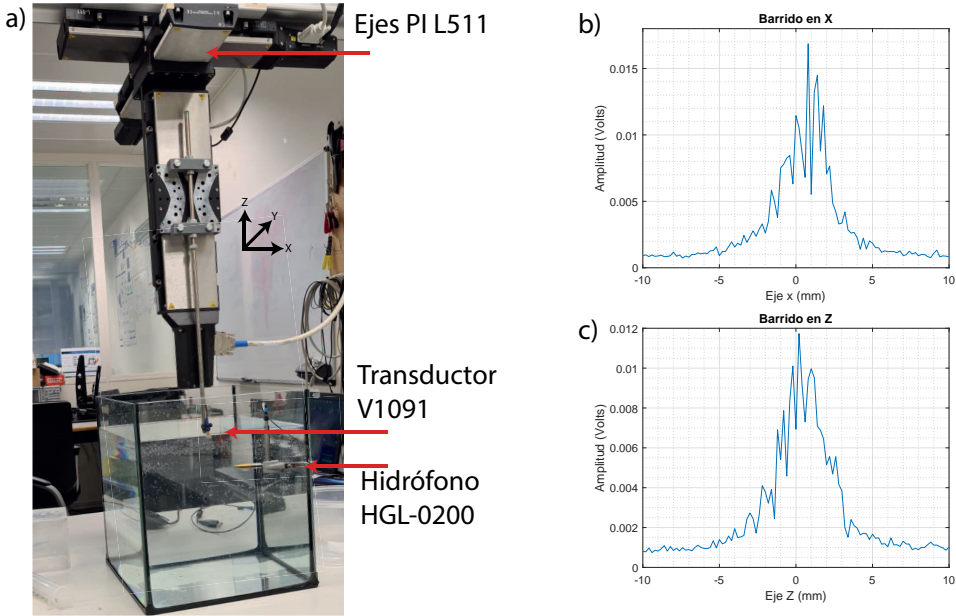
La presión acústica máxima es de  $85.52 kPa$ . La intensidad resultante es de  $0.4875 mW/cm^2$ , siendo mucho menor que el límite establecido por Nyborg. De este modo, podemos utilizar el transductor en humanos sin que se aprecien efectos dañinos.

## 6.2 Estudio del posicionamiento del transductor de ultrasonidos.

### 6.2.1 Introducción

Como vemos en el apartado anterior, los prototipos 4, férula exterior con orificio, y 5, férula interior con orificio, son los que más ventajas presentan en comparación con los otros prototipos. En este apartado se realiza un experimento in vivo para comparar la estabilidad de la señal ultrasónica y, así, determinar la zona idónea donde se va a colocar el transductor: (interior o exterior) del maxilar.

Se ha realizado un experimento donde se miden los parámetros de retrodispersión in vivo con un voluntario, probando los prototipos y analizando dos parámetros. Por una parte, la comodidad del paciente valorada de forma subjetiva

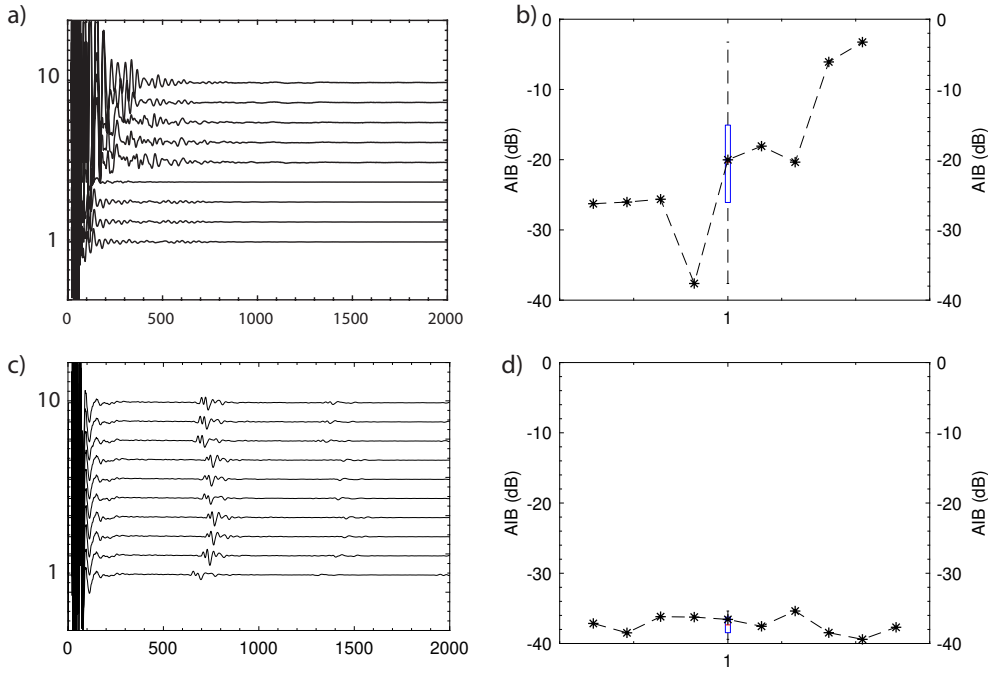


**Figura 6.7:** (a) Dispositivo experimental (b) Amplitud en voltios medidos con el hidrófono en un barrido en el eje X. (c) Amplitud en voltios medidos con el hidrófono en un barrido en el eje Z.

y, por otra, la calidad de los parámetros de retrodispersión. A continuación se presentan los detalles del experimento, así como los resultados del estudio.

### 6.2.2 Materiales y métodos

Se ha utilizado el transductor de Olympus V1091 con una frecuencia de trabajo centrada en 5 MHz, de unas dimensiones de 0.125 pulgadas y un ancho de banda a -6dB de 2.44 a 7.46 MHz. Un emisor receptor US-Expert de Lecoeur y un ordenador con el software Matlab para procesar los datos. Para evitar el contacto directo de la boca del paciente con el transductor se envuelve el mismo con una capa de nitrilo. Usamos vaselina entre el transductor y el nitrilo para conseguir un buen acoplamiento acústico entre ambos. Se coloca la férula dental en el paciente y se realizan 10 medidas de 100 capturas cada una. Se estudian las dos férulas midiendo el parámetro de retrodispersión aparente integrado (AIB). Entre cada una de las 10 medidas, un operario retira la férula y el transductor de la boca del paciente y las vuelve a instalar, para comprobar la robustez en los resultados de retrodispersión.



**Figura 6.8:** (a) Datos en bruto de la férula exterior. (b) Resultado AIB de la férula exterior. (c) Datos en bruto de la férula interior. (d) Resultado AIB de la férula interior.

### 6.2.3 Resultados

En las siguientes figuras se presentan los resultados obtenidos a partir de las medidas realizadas con las distintas férulas. En el eje de ordenadas de la figura 6.8, (a), se representa el número de medida realizada, y en el eje de abscisas el número de muestras de la señal de ultrasonidos. La figura representa en modo de cascada las diez medidas tomadas utilizando la férula exterior. En el eje de ordenadas de la Figura 6.8, (b) se muestra el resultado del AIB en dB. Los asteriscos muestran cada uno de los resultados experimentales y en el centro observamos un diagrama de caja y bigotes donde se representa el resultado promedio y la desviación típica de las medidas. Los resultados para la férula dental exterior muestran una desviación típica de 10.0 dB en el AIB. Como se puede observar en la gráfica, las medidas presentan una elevada dispersión. Por otra parte, el contacto del transductor con la parte superior de la encía es molesto para el paciente y el acoplamiento es inestable debido a las irregularidades en esa zona ósea maxilar de cada paciente.

Si observamos la figura 6.8, (c), se pueden ver las señales de ultrasonidos obtenidas a partir de las medidas realizadas con la férula interior. Se observa que existe buena repetibilidad en los resultados. En la fig. 6.8, (a), se comparan los resultados de retrodispersión del prototipo 4, férula exterior con orificio y el prototipo 5, férula interior con orificio. Existe una gran diferencia ya que en 6.8, (c), hay una buena estabilidad entre las distintas medidas que en 6.8, (a) no existe. En la figura 6.8, (d), podemos apreciar el resultado de AIB en dB, los asteriscos representan el resultado de cada una de las medidas y en el centro se presenta un diagrama de caja y bigotes. La desviación típica que obtenemos es de 1.2 dB.

#### 6.2.4 Conclusiones

Se ha demostrado que la utilización del prototipo 5, férula interior con orificio, presenta ventajas respecto del prototipo 4, férula exterior con orificio, por tres motivos. En primer lugar el paciente manifiesta que dicha férula presenta una mayor comodidad en su colocación en la cavidad bucal y, también, durante el proceso de medida. En segundo lugar, el transductor de ultrasonidos se adapta mejor al tejido del paladar, al ser un tejido con pocas irregularidades. Esto facilita el acoplo del transductor. En tercer lugar, los resultados de AIB muestran una desviación de 1.2 dB cuando la medida se realiza con el transductor orientado al interior de la cavidad bucal, es decir, en el paladar. En cambio, una desviación mayor de 10 dB se obtiene a partir de las medidas que se realizan con el transductor colocado en el exterior del maxilar. Por tanto, se concluye de este estudio que la mejor opción para el sistema de sujeción es utilizar una férula dental con orificio desde el interior del maxilar.

### 6.3 Estudio del acoplamiento transductor - tejido.

#### 6.3.1 Introducción

En este apartado se estudia el efecto de ejercer una presión al apoyar el transductor con el tejido humano, en las señales de retrodispersión. El paladar es duro, pero en medio hay una capa de piel y saliva que presenta menor rigidez. La presión que ejerce el odontólogo con el transductor puede afectar en el acoplamiento mecánico y acústico del transductor y el paladar. Se propone aquí un estudio para poder evaluar el efecto de la presión estática del transductor sobre el paladar en la estimación de la retrodispersión de las ondas de ultrasonido. Para ello se realiza un estudio simplificado en el que una gelatina simula

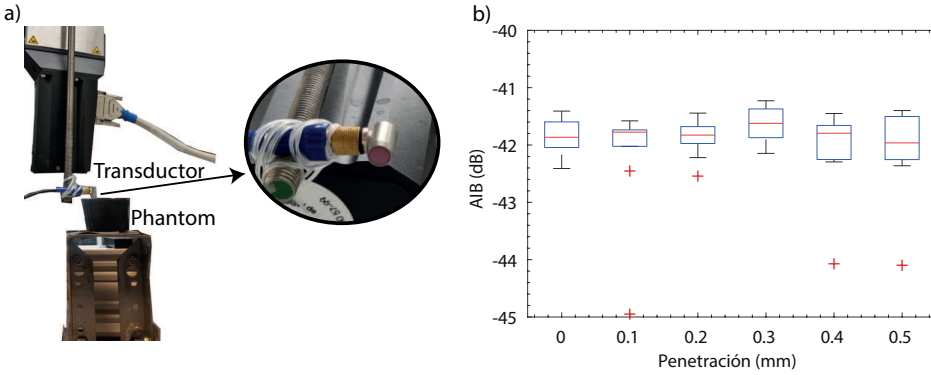


el comportamiento acústico de un tejido blando. El experimento consiste en estimar el AIB al ejercer una presión estática controlada del transductor sobre la gelatina.

