

# Modelado Matemático de la Oseointegración de un Implante Dental

Juan Carlos Vanegas Acosta  
Maestría en Ingeniería Biomédica

Director:  
Diego Alexander Garzón Alvarado, Ph.D.  
Departamento de Ingeniería Mecánica y Mecatrónica

Grupo de Modelado Matemático y Métodos Numéricos GNUM

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ingeniería - Facultad de Medicina  
Bogotá, Marzo de 2010

*El conocimiento no es de quien lo crea  
sino de quien lo usa*

M. A. Cornejo

*Todo tiene su tiempo  
y todo lo que se quiere debajo del cielo  
tiene su hora.*

Ec. 3 [1]

## AGRADECIMIENTOS

Es para mí un motivo de orgullo y satisfacción presentar este documento que resume el trabajo realizado a lo largo de los 33 meses de duración de este proyecto. Sin embargo, un documento similar no alcanzaría para describir el gran aporte personal que me han significado estos 33 meses. Por esta razón, quiero presentar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que me ayudaron a lograr el título de maestría, así:

*Sólo Dios sabrá reconocer el profundo agradecimiento que le debo por permitirme cursar y terminar esta tesis.*

*Gracias Dios por permitirme entrar a esta maestría y conocer a Diego Garzón, más que profesor y director de esta tesis, amigo. Gracias por permitirme trabajar con él y lograr tantos buenos resultados. Por su gran conocimiento, paciencia y dedicación, gracias.*

*Gracias por permitirme conocer a Nancy Landinez, verdadera compañera en un camino diseñado sólo para una persona como son estas tesis de maestría. Por su carisma, infinita disposición y alegría, gracias. Gracias por permitirme conocer al profesor Eduardo Romero y al grupo de compañeros que conformamos la primera promoción de la Maestría en Ingeniería Biomédica. Sin ellos todos, los 33 meses no habrían sido tan inolvidables.*

*Gracias por la vida y salud de mi madre que bien sé está muy orgullosa de mis triunfos. Por sus decisiones todas cargadas de sabiduría, gracias. Gracias por la vida de mis tíos y tías, en especial de Mónica, con quien estos 33 meses he mantenido una relación más de madre que de tía. Infinitas gracias por poner en mi camino a Liliana Mabel. Desde hace seis años*

---

*la soledad ya no me preocupa. Te doy gracias por permitirme compartir tantas cosas bonitas con ella y por lo que aún no sabemos tengamos que vivir juntos. A ti, miles de besos.*

*Gracias por la vida y salud de mis familiares, amigos y allegados. Especiales gracias por el sustento que me han dado Consuelo, Antonio y Joanna, y la amistad, compañía y cordialidad de Rosy, Rodrigo y sus familiares.*

*Gracias por permitirme viajar y conocer otros lugares y personas. Gracias por permitirme ir a Sao Paulo, Brasil, y conocer a Dairo, Leonardo y todos los amigos colombianos en Campinas. Gracias por permitirme ir a Lima, Perú y visitar a Mercedes y su familia. Gracias por permitirme llegar a la casa de Fabián en Cuenca, Ecuador y por permitirme conocer Quito. Gracias por permitirme ir a México D.F. y poner en mi camino a Ronald, Alejandra y Lorena. Gracias por permitirme trabajar en la UNAM y estar en un laboratorio con un profesor de trayectoria como Higinio Arzate. Gracias por permitirme ir a Buenos Aires, Argentina, y de paso conocer las ciudades de Rosario y Paraná. Gracias por permitirme conocer amigos de tantos lugares. Te pido me permitas algún día volverlos a visitar.*

*Gracias por las personas que acá no alcanzo a mencionar pero que sabes merecen mi reconocimiento por su aporte en este logro. Te pido me sigas dando sabiduría y fortaleza para continuar mi formación académica. Por lo que me haz dado, me das y me darás, gracias. Amén.*

Bogotá, Marzo de 2010

Juan Carlos Vanegas Acosta

Un implante dental es una pieza de biomaterial que se inserta en el hueso de la mandíbula para reemplazar la raíz de un diente ausente. Con la colocación del implante en el hueso se crea una zona de unión entre la superficie del biomaterial del implante y el hueso circundante denominada *interfase hueso-implante dental*. La formación de nueva matriz ósea en esta interfase crea una conexión firme y duradera entre el hueso y el implante en un proceso denominado *oseointegración*. El éxito de este contacto depende de la recuperación de tejidos funcionales que rodeen y estabilicen mecánicamente el implante. Esta recuperación tisular está sujeta a fenómenos de migración, proliferación y diferenciación celular que dependen de las condiciones patológicas del paciente, las condiciones biológicas del hueso receptor, las características de diseño del implante y la distribución de cargas entre hueso y el implante dental. El análisis combinado de estos factores biológicos y mecánicos se denomina *mecanobiología*. El objetivo de esta tesis es introducir un nuevo modelo matemático que describe el proceso de recuperación tisular y posterior oseointegración de la interfase hueso-implante dental en función de factores biológicos, factores mecánicos y la superficie del implante. La solución del modelo se realiza mediante el método de los elementos finitos obteniendo como resultado la distribución de patrones espacio-temporales en una sección de la interfase hueso-implante dental. Estos resultados muestran la habilidad del modelo para reproducir características del proceso de coagulación de la sangre, migración de células osteoprogenitoras, formación de tejido granular, desplazamientos de la matriz de colágeno y formación de nueva matriz ósea. Aunque el modelo es una versión simplificada del proceso mecanobiológico de cicatrización tisular previo a la oseointegración de un implante dental, los resultados obtenidos justifican la formulación

---

matemática implementada. Por lo tanto se concluye que el modelo presentado puede ser usado como base metodológica para la creación de una herramienta que permita al odontólogo predecir el grado de oseointegración de un implante dental y realizar comparaciones entre diferentes condiciones anatómicas y patológicas.

<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>2. Generalidades de la Interfase Hueso-Implante Dental</b>	<b>4</b>
2.1. Introducción . . . . .	4
2.2. Componentes de la Interfase . . . . .	5
2.2.1. El Hueso Alveolar . . . . .	6
2.2.2. El Implante Dental . . . . .	8
2.3. Oseointegración . . . . .	12
2.4. Calidad de la Interfase . . . . .	15
2.4.1. Carga por Fuerzas Externas . . . . .	16
2.4.2. Acción Fisiológica . . . . .	16
2.4.3. Recubrimientos Superficiales . . . . .	18
2.4.4. Daños en el Implante . . . . .	18
<b>3. Mecanobiología de la Interfase Hueso - Implante Dental</b>	<b>20</b>
3.1. Introducción . . . . .	20
3.2. Cicatrización de la Interfase Hueso - Implante Dental . . . . .	21
3.2.1. Sangrado y Coagulación . . . . .	23
3.2.2. Degradación del Coágulo . . . . .	24
3.2.3. Formación del Tejido Granular . . . . .	25
3.2.4. Modelado Óseo . . . . .	27

3.3. Actividad Mecánica en la Interfase Hueso - Implante Dental . . . . .	30
3.3.1. Fenómenos de Adhesión . . . . .	30
3.3.2. Fenómenos de Contracción . . . . .	32
3.3.3. Fenómenos de Activación . . . . .	33
3.4. Modelado Matemático . . . . .	36
<b>4. Implementación de Modelos Biológicos de Reacción-Difusión</b>	<b>40</b>
4.1. Introducción . . . . .	40
4.2. Ecuaciones de Reacción-Difusión . . . . .	41
4.3. Modelos Implementados . . . . .	43
4.3.1. Modelo de Schnakenberg . . . . .	43
4.3.2. Modelo de Glucólisis . . . . .	44
4.3.3. Modelo de Quimiotaxis . . . . .	45
4.4. Método de los Elementos Finitos . . . . .	45
4.5. Resultados . . . . .	49
4.5.1. Modelo de Schnakenberg . . . . .	49
4.5.2. Modelo de Glucólisis . . . . .	51
4.5.3. Modelo de Quimiotaxis . . . . .	53
4.6. Discusión . . . . .	56
<b>5. Modelo Matemático de la Coagulación en la Interfase Hueso Implante - Dental</b>	<b>60</b>
5.1. Introducción . . . . .	60
5.2. Materiales y Métodos . . . . .	62
5.2.1. Proceso Biológico de la Coagulación . . . . .	62
5.2.2. Modelo Matemático . . . . .	64
5.3. Simulación Numérica . . . . .	67
5.3.1. Descripción de la Simulación . . . . .	67
5.3.2. Casos Analizados . . . . .	69
5.3.3. Resultados . . . . .	69
5.4. Discusión . . . . .	74



<b>6. Modelo Mecanobiológico de la Oseointegración de un Implante Dental</b>	<b>78</b>
6.1. Introducción . . . . .	78
6.2. Materiales y Métodos . . . . .	80
6.2.1. Mecanobiología de la interfase hueso-implante dental . . . . .	80
6.2.2. Modelo Matemático . . . . .	82
6.2.3. Trombina . . . . .	83
6.2.4. Fibrinógeno . . . . .	84
6.2.5. Fibrina . . . . .	84
6.2.6. Células Osteogénicas . . . . .	85
6.2.7. Químico Osteogénico . . . . .	86
6.2.8. Tejido Granular . . . . .	86
6.2.9. Desplazamientos de la Matriz . . . . .	87
6.2.10. Osteogénesis . . . . .	88
6.3. Simulación Numérica . . . . .	89
6.3.1. Descripción de la Simulación . . . . .	89
6.3.2. Casos Analizados . . . . .	91
6.3.3. Resultados . . . . .	92
6.4. Discusión . . . . .	99
<b>7. Interacción entre Osteoblastos y Superficies de Titanio: Aplicación en Im- plantes Dentales</b>	<b>106</b>
7.1. Introducción . . . . .	106
7.2. Materiales y Métodos . . . . .	107
7.2.1. Sustratos . . . . .	107
7.2.2. Caracterización de Superficies . . . . .	108
7.2.3. Cultivo Celular . . . . .	108
7.2.4. Adhesión Celular . . . . .	109
7.2.5. Proliferación Celular . . . . .	109
7.2.6. Actividad de la Fosfatasa Alcalina . . . . .	110
7.2.7. Biomineralización . . . . .	110
7.2.8. Análisis Estadístico . . . . .	111
7.3. Resultados . . . . .	111