### **6.3.2 Materiales y métodos**

En este experimento, para simular el tejido utilizamos una gelatina con dispersores de grafito, la gelatina se comporta como un tejido blando y los dispersores son necesarios para poder calcular los parámetros de retrodispersión, los dispersores de grafito tienen un tamaño, ( $\mu m$ ), mucho menor a la longitud de onda por lo que estamos en el régimen de Rayleigh. La muestra se ha realizado con 3.4 g de polvo de gelatina, 35 ml de agua destilada y 0.6 g de grafito en polvo. Para simular las distintas presiones estáticas utilizamos un sistema de ejes (PI L511 Physik Instrumente) controlados cada uno con un motor (PI C884 Physik Instrumente). El sistema se controla con un ordenador con Matlab. Para la realización de las medidas ultrasónicas se ha utilizado un transductor Olympus V1091 con una frecuencia centrada en 5 MHz y un emisor-receptor (US-Wave Lecoer).

El protocolo de medidas es el siguiente: en primer lugar el transductor es colocado en la superficie superior de la gelatina para realizar la primera medida. Cada medida captura 100 señales. Para minimizar el ruido las señales capturadas son promediadas. Seguidamente, el transductor es separado y colocado sobre la muestra un total de 10 veces, tomado 10 medidas distintas. Después, se ejerce la primera presión desplazando el transductor 0.1 mm hacia el interior de la gelatina. Esto provoca una compresión de la misma en la dirección entre el transductor y el fondo en el que se apoya la gelatina. Se repite el procedimiento de medida con desplazamientos en la misma dirección de 0,1mm y secuencias de medidas sucesivas hasta llegar a 0.5 mm. El proceso completo consiste en 6 disposiciones distintas del transductor en la gelatina con 10 medidas y 100 señales cada una, resultando un total de 6000 señales medidas. A partir de estas señales calculamos el valor del AIB promediando las señales en cada una de las posiciones del transductor. En la figura 6.9 (a), se observa el dispositivo experimental utilizado.



**Figura 6.9:** (a) Dispositivo experimental. Transductor de ultrasonidos conectado a un eje vertical motorizado para desplazarse sobre el phantom. (b) Resultados AIB del experimento de presión.

### 6.3.3 Resultados

En el eje de ordenadas de la figura 6.9, (b) está representado el AIB en dB y en el eje de abscisas está representada la posición del transductor respecto de la posición de la superficie superior de la gelatina en mm. El diagrama de caja y bigotes muestra que, para la posición inicial, es decir, desplazamiento nulo, el resultado es de -41.8 dB con una desviación de  $\pm 0.2$  dB. Para una penetración de 0.5 mm el resultado de AIB es de -41.8 dB con una desviación de  $\pm 0.4$  dB. El valor de la desviación típica varía muy poco según se desplaza el transductor hacia el interior de la gelatina.

### 6.3.4 Conclusiones

Como se muestra en los resultados obtenidos, la aplicación de una presión estática de decenas de mm con el transductor sobre un phantom con dispersores no influye de manera determinante en el resultado del AIB. Los valores de las presiones estáticas consideradas en este estudio son del mismo orden que la presión que puede ejercer un doctor con el transductor sobre un paciente ya que en el paladar, el margen de tejido blando es del orden de micras.

## 6.4 Estudio ex vivo en cerdo

### 6.4.1 Introducción

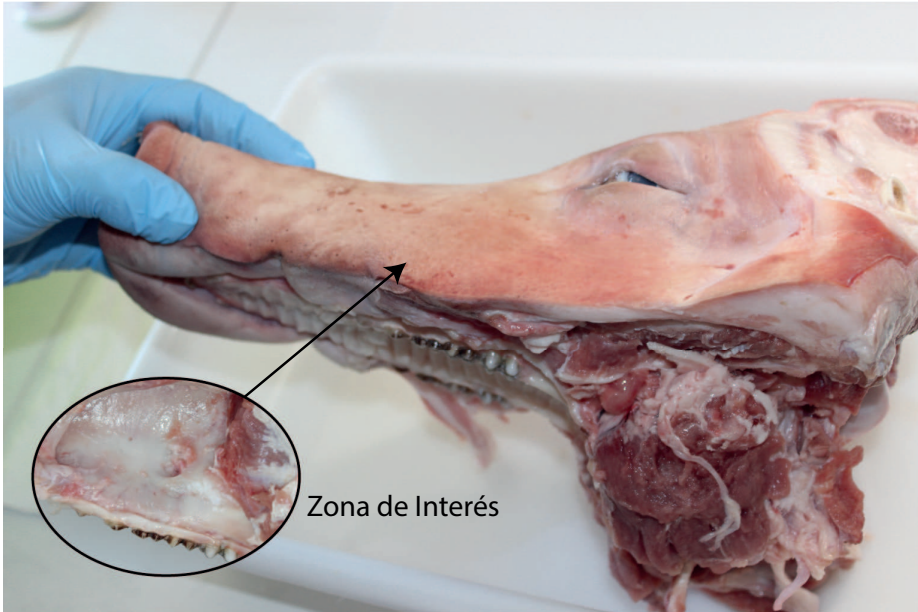
En este apartado se va a probar la técnica utilizada en el capítulo 5 en un animal ex vivo para validar los parámetros de retrodispersión con la técnica de eco impulso en tejidos biológicos. Para ello se ha realizado el mismo proceso que una operación de ROG con la colaboración del odontólogo Dr. Joan Faus López, utilizando el hueso maxilar de un cerdo muerto. En este experimento se pretende comprobar la viabilidad de la técnica en tejidos similares a los humanos. Con una particularidad, debido a que el cerdo está muerto, el proceso de regeneración de los tejidos óseos no tiene lugar. En cambio, el estado del objeto a estudio es adecuado para analizar la situación en el estado final del proceso: cuando el hueso ya se ha regenerado. Se tomarán así medidas sobre un hueso maxilar de cerdo sano para estimar la retrodispersión de las ondas ultrasonoras. Igualmente, se realizarán medidas sobre el injerto óseo utilizado para la ROG, que equivaldría a la medida inicial donde aún no se ha regenerado el hueso.

### 6.4.2 Materiales y métodos

En la figura 6.10 se observa la cabeza del cerdo sobre la que se va a realizar la operación de regeneración ósea. Siguiendo las instrucciones del odontólogo, se han quitado los tejidos blandos y se ha marcado la zona de interés donde se va a realizar la operación. En esta zona se realizan las medidas ultrasónicas, antes y después de la operación.

Para la parte ultrasónica se han utilizado los transductores Olympus V1091 y V382 centrados en 5 MHz y 3.5 MHz, respectivamente, para excitar el sistema y la adquisición de datos se ha utilizado un pulser receiver US-Wave (Lecoeur Electronique). Entre las herramientas y materiales utilizados para la operación odontológica, se ha utilizado un bisturí ultrasónico y trifosfato cálcico.

En la figura 6.11 se muestran diversas imágenes que ilustran las distintas etapas en la operación de ROG. En 6.11 (a) el marcado con el bisturí sobre la zona de interés, en la figura 6.11 (b). Se observa la extracción del hueso cortical con el bisturí piezoeléctrico. En la figura 6.11 (c), se aprecia la cavidad donde se va a regenerar el hueso. En la figura 6.11 (d), se ve como se ha depositado el trifosfato cálcico en el orificio. Por último, en 6.11 (e), vemos un fotograma que muestra la toma de una medida con el transductor de ultrasonidos V382 con una frecuencia central de 3.5 Mhz.



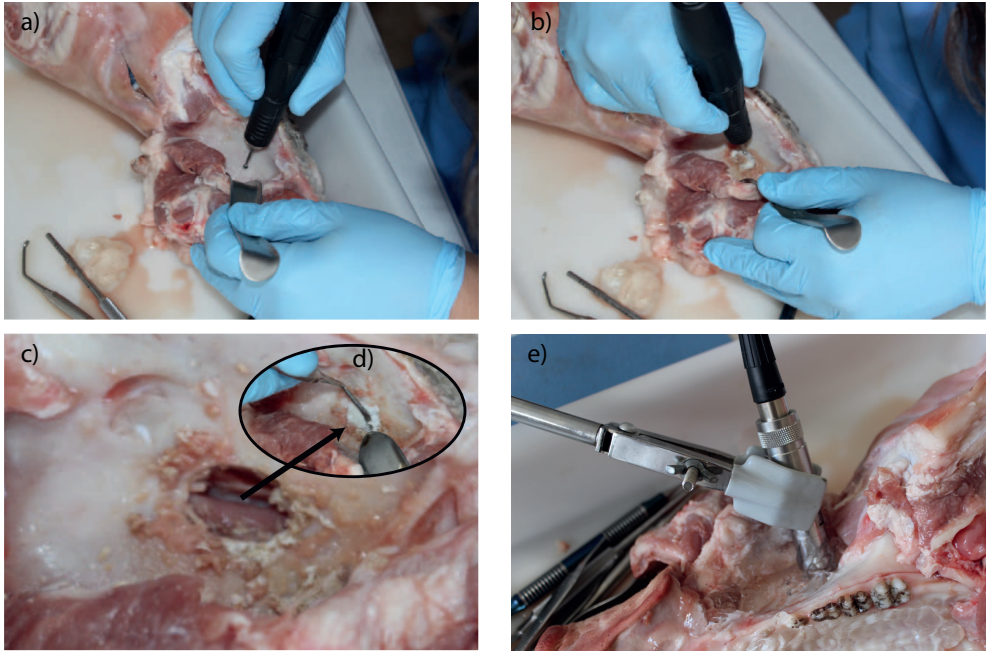
**Figura 6.10:** Muestra ex-vivo y zona de interés donde se realiza la ROG.

Una vez realizada la operación se miden señales de eco impulso de la zona de interés, con los distintos transductores monoelemento.

### 6.4.3 Resultados

A continuación se analizan los resultados obtenidos con los transductores de 5 MHz y 3.5 MHz. Con objeto de calibrar las señales, se ha utilizado una señal de referencia analizando la onda acústica que se refleja en un sólido metálico plano en agua. A partir de las señales de referencia, se ha calculado el AIB para todas las señales medidas, como se describe en [137] y en el capítulo 3.1.5. En la siguiente tabla podemos observar la estimación del AIB en dB y de la varianza obtenida pre y postoperatorio con los dos transductores utilizados.

En la tabla 6.2 se muestra el resultado del AIB promediado para las señales adquiridas en preoperatorio con el transductor centrado en 5 MHz que es de -22.06 dB, con una desviación típica de 2.06 dB. El resultado postoperatorio es de  $-30.90 \pm 1.55$  dB, se observa una diferencia de 8.84 dB, siendo significativamente menor la energía retrodispersada tras la operación de ROG. Para



**Figura 6.11:** (a) Marcado de la zona de interés para ROG. (b) Extracción de hueso cortical para ROG. (c) Cavity para regeneración ósea. (d) Rellenado con trifosfato cálcico. (e) Medida con transductor US 3.5 MHz.

el transductor de 3.5 MHz se obtiene en preoperatorio  $-26.85 \pm 5.55$  dB y en el postoperatorio  $-29.60 \pm 0.65$  dB. De igual manera, en este caso la energía retrodispersada disminuye en el tejido duro, aunque la diferencia es menor, de 2.75dB. En ambos casos la variación producida en el AIB es menor que el error de la medida.

#### 6.4.4 Conclusiones

En este estudio se ha medido por medio de ultrasonidos la retrodispersión de las ondas en un tejido biológico ex vivo. Para ello, se ha utilizado un transductor de ultrasonidos con una frecuencia central de 5 MHz y un transductor con una frecuencia central de 3.5 MHz para medir el AIB antes y después de realizar una operación de ROG. Se descarta el uso del transductor de 3.5 MHz en humanos, debido a que la diferencia de las medidas es menor al error de la propia medida. Se obtienen unos resultados para el transductor de 5 MHz de -22 dB en preoperatorio y -30 dB en postoperatorio con una diferencia de 8

**Tabla 6.2:** Resultados AIB antes de la operación y después de ella, obtenidos con dos transductores monoelemento centrados en 5 MHz y 3.5 MHz.

	AIB Preoperatorio		AIB Postoperatorio	
	Promedio (dB)	Std (dB)	Promedio (dB)	Std(dB)
5 MHz	-22.06	2.06	-30.90	1.55
3.5 MHz	-26.85	5.55	-29.60	0.65

dB entre los dos estados. En el siguiente estudio, se pretende utilizar la misma técnica para monitorizar el proceso de ROG in vivo en humano.

## 6.5 Diseño del dispositivo de medida in vivo en humano

### 6.5.1 Introducción

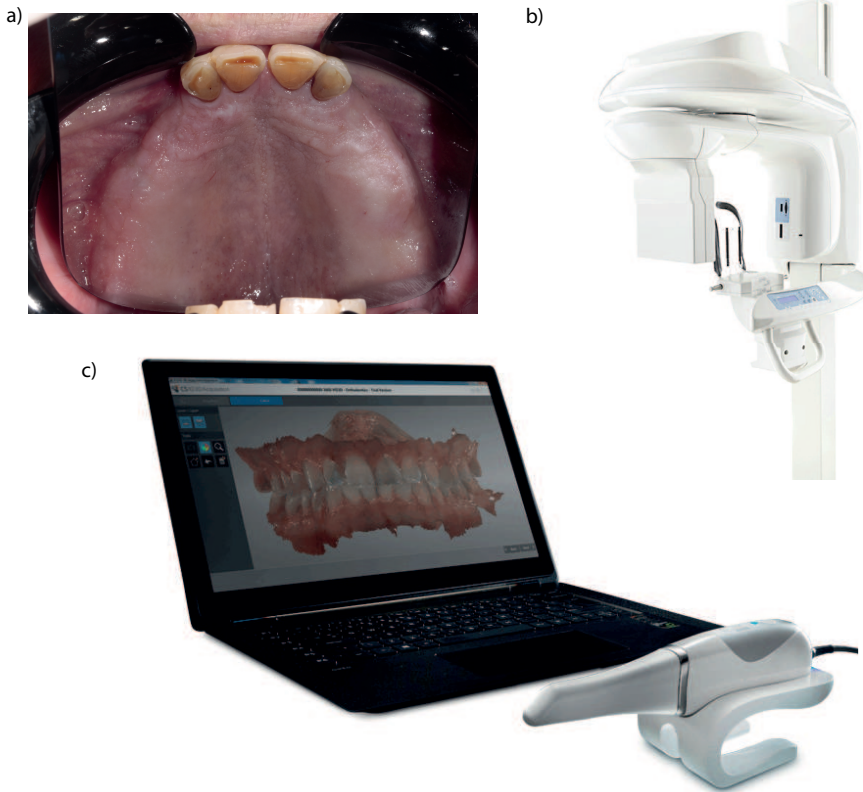
Se ha procedido a preparar todo el material necesario para realizar la monitorización de la ROG in vivo en un paciente determinado. En los capítulos 5 y 6, se han realizado distintos experimentos con el objetivo de desarrollar una técnica y un prototipo para monitorizar el proceso de la ROG por ultrasonidos. En este apartado vamos a explicar los pasos necesarios para monitorizar la ROG por alzado del seno desde el momento que llega un paciente a la consulta, hasta que tenemos el instrumento de sujeción del transductor construido. Además de establecer los protocolos de realización de medidas.

### 6.5.2 Materiales y métodos

Los materiales necesarios para realizar la férula dental personalizada son los siguientes: un CBTC (Cone Beam Computed Tomography) fig. 6.12 (b) y un escáner intraoral, fig. 6.12 (c).

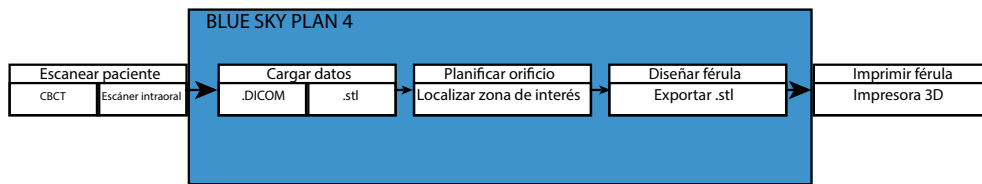
El método para realizar la férula dental es el siguiente: en primer lugar, el odontólogo identifica un paciente con la necesidad de colocación de implantes dentales. En el caso concreto que se expone aquí a modo de ejemplo, el paciente está parcialmente desdentado, tal y como se muestra en la imagen 6.12 (a). Seguidamente, el odontólogo le realiza una CBCT (Cone Beam Computed Tomography) y un escáner intraoral. Es importante realizar el escáner intraoral capturando el máximo de arcada interior superior, ya que la férula dental se va a realizar sobre el archivo .stl del escáner intraoral, de no realizarse así

no habría datos 3D suficientes para la colocación del sistema de sujeción del transductor. Una vez se dispone de toda la información necesaria, se procede a elaborar el sistema de sujeción personalizado para la monitorización de la ROG.



**Figura 6.12:** (a) Vista oclusal del maxilar superior. (b) Escáner CT Carestream CS 9300. (c) Escáner intraoral Carestream CS 3600.

Para la realización de la férula dental con el sistema de sujeción del transductor de ultrasonidos utilizamos el software Blue Sky Plan 4 (Blue Sky Bio LLC). Este es un software para visualizar y formatear imágenes creadas por tomografía computarizada. Además, se puede utilizar para la planificación de tratamiento de implantes virtuales y fabricación de guías quirúrgicas. Se trata de un software con una versión beta gratuita, que utiliza licencias para exportar las guías quirúrgicas a un precio muy reducido.



**Figura 6.13:** Flujo de trabajo para la creación de una férula dental de posicionamiento del transductor de ultrasonidos personalizada

Utilizando este software es posible realizar una férula dental con precisión. Por una parte, se incorpora la información de la CBCT y podemos localizar con rapidez la zona de interés. Por otra parte, incorporamos al modelo el escáner intraoral. La importancia de realizar el escáner intraoral reside en que el CBCT solo proporciona información de los tejidos duros del maxilar. Al realizar una férula teniendo solo en consideración el CBCT, no se tiene en consideración las características del tejido blando que está en el contorno del maxilar del paciente. Esto produce un error en el dimensionamiento de la férula cuando se coloca en el paciente. En cambio, introduciendo la información del escáner intraoral aportamos la información del tejido blando y solucionamos esta problemática.

Los pasos a seguir con el software Blue Sky Plan 4, para la realización de la férula quedan reflejados en el flujo de trabajo de la figura 6.13.

#### ■ Carga de datos:

Se carga el archivo DICOM (Digital Imaging and Communication On Medicine) del CBCT y el .stl del escáner intraoral. El software alinea la información 3D colocandola en la misma posición. Procediendo de esta manera, se genera una figura 3D completa donde podemos ver los tejidos duros y el contorno de la boca del paciente.

#### ■ Planificación del orificio:

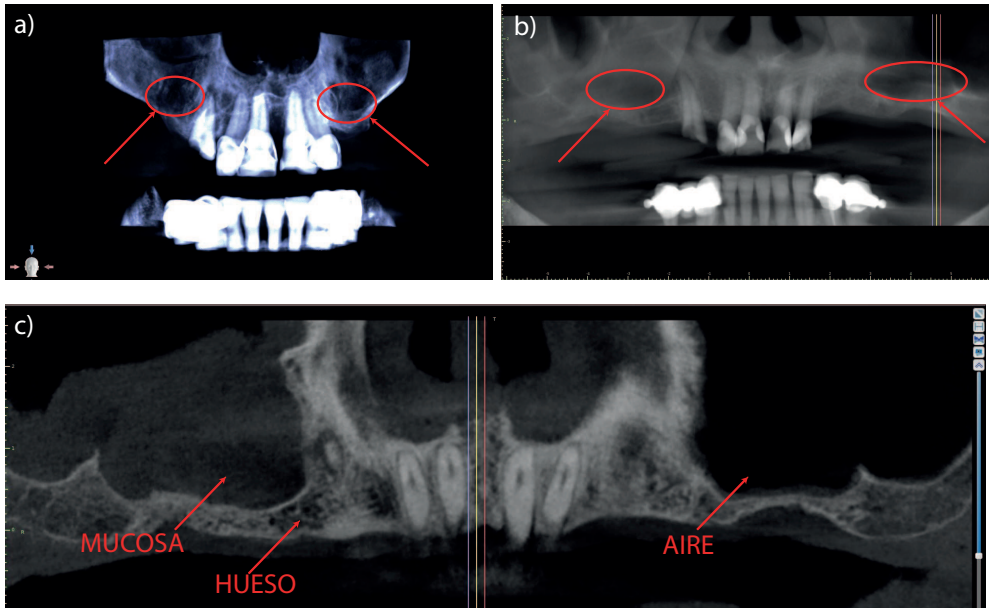
El siguiente paso es la planificación del orificio, donde se localiza la zona de interés y se introducen las características dimensionales del transductor de ultrasonidos.