## CONTENIDO

---

7.3.1. Morfología Superficial . . . . .	111
7.3.2. Adhesión y Proliferación Celular . . . . .	112
7.3.3. Actividad de la Fosfatasa Alcalina . . . . .	114
7.3.4. Biomineralización . . . . .	115
7.4. Discusión . . . . .	118
7.5. Conclusiones . . . . .	121
<b>8. Discusión Final y Trabajo Futuro</b>	<b>123</b>
<b>Apendice A. Método de los Elementos Finitos</b>	<b>129</b>
<b>Apendice B. Parámetros del Modelo de Coagulación</b>	<b>138</b>
<b>Apendice C. Parámetros Caso Trombocitosis</b>	<b>144</b>
<b>Apendice D. Parámetros Caso Trombocitopenia</b>	<b>145</b>
<b>Apendice E. Parámetros del Modelo de Oseointegración</b>	<b>146</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>150</b>

## LISTA DE FIGURAS

2.1. Microscopía electrónica de barrido de la interfase hueso-implante dental . . . . .	5
2.2. Anatomía de un molar y del periodonto . . . . .	6
2.3. Calidad de hueso . . . . .	7
2.4. Características de un implante dental tipo Screw-Type . . . . .	9
2.5. Osteoinducción, osteoconducción y osteogénesis . . . . .	13
2.6. Modificaciones superficiales de un implante dental . . . . .	15
3.1. Etapas biológicas de la cicatrización en la interfase hueso-implante dental . . . . .	22
3.2. Cadena de diferenciación osteoblástica . . . . .	28
3.3. Fenómenos mecánicos en la interfase hueso-implante dental . . . . .	31
3.4. Mecanismo de mecanotransducción ósea. . . . .	35
3.5. Modelo preliminar de la oseointegración de implantes dentales . . . . .	39
4.1. Modelo de Schnakenberg 1D. Químico Activador . . . . .	49
4.2. Modelo de Schnakenberg 1D. Químico Inhibidor . . . . .	50
4.3. Modelo de Schnakenberg 2D. Químico Activador . . . . .	51
4.4. Modelo de Glucólisis 2D. Concentración de glucosa . . . . .	52
4.5. Modelo de Glucólisis 2D. Concentración de piruvato . . . . .	53
4.6. Modelo de Glucólisis 2D. Patrón de puntos . . . . .	54
4.7. Modelo de Glucólisis 2D. Patrón de franjas . . . . .	55
4.8. Modelo de Quimiotaxis. Densidad Celular . . . . .	56

## LISTA DE FIGURAS

---

4.9. Modelo de Quimiotaxis. Concentración de quimioattractante . . . . .	57
4.10. Modelo de Quimiotaxis. Variación de las condiciones iniciales . . . . .	58
5.1. Respuesta biológica ante una lesión vascular . . . . .	63
5.2. Vías de coagulación . . . . .	64
5.3. Dominio bidimensional del modelo de coagulación . . . . .	68
5.4. Evolución temporal de la formación de fibrina . . . . .	70
5.5. Evolución temporal de la concentración de trombina en un punto . . . . .	71
5.6. Evolución temporal de la concentración de fibrinógeno en un punto . . . . .	72
5.7. Evolución temporal de la concentración de fibrina en un punto . . . . .	73
5.8. Fibrina en caso normal . . . . .	74
5.9. Fibrina en trombocitosis y trombocitopenia . . . . .	75
6.1. Dominio bidimensional del modelo de oseointegración . . . . .	89
6.2. Formación del coágulo de fibrina . . . . .	93
6.3. Densidad de células osteogénicas . . . . .	95
6.4. Concentración de químico osteogénico . . . . .	96
6.5. Densidad de tejido granular . . . . .	97
6.6. Desplazamientos de la matriz de fibras de fibrina . . . . .	98
6.7. Volumen de nuevo osteoide . . . . .	99
7.1. Morfología de los sustratos analizados . . . . .	113
7.2. Ensayo de adhesión celular . . . . .	114
7.3. Ensayo de proliferación celular . . . . .	115
7.4. Ensayo de ALP . . . . .	116
7.5. Caracterización de la biomineralización por estereo zoom . . . . .	117
7.6. Porcentaje de área con depósitos de mineral . . . . .	118
A.1. Uso del elemento de referencia para la integración . . . . .	131
A.2. Funciones de forma globales . . . . .	132
A.3. Relación entre el cuadrilátero de referencia y de la geometría real . . . . .	134

LISTA DE TABLAS

2.1. Mecanismos de control óseo en la interfase hueso-implante dental . . . . .	12
5.1. Parámetros el modelo de coagulación . . . . .	67
E.1. Parámetros umbrales del modelo de oseointegración . . . . .	149

# CAPÍTULO 1

## INTRODUCCIÓN

La historia de la implantología moderna está relacionada con la reconstrucción dental [1,2]. En la década de 1960 P.I. Branemark acuñó el término *oseointegración* para referirse a la aceptación y anclaje de piezas de titanio introducidas en el hueso mandibular [3,4]. Estas piezas de titanio hoy son conocidas como *implantes dentales*, y desde entonces diversos trabajos han reportado avances en el diseño original que incrementan su desempeño [5–10]. En términos generales, la oseointegración es la conexión estructural y funcional directa entre el hueso vivo y la superficie de un implante sujeto a carga [11, 12], proporcionando un mecanismo de unión para la incorporación de un componente de material no biológico en el cuerpo humano. Cuando se inserta un implante dental en el hueso mandibular se crea la denominada *interfase hueso-implante dental* o zona de unión entre la superficie del biomaterial y los tejidos circundantes que pueden ser tejido óseo, tejido conjuntivo y tejido epitelial [13–15]. La adecuada cicatrización de esta interfase consiste en la reducción anatómica de la lesión causada durante la inserción del implante, condicionada a factores biológicos y subjetivos del paciente [16, 17], factores mecánicos [5, 6, 18] y la superficie del implante [19–21]. Como un fenómeno de recuperación funcional, la oseointegración es utilizada en un amplio rango de aplicaciones clínicas, entre las que no sólo se destacan los implantes dentales sino también se encuentran las prótesis faciales, las ayudas auditivas, las prótesis de dedos a nivel articular, y las prótesis de cadera y miembro inferior [2, 22].

Desde el punto de vista biológico, la cicatrización de la interfase hueso-implante dental

puede resumirse en cuatro etapas [15, 23]: 1) coagulación de la sangre, 2) migración de células osteoprogenitoras, 3) formación de tejido granular (matriz de colágeno y nuevos vasos sanguíneos), y 4) formación de nueva matriz ósea. Desde el punto de vista mecánico esta cicatrización está condicionada a las fuerzas creadas por los efectos de adhesión molecular y celular [21], los efectos de contracción causados por la migración celular [24] y el proceso de mecanotransducción ósea que regula la formación de nuevo hueso por acción de las fuerzas externas [18, 25]. A su vez, la superficie del implante modifica la actividad celular y molecular en la interfase, de manera que las superficies con alta rugosidad permiten mayor adhesión de células y moléculas [26, 27]. Esto deriva en una mayor adhesión y formación de los tejidos alrededor del implante, y por lo tanto, en una adecuada oseointegración [4, 19]. Por el contrario, las superficies con baja rugosidad no ofrecen suficiente adhesión a células y moléculas de tal manera que las fuerzas de contracción producidas por la migración celular pueden separar los tejidos en formación de la superficie del implante [19]. Esto crea una brecha entre el implante y el frente de recuperación tisular que disminuye el grado de oseointegración [24, 28].

Por lo tanto, la presencia continua de los estímulos mecánicos condiciona la consolidación del nuevo tejido óseo y la correcta cicatrización de la interfase hueso-implante dental. Este balance entre estímulo mecánico y proceso biológico es la realidad anatómica y funcional que define la *mecanobiología* como el estudio de la influencia de los estímulos mecánicos en la consolidación de los tejidos biológicos [29]. Aunque gran parte del conocimiento que se tiene sobre la mecanobiología de la interfase hueso-implante dental proviene de trabajos experimentales, en los últimos años se han obtenido resultados cuantitativos a partir del desarrollo de modelos matemáticos computacionales que analizan numéricamente los fenómenos biológicos y mecánicos. No obstante, en la mayoría de los modelos matemáticos hasta ahora implementados no es posible demostrar la evolución de la estabilidad de un implante, debido a que en ellos la interfase hueso-implante dental se ha considerado totalmente formada [30, 31]. En estos casos se pasa por alto que la interfase es una entidad viva cuyas propiedades están en cambio continuo debido al conjunto de factores mecánicos y biológicos que deben ser considerados por igual en la formulación de un modelo completo de la oseointegración [32, 33].

En esta tesis se presenta la formulación e implementación de un nuevo modelo matemático mecanobiológico que predice la oseointegración de un implante dental en términos de la cicatrización de la interfase hueso-implante. El enfoque mecanobiológico utilizado se basa en

la descripción de la cicatrización de la interfase como un proceso biológico secuencial que involucra los factores mecánicos y la superficie del implante. Esta descripción complementa los modelos existentes y por lo tanto puede ser considerada como base metodológica para la formulación de un modelo matemático general de la recuperación tisular en la interfase hueso-implante dental así como en la creación de una herramienta de uso odontológico que permita predecir el grado de oseointegración de un implante dental.

En adelante, este documento está dividido en tres partes. En la primera parte se discuten las generalidades de la interfase hueso-implante dental (**Capítulo 2**) y su realidad mecano-biológica (**Capítulo 3**). La segunda parte está dedicada a la presentación de algunos modelos matemáticos con enfoque biológico y de la herramienta utilizada para su implementación computacional (**Capítulo 4**). En esta parte se incluye la descripción de la formulación e implementación de un modelo de la coagulación en la interfase hueso-implante dental planteado desde las bases metodológicas extraídas de los modelos biológicos previamente implementados (**Capítulo 5**). La tercera parte del documento está dedicada a la introducción del nuevo modelo de la oseointegración de implantes dentales formulado a partir de la cicatrización de la interfase hueso-implante y la influencia que sobre ella ejercen no sólo los factores biológicos encargados de la recuperación tisular sino también los factores mecánicos y la superficie del implante (**Capítulo 6**). En esta parte del documento se incluye un acercamiento experimental a la oseointegración a partir de una serie de pruebas de laboratorio empleando técnicas de cultivo celular realizadas sobre diferentes tipos de superficies típicamente usadas en implantes dentales (**Capítulo 7**). A partir de los resultados obtenidos mediante el modelo matemático y los resultados obtenidos mediante el acercamiento experimental se formulan las conclusiones finales y se establecen los lineamientos del trabajo futuro (**Capítulo 8**).