#### ■ Diseño de la férula:

Por último, se diseña la sistema de sujeción del transductor obteniendo un archivo .stl imprimible.



En la figura 6.14 se localizan las zonas de interés donde se va a realizar la ROG. La zona marcada con una flecha es la zona del seno maxilar, donde no existe suficiente hueso y se va a realizar la operación ROG. En este caso particular, el paciente no tiene suficiente hueso en ninguno de los dos senos maxilares por lo que el odontólogo decide realizar la ROG en los dos laterales maxilares.

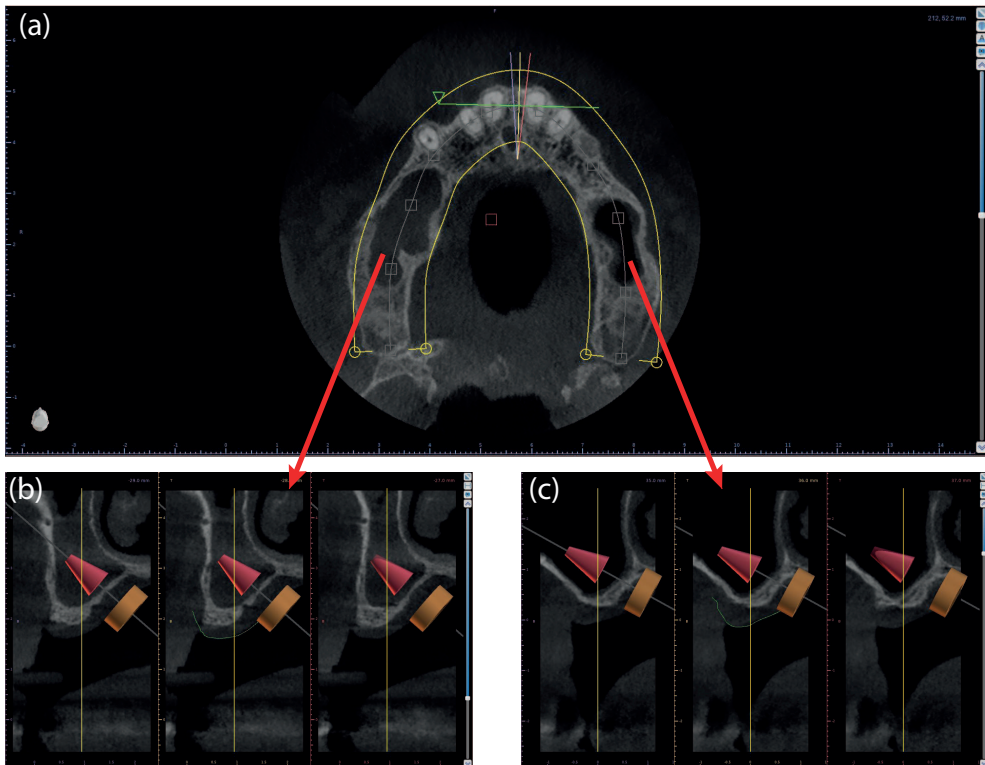


**Figura 6.14:** (a) Reconstrucción 3D de la CBCT donde se señalizan las zonas afectadas con pérdida de hueso. (b) Imagen frontal de la CBCT volumetrica señalizando la zona de interés. (c) Sección transversal de una imagen frontal de la CBCT, donde se indica la zona con mucosa, la zona con aire y se aprecia la pérdida de hueso.

En la figura 6.14 (c) se representa un corte transversal del maxilar del paciente, se puede observar con claridad la diferencia entre una zona con hueso y una zona sin éste. En las zonas más cercanas al blanco en la escala de grises tenemos tejido duro, mientras que en las zonas más cercanas al negro están los tejidos blandos y aire. Se observa que el maxilar derecho del paciente está lleno de mucosa. La zona donde no existe hueso es la zona donde se va a realizar la operación de ROG. Utilizando el software vamos a cargar el STL procedente del escáner intraoral del paciente.

El siguiente paso consiste en utilizar el software para construir la férula. Hay que pulsar el botón denominado "*añadir nuevo implante*", donde seleccionaremos un implante estándar personalizado. En este punto, el software ofrece la

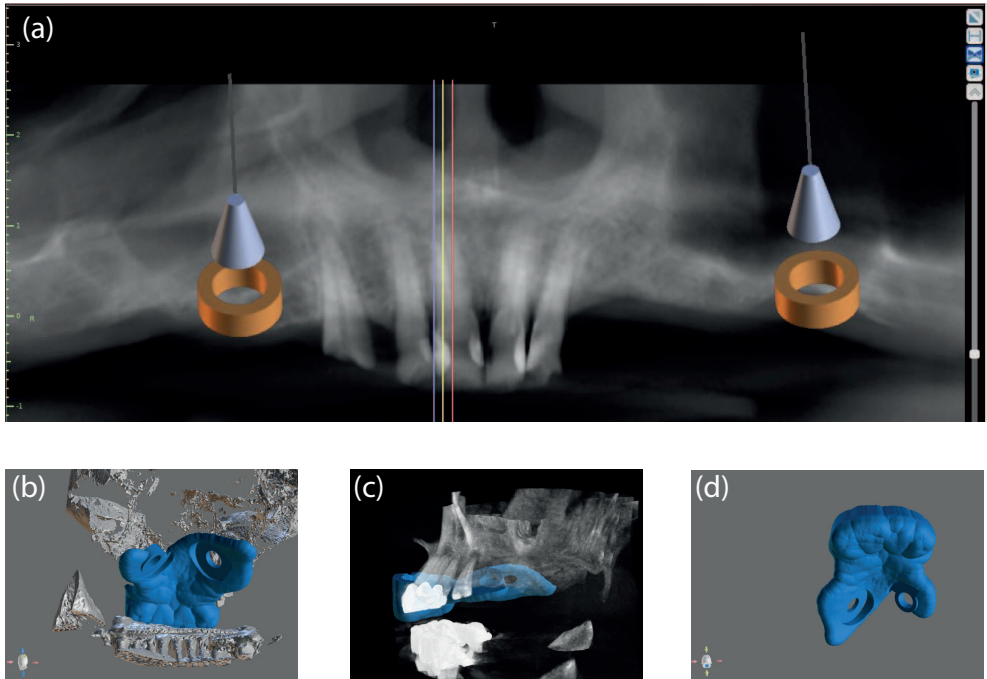
opción de escoger el tamaño y la longitud del implante. El software crea una férula dental con un orificio en la posición que escoge el usuario para guiar al odontólogo a la hora de realizar un implante dental. Con objeto de apoyar el transductor, se utiliza una guía denominada "*tubo de guía*".



**Figura 6.15:** (a) Corte axila del maxilar del paciente, (b) Colocación del tubo de guía en el maxilar derecho (c) Colocación del tubo de guía en el maxilar izquierdo

Con la colaboración del odontólogo, colocamos el tubo de guía en la zona donde se va a realizar la operación. La colocación debe ser precisa para una futura monitorización ultrasónica adecuada. Puesto que este paciente en particular necesita una regeneración ósea en los dos laterales del maxilar superior, vamos a diseñar una férula con dos orificios para poder monitorizar la ROG en las dos zonas de interés. Es importante colocar el transductor desde palatino con la dirección y el foco en la zona de interés, como se indica en la figura 6.15 (b) y (c). En dorado podemos observar el tubo de guía donde irá colocado nuestro transductor y en rojo vemos hacia dónde apuntará el foco del transductor.

Cada ser humano tiene un maxilar único, por lo que hay que realizar esta operación para cada uno de los pacientes. El siguiente paso es dibujar la zona donde vamos a construir la férula. Para que la férula quede sujeta a la boca del paciente, ésta se diseña con agarre a los dientes delanteros. Como podemos ver en la figura 6.16, al final del proceso obtenemos un archivo .stl imprimible, disponible para su construcción por impresión 3D.



**Figura 6.16:** (a) Vista frontal del Tac con la colocación de los tubos de guía. (b) Férula dental con el tac y con el escáner intraoral. Vista oclusal (c) Férula dental con el tac y con el escáner intraoral, vista lateral. (d) Férula dental con orificios para el transductor de ultrasonidos.

### 6.5.3 Protocolo de medida

Una vez impresa la férula dental, tenemos el dispositivo de medida que vamos a utilizar para la monitorización del proceso de regeneración ósea del paciente. Para completar el sistema se incluye el transductor ultrasónico, el pulser receiver y un ordenador para guardar y procesar las medidas. Se define a continuación el protocolo para medir una vez al mes con el paciente a fin de monitorizar el estado del hueso, que consistirá en:

1. Llegada del paciente a la clínica dental.
2. Higienización del sistema de medida.
3. Colocación del dispositivo férula con el transductor.
4. Realización de 10 medidas, (tiempo estimado, 30 segundos por medida).
5. Higienización del sistema de medida.
6. Postprocesado de las señales obtenidas.

#### **6.5.4 Conclusiones del estudio**

Se ha diseñado un sistema de sujeción del transductor basado en una férula dental, donde se tiene en cuenta la CBCT del paciente para poder seleccionar la zona de interés y el escáner intraoral para la fabricación de la férula. Debido a las particularidades del paciente se diseña un dispositivo con dos orificios interiores a fin de monitorizar la ROG en los dos laterales del paciente. Se ha diseñado y construido el sistema de sujeción con una impresora 3D para monitorizar la ROG del paciente y se ha establecido un protocolo de medida.

## **6.6 Conclusiones**

En este capítulo se ha diseñado un sistema de monitorización para experimentos in vivo, validando la técnica utilizada en el capítulo 5 con un ensayo ex vivo en cerdo y preparado un estudio para un caso particular real en humano. Además, se ha creado un dispositivo de sujeción y alineamiento basado en una férula dental. Para ello, es necesario utilizar un escáner intraoral y una CBCT para localizar la zona de interés y construir la férula. La sujeción del transductor va a ser tipo orificio, se trata de un agujero circular de las dimensiones del transductor de ultrasonidos. Así mismo, se realiza un estudio de posicionamiento del transductor donde se comparan los resultados de AIB para dos tipos de férula en un paciente in vivo. Por un lado, una férula con el transductor colocado en la zona del maxilar y, por otro lado, una férula con el transductor colocado en la zona del paladar. Los resultados de AIB muestran mayor fiabilidad en la férula de paladar, con una desviación menor de 5 dB frente a una desviación de 30 dB por maxilar, y mayor comodidad para el paciente. Por este motivo se propone realizar las medidas ultrasónicas desde el paladar. Se realiza un estudio del comportamiento de los parámetros de retrodispersión frente a distintas presiones estáticas, donde se observa una influencia no significativa

de la presión en los resultados del AIB, para ello se utiliza un phantom de gelatina con grafito para simular un tejido blando. Se realiza un estudio ex vivo con cerdo donde se prueba la fiabilidad de la técnica y el procesado utilizado. Por último, se diseña un dispositivo de medida para un paciente concreto, utilizando un software de planificación de cirugías dentales, donde se elabora una férula dental con dos orificios, ya que el paciente en cuestión tiene dos zonas a las que se les realiza la ROG. Se prevé la realización de las medidas cuando se superen las condiciones restrictivas impuestas por sanidad fuera del contexto de la tesis doctoral.

Según los experimentos realizados, el diseño creado para la realización de medidas ultrasónicas in vivo se adapta bien a la boca del paciente y ofrece unas medidas estables, esto da confianza para la monitorización de la ROG. La monitorización de la ROG presenta importancia para el odontólogo ya que, hasta donde sabemos, no existe en la actualidad una manera de monitorizar este proceso que no sea invasiva. Utilizando las técnicas de retrodispersión no necesitamos saber el espesor del maxilar, y con estos resultados podemos describir un proceso de cambio de estado, como es la regeneración ósea, que pasamos de un estado viscoso a un estado sólido poroso.



## Capítulo 7

# Conclusiones

---

Esta tesis doctoral tiene como objetivo principal la investigación y el desarrollo de nuevas tecnologías basadas en ultrasonidos aplicadas a la odontología. A continuación se presentan las conclusiones sobre los resultados obtenidos durante la investigación realizada. En el transcurso de la tesis se estudió el proceso de penetración de un ácido fosfórico en la dentina humana, desmineralizando las piezas de forma artificial de manera completa. Además, se monitorizó el proceso de fraguado de un cemento óseo a base de sulfato cálcico utilizando parámetros de retrodispersión y se diseñó un sistema de monitorización de la regeneración ósea guiada.

### 7.1 Resumen de resultados

En primer lugar, se ha estudiado el proceso de desmineralización artificial de la dentina humana usando un ácido fosfórico con una concentración del 15%. Este proceso ha sido monitorizado con ultrasonidos, validando los resultados experimentales mediante simulaciones por métodos de elementos finitos (Comsol). De un total de 18 piezas, se analizaron 6 con microscopía electrónica de barrido y espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier para contrastar los resultados obtenidos con los métodos ultrasónicos. Un total de 11

muestras fueron examinadas mediante ultrasonidos durante todo el proceso de desmineralización. A partir del espesor de la dentina y del tiempo de vuelo se ha calculado la velocidad de propagación para la dentina desmineralizada ( $1710\text{ m/s}$ ) y para la dentina antes de ser desmineralizada ( $3415\text{ m/s}$ ). Como confirman las medidas acústica realizadas, el ácido penetra en la dentina por ambos lados de la muestra formando un total de 4 ecos diferenciables que corresponden con las distintas interfases acústicas del diente desmineralizándose. Un modelo empírico parabólico ha sido ajustado a los datos experimentales para modelar el avance del ácido por la dentina, dando como resultado: una velocidad inicial de  $3.5\ \mu\text{m}/\text{min}$  y una aceleración de  $-11\ \text{nm}/\text{min}^2$ . La inercia del efecto del ácido provoca que la desmineralización continúe después de retirarlo de la solución ácida. Ajustando el modelo al efecto inercial obtenemos una velocidad inicial de desmineralización de  $2.7\ \mu\text{m}/\text{min}$  y una aceleración de  $-6.5\ \text{nm}/\text{min}^2$ .

Por otra parte, se ha monitorizado con ultrasonidos el proceso de fraguado de un cemento óseo de uso odontológico. Durante todo el proceso ( $\approx 60\text{ min}$ ), se ha calculado la velocidad de propagación que oscila entre  $1514\text{ m/s}$  en estado líquido y  $2858\text{ m/s}$  en estado sólido y el parámetro de retrodispersión AIB que cambia su valor de  $-15\text{ dB}$  en estado líquido a  $0\text{ dB}$  en estado sólido. A partir de los resultados se ha utilizado un modelo fenomenológico para describir la transición suave y asimétrica entre las dos fases.

Durante el tiempo de fraguado se detectó un aumento de temperatura debido a la reacción química del sulfato de calcio con el agua, que disminuye una vez la pieza empieza a consolidar. Del mismo modo, se observó un aumento de la velocidad de propagación que se estabiliza al final del tiempo de curado. El parámetro de retrodispersión AIB permite localizar tres fases del material, la inicial, cuando el material es un líquido viscoso, la final, cuando se trata de un sólido poroso y una fase intermedia que coincide con la fase de transición líquido a sólido. Por último, la correlación positiva ascendente entre la velocidad de propagación y el AIB permite estimar el estado físico del cemento óseo en el proceso de fraguado independientemente del tamaño de la muestra y la velocidad.

Por último, las técnicas de retrodispersión han sido probadas *ex vivo*, simulando una operación de ROG en la cabeza de un cerdo muerto. El parámetro AIB antes y después de la operación presenta una diferencia de  $9\text{ dB}$  lo cual constituye un margen suficiente para poder hacer un seguimiento de las fases intermedias. Se estudió el posicionamiento de un transductor de ultrasonidos para medidas *in vivo*, determinando que la posición idónea es medir desde el paladar. Por otro lado, se analizó el acoplamiento entre transductor y tejido,



destacando que la presión del aparato de medida contra el tejido del paladar producida por el doctor no altera el resultado del AIB de manera determinante. Por último, se diseñó un experimento para monitorizar la regeneración ósea en un paciente concreto, donde se realizó una tomografía computarizada de haz cónico, un escáner intraoral, un sistema de sujeción del transductor de ultrasonidos basado en una férula dental del paciente y se establecieron los protocolos para realizar medidas de monitorización de la regeneración ósea guiada in vivo.

## 7.2 **Discusión**

Las técnicas propuestas proporcionan conocimiento de la progresión del ácido fosfórico sobre la dentina. Permite determinar a qué velocidad penetra el ácido en la dentina y por lo tanto a qué velocidad se va desmineralizando. Además, puede utilizarse para controlar, estandarizar y normalizar las lesiones de desmineralización artificial en condiciones de laboratorio. También, permite estudiar el efecto de erosión de la dentina utilizando distintos ácidos. Debido a la reducida dimensión de la sonda, se podría utilizar para evaluar la desmineralización producida por la caries natural in vivo, ya que se ha observado que existe un eco muy bien definido entre la dentina desmineralizada y la no desmineralizada.

El uso de parámetros de retrodispersión permiten monitorizar la transición de un cemento óseo líquido viscoso a sólido poroso, además, muestran una correlación positiva con la velocidad de propagación por lo que no es necesario conocer el espesor de la muestra para determinar su estado. Este estudio representa una contribución al uso de ultrasonidos para el seguimiento de la ROG. La técnica utiliza un único transductor, esto implica un bajo coste económico.

Además, contribuye a la monitorización de la ROG in vivo. El diseño ergonómico basado en férula dental del sistema de sujeción del transductor de ultrasonidos, permite adaptarse a la boca del paciente alineando el transductor a la zona de interés. Se trata de un sistema portable y económico que ha sido probado por distintos usuarios sanos para probar la comodidad y la robustez del sistema de medida. Por último se ha establecido un protocolo de medida donde se estima un tiempo de toma de señales de 5 minutos.

### 7.3 Líneas futuras

La elaboración de esta tesis doctoral abre posibilidades de crear nuevas líneas futuras de investigación:

- En el campo de la desmineralización, se pueden aplicar los conocimientos expuestos en esta tesis doctoral para localizar y caracterizar caries y erosiones dentales in vivo. La técnica se puede adaptar fácilmente a la aplicación in vivo debido a las dimensiones de los dispositivos ultrasónicos. A partir de las velocidades de propagación en la dentina se podría calcular la distancia a la que se encuentra una zona de dentina con caries. Como se ha visto, cuando existe una zona desmineralizada aparece un eco que delimita la zona sana de la zona desmineralizada. Esta información podría usarse para saber exactamente dónde termina la zona dañada y poder actuar sobre ella.
- Además, se puede utilizar la misma técnica para analizar los distintos materiales y composites que existen para la remineralización dental. Existen formas de remineralizar la dentina dañada utilizando composites que depositan minerales en la zona desmineralizada. Utilizando la técnica descrita en esta tesis doctoral, se podría caracterizar el efecto de los distintos composites en dientes con problemas de minerales.
- La caracterización de la desmineralización puede ser útil para analizar en profundidad el grabado dental. El grabado dental se utiliza para proporcionar una superficie porosa en la dentina y el esmalte. Seguidamente se le aplica una resina adhesiva para reparar la zona dañada. La técnica desarrollada en esta tesis doctoral nos permite conocer con exactitud el efecto del ácido en los dientes. Se podría caracterizar la zona dañada artificialmente con el ácido y calcular las propiedades elásticas del medio para intentar conseguir una mayor adhesión.
- En el campo de la regeneración ósea guiada, el trabajo de esta tesis doctoral va a servir para realizar estudios in vivo y validar el uso de las técnicas basadas en retrodispersión. Se está trabajando en la creación de un prototipo útil que pueda implantarse en las clínicas dentales y sirva a los odontólogos para saber cuándo la técnica esta fallando de manera temprana y no invasiva.

# Bibliografía

- [1] Ensanya Abou Neel y col. “Demineralization and remineralization dynamics in teeth and bone”. En: *International Journal of Nanomedicine* Volume 11 (2016), págs. 4743-4763. DOI: 10.2147/ijn.s107624 (vid. pág. 3).
- [2] Dogan Ozdemir. “Dental caries: the most common disease worldwide and preventive strategies”. En: *International Journal of Biology* 5.4 (2013), pág. 55 (vid. pág. 3).
- [3] Mahasweta Joshi y col. “Techniques to evaluate dental erosion: a systematic review of literature”. En: *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR* 10.10 (2016), ZE01 (vid. pág. 3).
- [4] HC Margolis y col. “Kinetics of enamel demineralization in vitro”. En: *Journal of dental research* 78.7 (1999), págs. 1326-1335 (vid. pág. 3).
- [5] Juliana Marotti y col. “Recent advances of ultrasound imaging in dentistry—a review of the literature”. En: *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology* 115.6 (2013), págs. 819-832 (vid. págs. 3, 37).
- [6] A.D. Pye y col. “A review of dental implants and infection”. En: *Journal of Hospital Infection* 72.2 (2009), págs. 104-110. DOI: 10.1016/j.jhin.2009.02.010 (vid. pág. 4).