## CAPÍTULO 2

# GENERALIDADES DE LA INTERFASE HUESO-IMPLANTE DENTAL

### 2.1. Introducción

La oseointegración es la conexión firme, estable y duradera entre un implante sujeto a carga y el hueso que lo rodea (figura 2.1) [11,12]. El éxito de esta conexión o interfase hueso-implante depende de factores biológicos y sistémicos del paciente [12,34,35] y de las características del implante y su superficie [5,36], entre otros. Una adecuada oseointegración está sujeta a la aceptación del implante por parte de los tejidos vivos [4,11] sin la formación de tejido fibroso en la interfase hueso-implante y sin la presencia de síntomas de inflamación severa [1,2,4,13].

La interfase hueso-implante dental se caracteriza por las propiedades favorables al crecimiento y formación de nuevo hueso alveolar que posee el implante en su superficie [24,37–39] y por el diseño del implante, lo que le permite distribuir adecuadamente las cargas mecánicas ejercidas durante la masticación [4,5,11]. Por lo tanto, esta interfase debe considerarse como el resultado de la interacción de un conjunto de factores que modulan la respuesta biológica y que determinan el éxito de la oseointegración, entre los que se encuentran la respuesta inmune del paciente [4,35], el procedimiento de inserción [37], las características fisiológicas del hueso receptor [24], los factores mecánicos del implante y su superficie [19,26], y la acción de fuerzas mecánicas sobre el hueso y el implante [25].

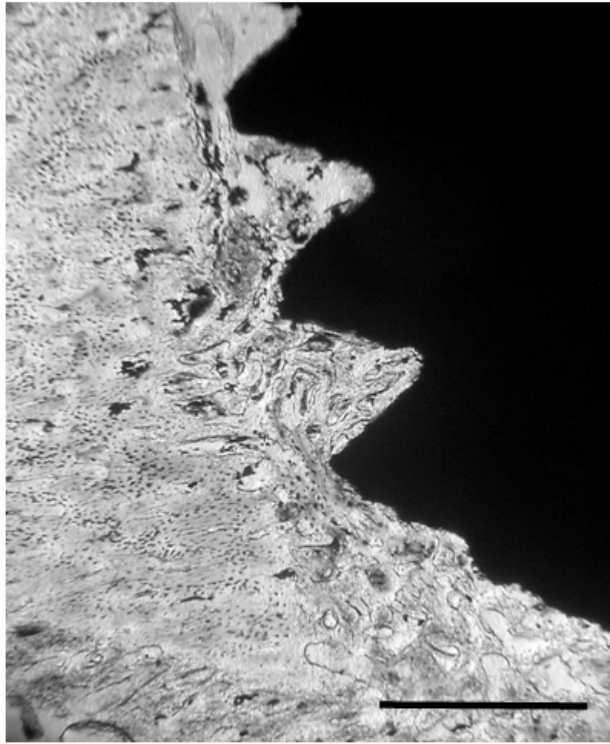


Figura 2.1: Microscopía electrónica de barrido de la interfase hueso-implante dental. Se observa la adaptación del hueso al perfil acanalado del implante (retirado durante la preparación de la muestra). Cortesía Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá. Barra = 10  $\mu\text{m}$ .

En este capítulo se presenta una revisión del estado del arte sobre implantes dentales para extraer las características generales de la interfase hueso-implante dental y que conducen a una adecuada oseointegración. En la siguiente sección se revisa la biología del hueso alveolar y sus características más relevantes. Luego se mencionan las generalidades de un implante dental y su procedimiento de inserción. Posteriormente se describen los aspectos generales de la oseointegración, y por último se realiza una discusión sobre los principales factores que controlan la formación de la interfase hueso-implante y que regulan la oseointegración.

## 2.2. Componentes de la Interfase

Los dientes son estructuras anatómicas utilizadas durante la masticación. Cada diente se compone de corona, cuello y raíz [23,37]. La corona es la parte visible en la boca, mientras la

raíz es la parte insertada en el hueso maxilar. El cuello corresponde al límite entre la corona y la raíz [37] (figura 2.2a). Los dientes se insertan en una serie de cuencas o *alvéolos* presentes en el hueso de la mandíbula al interior de los cuales se encuentra un tipo de hueso denominado *hueso alveolar* [38].