- [7] Alberto Monje y col. “Do Implant Length and Width Matter for Short Dental Implants. A Meta-Analysis of Prospective Studies”. En: *Journal of Periodontology* 84.12 (2013), págs. 1783-1791. DOI: 10.1902/jop.2013.120745 (vid. pág. 4).
- [8] Glendale Lim y col. “Wound Healing Complications Following Guided Bone Regeneration for Ridge Augmentation: A Systematic Review and Meta-Analysis”. En: *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 33.1 (2018), págs. 51-50. DOI: 10.11607/jomi.5581 (vid. pág. 4).
- [9] Susanna Annibali y col. “Horizontal and Vertical Ridge Augmentation in Localized Alveolar Deficient Sites”. En: *Implant Dentistry* 21.3 (2012), págs. 175-185. DOI: 10.1097/id.0b013e31824ee3e9 (vid. pág. 4).
- [10] Susanna Annibali y col. “Local complications in dental implant surgery: prevention and treatment”. En: *ORAL & implantology* 1.1 (2008), pág. 21 (vid. págs. 4, 17).
- [11] Amar Katranji, Paul Fotek y Hom-Lay Wang. “Sinus Augmentation Complications: Etiology and Treatment”. En: *Implant Dentistry* 17.3 (2008), págs. 339-349. DOI: 10.1097/id.0b013e3181815660 (vid. pág. 4).
- [12] Mark C. Fagan, Gregory J. Conte y Richard T. Kao. “Management of Complications of Guided Bone Regeneration”. En: *Horizontal Alveolar Ridge Augmentation in Implant Dentistry: A Surgical Manual*. John Wiley & Sons, Inc., 2016, págs. 120-124. DOI: 10.1002/9781119019916.ch12 (vid. pág. 4).
- [13] MO Klein y col. “Ultrasound transmission velocity for noninvasive evaluation of jaw bone quality in vivo before dental implantation”. En: *Ultrasound in medicine & biology* 34.12 (2008), págs. 1966-1971 (vid. págs. 4, 37).
- [14] Vincent Mathieu y col. “Biomechanical determinants of the stability of dental implants: influence of the bone–implant interface properties”. En: *Journal of biomechanics* 47.1 (2014), págs. 3-13 (vid. págs. 4, 38).
- [15] Anamaria Balic. “Biology explaining tooth repair and regeneration: a mini-review”. En: *Gerontology* 64.4 (2018), págs. 382-388 (vid. pág. 8).

- 
- [16] E Juuri y A Balic. “The biology underlying abnormalities of tooth number in humans”. En: *Journal of Dental Research* 96.11 (2017) (vid. pág. 8).
- [17] Antonio Nanci. *Ten Cate’s Oral Histology-e-book: development, structure, and function*. Elsevier Health Sciences, 2017 (vid. pág. 8).
- [18] Lindsay H Trammell y Anne M Kroman. “Bone and dental histology”. En: *Research methods in human skeletal biology*. Elsevier, 2013 (vid. pág. 8).
- [19] Tsuneyuki Yamamoto y col. “Histology of human cementum: Its structure, function, and development”. En: *Japanese dental science review* 52.3 (2016), págs. 63-74 (vid. pág. 9).
- [20] Jacques E Nör. “Buonocore memorial lecture: tooth regeneration in operative dentistry”. En: *Operative dentistry* 31.6 (2006), págs. 633-642 (vid. pág. 9).
- [21] Misako Nakashima y Akifumi Akamine. “The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics”. En: *Journal of endodontics* 31.10 (2005), págs. 711-718 (vid. pág. 9).
- [22] Flávio Fernando Demarco y col. “Dental pulp tissue engineering”. En: *Brazilian dental journal* 22.1 (2011), págs. 3-13 (vid. pág. 9).
- [23] David Porter Catherine Le Gales-Camus Poul Erik Petersen. “WHO releases new report on global problem of oral diseases”. En: *World Health Organization* (2004) (vid. pág. 10).
- [24] C.L. Longbottom y col. “Glossary of Key Terms”. En: *Monographs in Oral Science*. KARGER, 2009, págs. 209-216. DOI: 10.1159/000224225 (vid. pág. 10).
- [25] Robert H Selwitz, Amid I Ismail y Nigel B Pitts. “Dental caries”. En: *The Lancet* 369.9555 (2007), págs. 51-59. DOI: 10.1016/s0140-6736(07)60031-2 (vid. pág. 10).

- [26] Edwina AM Kidd y Ole Fejerskov. *Essentials of dental caries*. Oxford University Press, 2016 (vid. pág. 10).
- [27] Marília Afonso Rabelo Buzalaf, Angélicas Reis Hannas y Melissa Thiemi Kato. “Saliva and dental erosion”. En: *Journal of Applied Oral Science* 20.5 (2012), págs. 493-502 (vid. pág. 10).
- [28] Takaaki Aoba. “Solubility properties of human tooth mineral and pathogenesis of dental caries”. En: *Oral diseases* 10.5 (2004), págs. 249-257 (vid. pág. 10).
- [29] JDB Featherstone, JF Duncan y TW Cutress. “A mechanism for dental caries based on chemical processes and diffusion phenomena during in-vitro caries simulation on human tooth enamel”. En: *Archives of oral biology* 24.2 (1979), págs. 101-112 (vid. pág. 10).
- [30] Mahmoud Torabinejad y Noah Chivian. “Clinical applications of mineral trioxide aggregate”. En: *Journal of Endodontics* 25.3 (1999). DOI: 10.1016/s0099-2399(99)80142-3 (vid. pág. 11).
- [31] L. Han y T. Okiji. “Bioactivity evaluation of three calcium silicate-based endodontic materials”. En: *International Endodontic Journal* 46.9 (2013), págs. 808-814. DOI: 10.1111/iej.12062 (vid. pág. 11).
- [32] Maria Giovanna Gandolfi y col. “Calcium silicate and calcium hydroxide materials for pulp capping: biointeractivity, porosity, solubility and bioactivity of current formulations”. En: *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials* 13.1 (2014), págs. 0-0. DOI: 10.5301/jabfm.5000201 (vid. pág. 11).
- [33] Jorge Perdigão y col. “Morphological field emission-SEM study of the effect of six phosphoric acid etching agents on human dentin”. En: *Dental Materials* 12.4 (1996), págs. 262-271. DOI: 10.1016/s0109-5641(96)80033-9 (vid. pág. 11).
- [34] Jorge Perdigão. “Dentin bonding as a function of dentin structure”. En: *Dental Clinics of North America* 46.2 (2002), págs. 277-301. DOI: 10.1016/s0011-8532(01)00008-8 (vid. pág. 11).

- 
- [35] Jill E Shea y Scott C Miller. “Skeletal function and structure: implications for tissue-targeted therapeutics”. En: *Advanced drug delivery reviews* 57.7 (2005), págs. 945-957 (vid. págs. 11, 13).
- [36] Ego Seeman y Pierre D Delmas. “Bone quality the material and structural basis of bone strength and fragility”. En: *New England journal of medicine* 354.21 (2006), págs. 2250-2261 (vid. pág. 12).
- [37] Daniel Chappard y col. “New laboratory tools in the assessment of bone quality”. En: *Osteoporosis International* 22.8 (2011), págs. 2225-2240 (vid. pág. 12).
- [38] JA Buckwalter y col. “Bone biology. I: Structure, blood supply, cells, matrix, and mineralization.” En: *Instructional course lectures* 45 (1996), pág. 371 (vid. págs. 12, 13).
- [39] Julius Wolff. *The law of bone remodelling*. Springer Science & Business Media, 2012 (vid. pág. 12).
- [40] Xiaojian Wang y col. “Topological design and additive manufacturing of porous metals for bone scaffolds and orthopaedic implants”. En: *Bio-materials* 83 (2016), págs. 127-141 (vid. pág. 12).
- [41] PJ Atkinson y JA Weatherell. “Variation in the density of the femoral diaphysis with age”. En: *The Journal of Bone and Joint Surgery. British volume* 49.4 (1967), págs. 781-788 (vid. pág. 13).
- [42] JC Wall, S Chatterji y JW Jeffery. “Human femoral cortical bone: a preliminary report on the relationship between strength and density”. En: *Medical and biological engineering* 10.5 (1972), págs. 673-676 (vid. pág. 13).
- [43] E Grodum y col. “Autosomal dominant osteopetrosis: bone mineral measurements of the entire skeleton of adults in two different subtypes”. En: *Bone* 16.4 (1995), págs. 431-434 (vid. pág. 13).
- [44] Juliet Compston. “Bone quality: what is it and how is it measured?”. En: *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia* 50.4 (2006), págs. 579-585 (vid. pág. 13).

- [45] Henry Gray. *Anatomy Descriptive and Surgical: ("Gray's Anatomy")*. Running Press, 1974 (vid. pág. 13).
- [46] Don Wayne Fawcett y William Bloom. *A textbook of histology*. WB Saunders company, 1986 (vid. pág. 13).
- [47] M Janet Barger-Lux y Robert R Recker. "Bone microstructure in osteoporosis: transilial biopsy and histomorphometry". En: *Topics in Magnetic Resonance Imaging* 13.5 (2002), págs. 297-305 (vid. pág. 13).
- [48] AM Parfitt. "Age-related structural changes in trabecular and cortical bone: cellular mechanisms and biomechanical consequences". En: *Calcified tissue international* 36.1 (1984), S123-S128 (vid. pág. 13).
- [49] Teresita Bellido, Lilian I Plotkin y Angela Bruzzaniti. "Bone cells". En: *Basic and applied bone biology*. Elsevier, 2019, págs. 37-55 (vid. pág. 13).
- [50] Dimitrios J Hadjidakis y Ioannis I Androulakis. "Bone remodeling". En: *Annals of the New York Academy of Sciences* 1092.1 (2006) (vid. págs. 13, 14).
- [51] Alexander G Robling, Alesha B Castillo y Charles H Turner. "Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling". En: *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 8 (2006), págs. 455-498 (vid. pág. 14).
- [52] Bart Clarke. "Normal bone anatomy and physiology". En: *Clinical journal of the American Society of Nephrology* 3.Supplement 3 (2008) (vid. pág. 14).
- [53] Liza J Raggatt y Nicola C Partridge. "Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling". En: *Journal of Biological Chemistry* 285.33 (2010), págs. 25103-25108 (vid. pág. 14).
- [54] Ego Seeman. "Modeling and remodeling: the cellular machinery responsible for the gain and loss of bone's material and structural strength". En: *Principles of bone biology*. Elsevier, 2008, págs. 1-28 (vid. pág. 14).



- 
- [55] Eijiro Jimi y col. “The current and future therapies of bone regeneration to repair bone defects”. En: *International journal of dentistry* 2012 (2012) (vid. pág. 14).
- [56] Arun R Shrivats y col. “Bone regeneration”. En: *Principles of Tissue Engineering*. Elsevier, 2014, págs. 1201-1221 (vid. pág. 15).
- [57] Richard AD Carano y Ellen H Filvaroff. “Angiogenesis and bone repair”. En: *Drug discovery today* 8.21 (2003), págs. 980-989 (vid. pág. 15).
- [58] François Bodic y col. “Bone loss and teeth”. En: *Joint Bone Spine* 72.3 (2005), págs. 215-221 (vid. págs. 15, 16).
- [59] Jr H Tatum. “Maxillary and sinus implant reconstructions.” En: *Dental Clinics of North America* 30.2 (1986), págs. 207-229 (vid. pág. 16).
- [60] J Acero. “Maxillary sinus grafting for implant insertion”. En: *Preprosthetic and Maxillofacial Surgery*. Elsevier, 2011, págs. 54-75 (vid. pág. 17).
- [61] Anjum Memon y col. “Dental x-rays and the risk of thyroid cancer: a case-control study”. En: *Acta Oncologica* 49.4 (2010), págs. 447-453 (vid. pág. 17).
- [62] John B Ludlow, Laura E Davies-Ludlow y Stuart C White. “Patient risk related to common dental radiographic examinations: the impact of 2007 International Commission on Radiological Protection recommendations regarding dose calculation”. En: *The Journal of the American Dental Association* 139.9 (2008), págs. 1237-1243 (vid. pág. 17).
- [63] Heinrich Kuttruff. *Ultrasonics: Fundamentals and applications*. Springer Science & Business Media, 2012 (vid. págs. 19, 26, 27).
- [64] Arnold D Kim y Akira Ishimaru. “A Chebyshev spectral method for radiative transfer equations applied to electromagnetic wave propagation and scattering in a discrete random medium”. En: *Journal of Computational Physics* 152.1 (1999), págs. 264-280 (vid. pág. 23).
- [65] Pascal Laugier y Guillaume Haiat. *Bone quantitative ultrasound*. Vol. 576. Springer, 2011 (vid. págs. 23-26, 28-30, 36, 37).

- [66] William R Hendee y E Russell Ritenour. *Medical imaging physics*. John Wiley & Sons, 2003 (vid. pág. 25).
- [67] Emmanuel Bossy y col. “Three-dimensional simulation of ultrasound propagation through trabecular bone structures measured by synchrotron microtomography”. En: *Physics in Medicine & Biology* 50.23 (2005), pág. 5545 (vid. pág. 25).
- [68] Guillaume Haiat y col. “Ultrasonic velocity dispersion in bovine cortical bone: an experimental study”. En: *The Journal of the Acoustical Society of America* 124.3 (2008), págs. 1811-1821 (vid. págs. 25, 37).
- [69] S.R. Ghorayeb, C.A. Bertoncini y M.K. Hinders. “Ultrasonography in dentistry”. En: *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control* 55.6 (2008), págs. 1256-1266. DOI: 10.1109/tuffc.2008.788 (vid. págs. 26, 28).
- [70] J David N Cheeke. *Fundamentals and applications of ultrasonic waves*. CRC press, 2017 (vid. pág. 26).
- [71] Keith A Wear. “The effects of frequency-dependent attenuation and dispersion on sound speed measurements: applications in human trabecular bone”. En: *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 47.1 (2000), págs. 265-273 (vid. pág. 30).
- [72] G Haiat y col. “Optimal prediction of bone mineral density with ultrasonic measurements in excised human femur”. En: *Calcified tissue international* 77.3 (2005), págs. 186-192 (vid. pág. 30).
- [73] B Fay. “Ultrasonic backscattering: fundamentals and applications”. En: *Physical Acoustics*. Springer, 1991, págs. 41-53 (vid. pág. 30).
- [74] J-F Chen, James A Zagzebski y Ernest L Madsen. “Tests of backscatter coefficient measurement using broadband pulses”. En: *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 40.5 (1993), págs. 603-607 (vid. pág. 30).

- 
- [75] Christian Roux y col. “Ultrasonic backscatter and transmission parameters at the os calcis in postmenopausal osteoporosis”. En: *Journal of Bone and Mineral Research* 16.7 (2001), págs. 1353-1362 (vid. pág. 30).
- [76] S Chaffai y col. “Ultrasonic characterization of human cancellous bone using transmission and backscatter measurements: relationships to density and microstructure”. En: *Bone* 30.1 (2002), págs. 229-237 (vid. págs. 30, 37).
- [77] M O Donnell y JG Miller. “Quantitative broadband ultrasonic backscatter. An approach to nondestructive evaluation in acoustically inhomogeneous materials”. En: *Journal of Applied Physics* 52.2 (1981), págs. 1056-1065 (vid. pág. 31).
- [78] Patrick HF Nicholson y Mary L Bouxsein. “Bone marrow influences quantitative ultrasound measurements in human cancellous bone”. En: *Ultrasound in medicine biology* 28.3 (2002), págs. 369-375 (vid. pág. 31).
- [79] Timothy A Bigelow y William D O Brien. “Scatterer size estimation using a generalized ultrasound attenuation-compensation function to correct for focusing”. En: *IEEE Symposium on Ultrasonics, 2003*. Vol. 1. IEEE. 2003, págs. 1026-1029 (vid. pág. 31).
- [80] Michael L Oelze y William D O Brien Jr. “Frequency dependent attenuation compensation functions for ultrasonic signals backscattered from random media”. En: *The Journal of the Acoustical Society of America* 111.5 (2002), págs. 2308-2319 (vid. pág. 31).
- [81] Brent K Hoffmeister, Andrew P Holt y Sue C Kaste. “Effect of the cortex on ultrasonic backscatter measurements of cancellous bone”. En: *Physics in Medicine & Biology* 56.19 (2011), pág. 6243 (vid. págs. 32, 33).
- [82] Brent K Hoffmeister y col. “A backscatter difference technique for ultrasonic bone assessment”. En: *The Journal of the Acoustical Society of America* 132.6 (2012), págs. 4069-4076 (vid. págs. 32, 33).
- [83] Brent K Hoffmeister y col. “Ultrasonic backscatter from cancellous bone: The apparent backscatter transfer function”. En: *IEEE Transactions on*

- Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control* 62.12 (2015) (vid. págs. 32, 62).
- [84] P Mohana Shankar. “A general statistical model for ultrasonic backscattering from tissues”. En: *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 47.3 (2000), págs. 727-736 (vid. pág. 33).
- [85] Ming-Chih Ho y col. “Relationship between ultrasound backscattered statistics and the concentration of fatty droplets in livers. an animal study”. En: *PLoS One* 8.5 (2013), e63543 (vid. pág. 34).
- [86] Zhuhuang Zhou y col. “Hepatic steatosis assessment using quantitative ultrasound parametric imaging based on backscatter envelope statistics”. En: *Applied Sciences* 9.4 (2019), pág. 661 (vid. pág. 35).
- [87] Sleiman R Ghorayeb, Crystal A Bertoncini y Mark K Hinders. “Ultrasonography in dentistry”. En: *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 55.6 (2008), págs. 1256-1266 (vid. págs. 35, 37).
- [88] G. Baum y col. “Observation of Internal Structures of Teeth by Ultrasonography”. En: *Science* 139.3554 (1963), págs. 495-496. DOI: 10.1126/science.139.3554.495 (vid. pág. 35).
- [89] Juliana Marotti y col. “Recent advances of ultrasound imaging in dentistry. A review of the literature”. En: *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology* 115.6 (2013), págs. 819-832. DOI: 10.1016/j.oooo.2013.03.012 (vid. pág. 36).
- [90] S.Y. Ng y col. “Determination of ultrasonic velocity in human enamel and dentine”. En: *Archives of Oral Biology* 34.5 (1989), págs. 341-345. DOI: 10.1016/0003-9969(89)90107-6 (vid. pág. 36).
- [91] S.Y. Ng y col. “Ultrasonic studies of unblemished and artificially demineralized enamel in extracted human teeth: a new method for detecting early caries”. En: *Journal of Dentistry* 16.5 (1988), págs. 201-209. DOI: 10.1016/0300-5712(88)90070-x (vid. pág. 36).

- 
- [92] Roman Gr Maev y col. “New data on histology and physico-mechanical properties of human tooth tissue obtained with acoustic microscopy”. En: *Ultrasound in Medicine & Biology* 28.1 (2002), págs. 131-136. DOI: 10.1016/s0301-5629(01)00480-x (vid. pág. 36).
- [93] Masashi Miyazaki, Hirohiko Inage e Hideo Onose. “Use of an ultrasonic device for the determination of elastic modulus of dentin.” En: *Journal of Oral Science* 44.1 (2002), págs. 19-26. DOI: 10.2334/josnusd.44.19 (vid. pág. 36).
- [94] Christoph John. “The corono-apically varying ultrasonic velocity in human hard dental tissues”. En: *The Journal of the Acoustical Society of America* 116.1 (2004), págs. 545-556. DOI: 10.1121/1.1738454 (vid. pág. 36).
- [95] Christoph John. “The laterally varying ultrasonic velocity in the dentin of human teeth”. En: *Journal of Biomechanics* 39.13 (2006). DOI: 10.1016/j.jbiomech.2005.08.004 (vid. pág. 36).
- [96] Tamayo Watanabe y col. “Determination of Elastic Modulus of the Components at Dentin-Resin Interface Using the Ultrasonic Device”. En: *Dental Materials Journal* 23.3 (2004), págs. 361-367. DOI: 10.4012/dmj.23.361 (vid. pág. 36).
- [97] Genta Yasuda y col. “Determination of elastic modulus of demineralized resin-infiltrated dentin by self-etch adhesives”. En: *European Journal of Oral Sciences* 115.1 (2007), págs. 87-91. DOI: 10.1111/j.1600-0722.2007.00425.x (vid. pág. 36).
- [98] S Lees, F.B Gerhard y F.G Oppenheim. “Ultrasonic measurement of dental enamel demineralization”. En: *Ultrasonics* 11.6 (1973). DOI: 10.1016/0041-624x(73)90104-2 (vid. pág. 36).
- [99] Kanako Yamaguchi y col. “Effect of CPP-ACP paste on mechanical properties of bovine enamel as determined by an ultrasonic device”. En: *Journal of Dentistry* 34.3 (2006), págs. 230-236. DOI: 10.1016/j.jdent.2005.06.005 (vid. pág. 36).
- [100] K. Yamaguchi y col. “Ultrasonic Determination of the Effect of Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate Paste on the Demi-