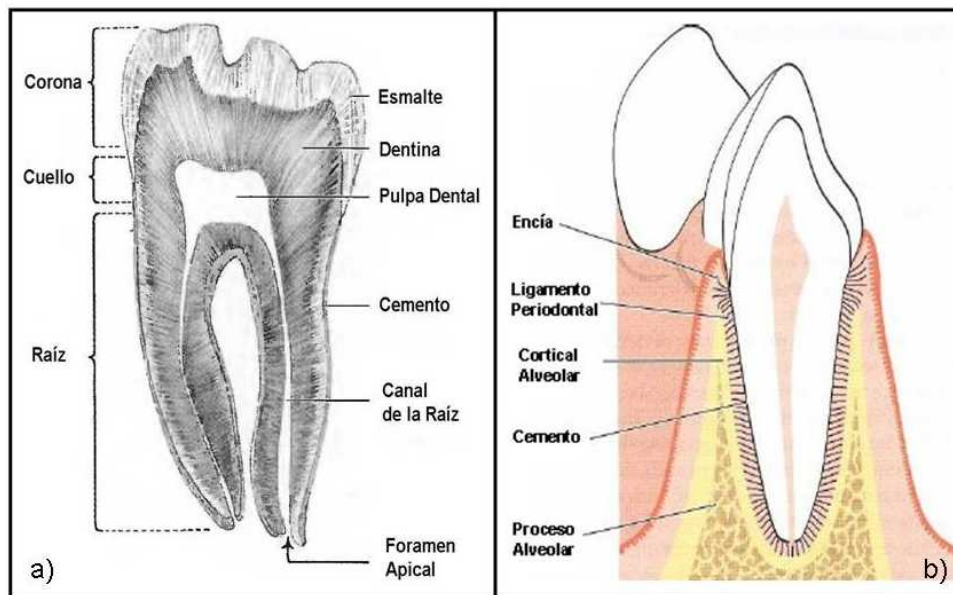


Figura 2.2: a) Anatomía de un molar. Adaptado de [40]. b) Anatomía del periodonto. Adaptado de [26]

### 2.2.1. El Hueso Alveolar

El hueso alveolar hace parte del denominado periodonto o conjunto de estructuras que rodean y dan soporte al diente, conformado por la encía, el ligamento periodontal y el cemento (figura 2.2b) [37]. A su vez, el hueso alveolar está formado por dos estructuras: el proceso alveolar y la cortical alveolar. Una lesión en este tipo de hueso, como la producida por el procedimiento de inserción de un implante dental, se recupera siguiendo las etapas del proceso de cicatrización del hueso intramembranoso [23, 38]. Desde el punto de vista biológico la formación del hueso en la interfase es similar al proceso de cicatrización de una fractura [24,37]. Sin embargo, en la planeación de un tratamiento dental que incluya la inserción de un implante dental se deben tener en cuenta aspectos aún más generales que la anatomía del hueso alveolar, distintos a su capacidad regenerativa. Entre estos aspectos se encuentran la edad del paciente,

el historial de posibles enfermedades óseas, el volumen de hueso necesario para que el implante sea exitoso conforme a las dimensiones anatómicas del maxilar del paciente, los espacios de maniobrabilidad que dispone el cirujano para la inserción del implante, y la posición y dirección que por estética el implante dental debe tener respecto a los dientes remanentes y al maxilar [41].

Las características de la lesión causada en el hueso alveolar como consecuencia del procedimiento quirúrgico de inserción del implante dental determinan la viabilidad del proceso de cicatrización y del nuevo hueso [4, 13]. Estas características están en relación directa con la calidad del hueso y con el procedimiento quirúrgico utilizado [5, 41]. Se denomina calidad de hueso a la relación de cantidad existente entre la proporción de hueso cortical de la cortical alveolar y la proporción de hueso trabecular del proceso alveolar [41, 42] (figura 2.3). Según esta relación, un hueso con calidad tipo 1 es predominantemente cortical, mientras que un hueso con calidad tipo 4 es predominantemente trabecular.

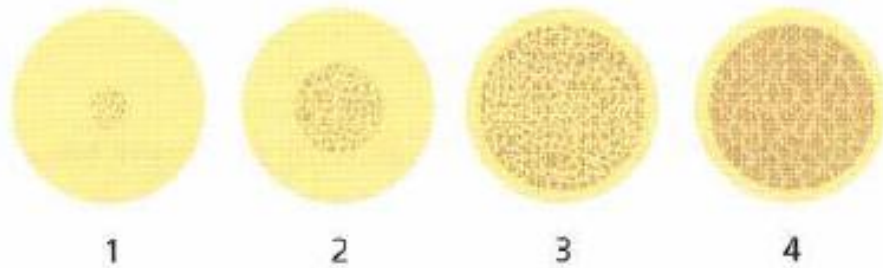


Figura 2.3: Calidad de hueso. Tomado de [41]

La calidad de hueso es importante en implantología dental debido a que representa un indicador de viabilidad para un tratamiento y procedimiento de inserción determinado [41]. Por ejemplo, debido a la mayor densidad y menor porosidad del hueso cortical, las calidades de hueso tipo 1 y tipo 2 presentan mayor estabilidad y mayor anclaje tras la inserción del implante dental [5]. Sin embargo, por su cercanía con la médula ósea y el tejido hematopoyético, el hueso trabecular requiere un menor tiempo de cicatrización respecto al hueso cortical [24]. De acuerdo a esto puede entonces resultar más conveniente que el sitio de implantación tenga una calidad de hueso tipo 3 o tipo 4. Esta dualidad entre estabilidad y tiempo de cicatrización ha permitido la aparición de nuevas técnicas de fabricación de implantes dentales [20, 43, 44] y

nuevos protocolos de inserción [41] que mejoran la tasa y velocidad de cicatrización independiente de la calidad de hueso, con lo cual se impulsa el diseño de implantes oseointegrables destinados a ser usados en zonas con hueso mayoritariamente trabecular [45].