- neralization of Bovine Dentin”. En: *Caries Research* 41.3 (2007). DOI: 10.1159/000099319 (vid. pág. 36).
- [101] Hajime Endo y col. “Evaluation of a calcium phosphate desensitizer using an ultrasonic device”. En: *Dental Materials Journal* 32.3 (2013), págs. 456-461. DOI: 10.4012/dmj.2012-308 (vid. pág. 36).
- [102] Kendall R Waters y Brent K Hoffmeister. “Kramers-Kronig analysis of attenuation and dispersion in trabecular bone”. En: *The Journal of the Acoustical Society of America* 118.6 (2005), págs. 3912-3920 (vid. pág. 37).
- [103] PHF Nicholson y col. “A comparison of time-domain and frequency-domain approaches to ultrasonic velocity measurement in trabecular bone”. En: *Physics in Medicine & Biology* 41.11 (1996), pág. 2421 (vid. pág. 37).
- [104] Yoshitomo Takaishi y col. “Correlations between periodontitis and loss of mandibular bone in relation to systemic bone changes in postmenopausal Japanese women”. En: *Osteoporosis international* 16.12 (2005), págs. 1875-1882 (vid. pág. 37).
- [105] Fotis I Tsiolis, Ian G Needleman y Gareth S Griffiths. “Periodontal ultrasonography”. En: *Journal of clinical periodontology* 30.10 (2003), págs. 849-854 (vid. pág. 37).
- [106] DA Hughes y col. “Investigation of dental samples using a 35 MHz focussed ultrasound piezocomposite transducer”. En: *Ultrasonics* 49.2 (2009), págs. 212-218 (vid. pág. 37).
- [107] Serge Dos Santos y Zdenek Prevorsek. “Imaging of human tooth using ultrasound based chirp-coded nonlinear time reversal acoustics”. En: *Ultrasonics* 51.6 (2011), págs. 667-674 (vid. pág. 37).
- [108] ML Frost, GM Blake e I Fogelman. “Quantitative ultrasound and bone mineral density are equally strongly associated with risk factors for osteoporosis”. En: *Journal of Bone and Mineral Research* 16.2 (2001), págs. 406-416 (vid. pág. 37).

- 
- [109] Kay Raum y col. “Ultrasound to assess bone quality”. En: *Current osteoporosis reports* 12.2 (2014), págs. 154-162 (vid. pág. 37).
- [110] Didier Hans y Sanford Baim. “Quantitative ultrasound (QUS) in the management of osteoporosis and assessment of fracture risk”. En: *Journal of Clinical Densitometry* 20.3 (2017), págs. 322-333 (vid. pág. 37).
- [111] CM Langton, SB Palmer y RW Porter. “The measurement of broadband ultrasonic attenuation in cancellous bone”. En: *Engineering in Medicine* 13.2 (1984), págs. 89-91 (vid. pág. 37).
- [112] Christian M Langton y Christopher F Njeh. “The measurement of broadband ultrasonic attenuation in cancellous bone-a review of the science and technology”. En: *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control* 55.7 (2008), págs. 1546-1554 (vid. pág. 37).
- [113] Jonathan J Kaufman, Gangming Luo y Robert S Siffert. “Ultrasound simulation in bone”. En: *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control* 55.6 (2008), págs. 1205-1218 (vid. pág. 37).
- [114] Keith A Wear y Brian S Garra. “Assessment of bone density using ultrasonic backscatter”. En: *Ultrasound in Medicine and Biology* 24.5 (1998), págs. 689-695 (vid. pág. 37).
- [115] F Padilla y col. “Relationships of trabecular bone structure with quantitative ultrasound parameters: In vitro study on human proximal femur using transmission and backscatter measurements”. En: *Bone* 42.6 (2008), págs. 1193-1202 (vid. pág. 37).
- [116] Janne P Karjalainen y col. “Ultrasound backscatter imaging provides frequency-dependent information on structure, composition and mechanical properties of human trabecular bone”. En: *Ultrasound in Medicine and Biology* 35.8 (2009), págs. 1376-1384 (vid. pág. 37).
- [117] Romain Vayron y col. “Ultrasonic evaluation of dental implant osseointegration”. En: *Journal of biomechanics* 47.14 (2014), págs. 3562-3568 (vid. pág. 38).

- [118] Vincent Mathieu y col. “Ultrasonic evaluation of dental implant bio-mechanical stability: an in vitro study”. En: *Ultrasound in medicine & biology* 37.2 (2011), págs. 262-270 (vid. pág. 38).
- [119] Vincent Mathieu y col. “Influence of healing time on the ultrasonic response of the bone-implant interface”. En: *Ultrasound in medicine & biology* 38.4 (2012), págs. 611-618 (vid. pág. 38).
- [120] Ivar A. Mjor. “Human coronal dentine: Structure and reactions”. En: *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 33.5 (1972), págs. 810-823. DOI: 10.1016/0030-4220(72)90451-3 (vid. pág. 40).
- [121] Y-C Chien y col. “Distinct decalcification process of dentin by different cariogenic organic acids: Kinetics, ultrastructure and mechanical properties”. En: *Archives of Oral Biology* 63 (2016), págs. 93-105. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2015.10.001 (vid. pág. 40).
- [122] K. Saeki y col. “Recovery after PILP remineralization of dentin lesions created with two cariogenic acids”. En: *Archives of Oral Biology* 82 (2017), págs. 194-202. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2017.06.006 (vid. pág. 40).
- [123] Bingqing Li y col. “Selective demineralisation of dentine extrafibrillar minerals—A potential method to eliminate water-wet bonding in the etch-and-rinse technique”. En: *Journal of Dentistry* 52 (2016). DOI: 10.1016/j.jdent.2016.07.008 (vid. pág. 40).
- [124] RM Carvalho y col. “In vitro study on the dimensional changes of human dentine after demineralization”. En: *Archives of oral biology* 41.4 (1996), págs. 369-377 (vid. pág. 50).
- [125] J.D.B. Featherstone y Adrian Lussi. “Understanding the Chemistry of Dental Erosion”. En: *Monographs in Oral Science*. KARGER, 2006, págs. 66-76. DOI: 10.1159/000093351 (vid. pág. 53).
- [126] Tarun R Naik, V Mohan Malhotra y John S Popovics. “The ultrasonic pulse velocity method”. En: *Handbook on nondestructive testing of concrete*. CRC Press, 2003, págs. 182-200 (vid. pág. 59).



- 
- [127] TP Philippidis y DG Aggelis. “Experimental study of wave dispersion and attenuation in concrete”. En: *Ultrasonics* 43.7 (2005), págs. 584-595 (vid. pág. 59).
- [128] J Keating, DJ Hannant y AP Hibbert. “Comparison of shear modulus and pulse velocity techniques to measure the build-up of structure in fresh cement pastes used in oil well cementing”. En: *Cement and Concrete Research* 19.4 (1989), págs. 554-566 (vid. págs. 59, 66).
- [129] CM Sayers y RL Grenfell. “Ultrasonic propagation through hydrating cements”. En: *Ultrasonics* 31.3 (1993), págs. 147-153 (vid. págs. 59, 66).
- [130] A Boumiz, C Vernet y F Cohen Tenoudji. “Mechanical properties of cement pastes and mortars at early ages: Evolution with time and degree of hydration”. En: *Advanced cement based materials* 3.3-4 (1996), págs. 94-106 (vid. págs. 59, 66).
- [131] Johan Carlson y col. “An ultrasonic pulse-echo technique for monitoring the setting of CaSO<sub>4</sub>-based bone cement”. En: *Biomaterials* 24.1 (2003), págs. 71-77 (vid. pág. 59).
- [132] MD Vlad y col. “Ultrasound monitoring of the setting of calcium-based bone cements”. En: *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 23.7 (2012), págs. 1563-1568 (vid. pág. 59).
- [133] Christopher G Finkemeier. “Bone-grafting and bone-graft substitutes”. En: *The Journal of Bone and Joint Surgery* 84.3 (2002), págs. 454-464 (vid. pág. 59).
- [134] Wenhao Wang y Kelvin Wk Yeung. “Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review”. En: *Bioactive Materials* 2.4 (2017), págs. 224-247 (vid. pág. 59).
- [135] Dario De Leonardis y Gabriele E Pecora. “Prospective study on the augmentation of the maxillary sinus with calcium sulfate: histological results”. En: *Journal of Periodontology* 71.6 (2000), págs. 940-947 (vid. pág. 59).

- [136] Mark V Thomas y David A Puleo. “Calcium sulfate: Properties and clinical applications”. En: *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials* 88.2 (2009), págs. 597-610 (vid. págs. 59, 60).
- [137] Brent K Hoffmeister y col. “Ultrasonic characterization of cancellous bone using apparent integrated backscatter”. En: *Physics in Medicine & Biology* 51.11 (2006), pág. 2715 (vid. págs. 64, 90).
- [138] Changsheng Liu y col. “The exothermal behavior in the hydration process of calcium phosphate cement”. En: *Biomaterials* 24.18 (2003) (vid. pág. 66).
- [139] Martin Ester y col. “A density-based algorithm for discovering clusters in large spatial databases with noise.” En: *Kdd*. Vol. 96. 34. 1996, págs. 226-231 (vid. pág. 69).
- [140] Gabriele Cervino y col. “Alginate materials and dental impression technique: A current state of the art and application to dental practice”. En: *Marine drugs* 17.1 (2019), pág. 18 (vid. pág. 76).
- [141] Manuel Gómez-Cano Hernández. “NTP 205: Ultrasonidos: exposición laboral”. En: () (vid. pág. 82).
- [142] WL Nyborg. “Physical principles of ultrasound in Ultrasound: Its Applications in Medicine and Biology Amsterdam”. En: *The Netherlands: Elsevier Scientific Publishing Company* (1978) (vid. pág. 82).
- [143] IEC 61157. “Standard means for the reporting of the acoustic output of medical diagnostic ultrasonic equipment”. En: *IEC* (2007) (vid. pág. 83).