Estas características del hueso alveolar condicionan la interfase hueso-implante siempre que la formación de hueso constituye la esencia del éxito del implante [4, 23]. No obstante, aspectos más generales de la anatomía del hueso mandibular deben ser tenidos en cuenta durante la planeación de un tratamiento dental que incluya la inserción de un implante. Entre estos aspectos se cuenta las dimensiones de la mandíbula y el maxilar, el volumen de hueso necesario para que el implante sea exitoso, los espacios de maniobrabilidad que dispone el cirujano para la inserción del implante, la edad del paciente y su historial de posibles enfermedades óseas [5, 23]. Adicionalmente, la adecuada selección del implante y el procedimiento de inserción determinan buena parte de las características de estabilidad y anclaje del hueso circundante y por lo tanto, la oseointegración de la interfase [23]. En la siguiente sección se mencionan las características generales de un implante dental y los factores asociados con el procedimiento de implantación en relación con la oseointegración en la interfase hueso implante.

### 2.2.2. El Implante Dental

Un implante dental es un dispositivo hecho de un material biológicamente inerte que es insertado mediante cirugía en el hueso alveolar y que sustituye la raíz de un diente ausente [46]. Hace parte de la unidad protésica que sustituye el diente por completo y que además del implante se compone del pilar protésico y la prótesis (figura 2.4).

Debido a que el implante está en contacto únicamente con el tejido óseo, el pilar protésico prolonga el implante sobre los tejidos blandos (figura 2.4). Una cuarta pieza denominada junta se encarga de unir el pilar protésico con la prótesis dental que hace las veces de corona dental. En general, la prótesis puede unirse al implante mediante una junta atornillada o una junta cementada. En la junta atornillada (figura 2.4) se utiliza un tornillo para ajustar la prótesis mientras que en la junta cementada se utilizan cementos dentales mejorados, provenientes de cementos dentales estándar usados en la práctica odontológica.

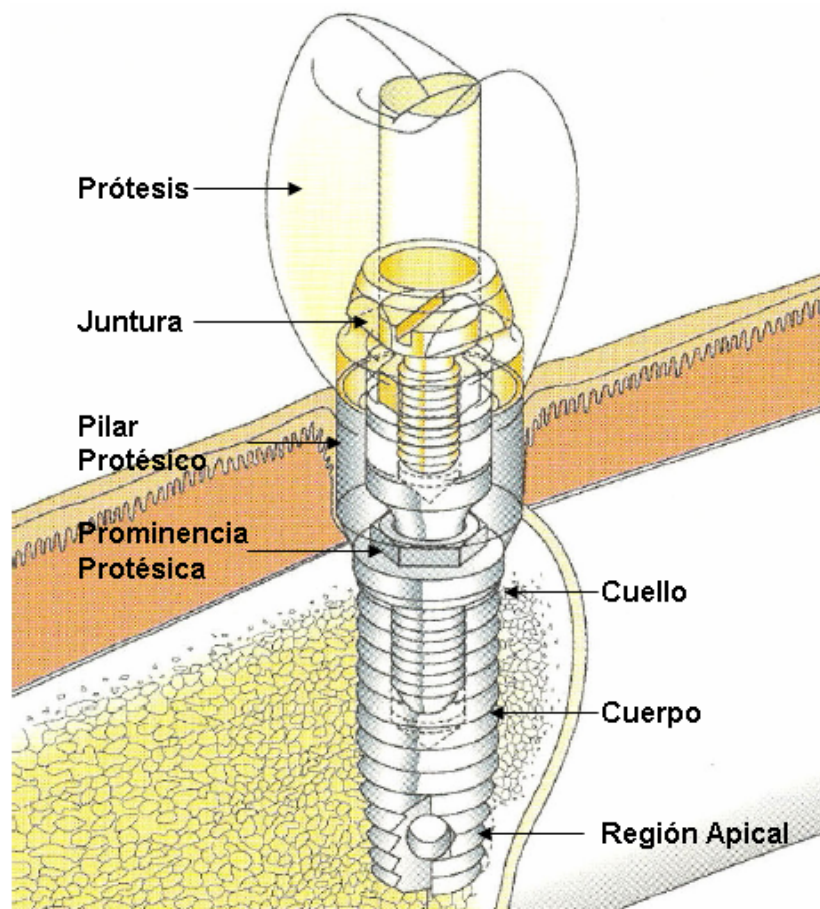


Figura 2.4: Características de un implante dental tipo Screw-Type. Adaptado de [10].

Existen diferentes tipos de implantes dentales, pero se destacan aquellos que tienen el cuerpo rugado y roscado, con dimensiones que varían en promedio entre los 6.0 - 16.0 mm de largo y 3.5 - 5.0 mm de diámetro [4, 5]. Sin embargo, la longitud y el diámetro óptimos necesarios para una implantación exitosa a largo plazo dependen de las condiciones de soporte del hueso residente, y los factores biológicos [23, 24, 41] y mecánicos asociados [31, 47, 47]. En la actualidad existen diferentes geometrías de implantes dentales pero la más difundida es la geometría tipo tornillo o screw-type introducida por P.I Branemark [3] gracias a que posee una alta retención mecánica dada por el cuerpo acanalado y una gran habilidad para transferir fuerzas compresivas al tiempo que mejora la estabilidad inicial [5, 45].

En general, los implantes dentales son fabricados de titanio comercialmente puro [Ti.c.p.] [48] debido a su comprobada biocompatibilidad, es decir, la aceptación por parte de los tejidos vivos [49]. La biocompatibilidad se caracteriza por la ausencia de corrosión y deterioro del

material que puede conducir a respuestas inflamatorias indeseables, muerte del tejido circundante o la formación de trombos por efectos de coagulación sanguínea inesperada. Implica además que el organismo no genere respuestas inmunológicas indeseadas como el aumento en el número de anticuerpos, y que no existan fenómenos de mutación celular o aparición de células cancerígenas [10, 13, 49]. Para determinar la biocompatibilidad de un material se llevan a cabo pruebas experimentales in vitro usando cultivos celulares mediante las cuales se determina la toxicidad y solubilidad del material [49]. Además, se realizan pruebas in vivo particularmente en modelos animales que mediante técnicas de histoquímica, inmunohistoquímica, bioquímica, carga mecánica y microscopía electrónica permiten evaluar la respuesta de los tejidos vivos en presencia del material [49, 50].

Varios estudios realizados para evaluar la biocompatibilidad de diferentes tipos de materiales [36, 51, 52] han demostrado que el titanio es uno de los materiales que mejor respuesta presenta a la inserción en el organismo vivo gracias a su resistencia a la corrosión y su estabilidad mecánica durante la etapa de cicatrización [13, 50]. Se ha encontrado que el niobio, el tantalio y el circonio son los materiales no tóxicos más favorables para ser usados con aleaciones de titanio en aplicaciones biomédicas [53], y que entre los biomateriales metálicos, la biocompatibilidad de las aleaciones de titanio es la más elevada. Sin embargo, estas aleaciones no son bioactivas, es decir, no forman una unión fuerte con el tejido óseo [26]. Un material es bioactivo si permite la colonización de su superficie por parte de las células osteoprogenitoras. Una medida esta característica es la inmersión del material en un fluido que simula las condiciones corporales y determinando la formación de microcristales de hidroxiapatita [26]. Por la necesidad de establecer uniones directas, adherentes y fuertes con el tejido óseo, los implantes dentales son provistos de tratamientos superficiales y recubrimientos con otros materiales que incrementan su desempeño al promover el crecimiento de hueso en su superficie [10, 26, 54].

Además de las características propias del implante, el procedimiento de inserción ha demostrado ser importante en el éxito de una unidad protésica. Debido a la presencia de un amplio número de bacterias en la boca, la herida causada por el procedimiento de inserción debe reservarse para evitar una posible infección que lleve consigo la pérdida del implante. Por esta razón, la técnica de inserción más referenciada incluye el cubrimiento del implante con el tejido epitelial que originalmente recubre el sitio de inserción [3–5, 37, 41, 55]. El uso de esta técnica disminuye el tiempo de cicatrización de la herida al aislarla temporalmente

del ambiente rico en microorganismos presentes en la cavidad oral y aumenta la presencia de hueso en la superficie del implante reduciendo el riesgo de contaminación bacteriana y pérdida del implante [4,5,13]. En general, esta técnica se conoce como técnica de dos etapas debido a que se requieren dos intervenciones quirúrgicas para finalizar la colocación de la prótesis [3]. En la primera intervención, se realiza la inserción del implante y se cubre con el epitelio. En la segunda intervención, 4 a 6 semanas después de la primera, se retira el epitelio para descubrir la región cortical del implante y colocar el pilar protésico y la prótesis [55]. Sin embargo, existe otro tipo de técnica en la que el implante se coloca junto con el pilar protésico e incluso la prótesis dental durante una única cirugía en la cual no se realiza el recubrimiento epitelial. Esta técnica se conoce como técnica de una etapa y permite reducir el tiempo de cicatrización aumentando el beneficio para el paciente [56]. No obstante, esta técnica es poco utilizada debido a los problemas de contaminación bacteriana que se presentan durante la cicatrización como consecuencia de la ausencia de aislamiento epitelial y al aumento de los daños en el tejido en formación por acción de los micromovimientos causados por el uso temprano de la prótesis [5,56].

Cualquier que sea la técnica utilizada, el procedimiento de inserción debe seguir un estricto protocolo de cirugía que proteja los tejidos circundantes y garantice la estabilidad y viabilidad del implante. Se sabe que un procedimiento que genere trauma excesivo en los bordes del hueso circundante puede conducir a una respuesta inmunológica indeseable que cause la formación de una cápsula fibrosa que aisle el implante del hueso y evite su oseointegración [57]. Este trauma se debe a excesos en la carga y en la velocidad del equipo de perforación usado para crear el sitio de inserción del implante [24]. El exceso de carga causa la aparición de microfracturas en el hueso que afectan la estabilidad mientras que el exceso de velocidad causa un aumento en la temperatura del hueso y en consecuencia su necrosis [41]. Durante la perforación del sitio de inserción, se produce fricción entre la punta del taladro y el hueso alveolar. Si esta fricción es tal que provoca un aumento en la temperatura del hueso circundante por encima de los 47 °C promedio por minuto, se produce necrosis del hueso como consecuencia del calor excesivo y el implante puede perderse debido a la formación de tejido fibroso a su alrededor [58].

Aunque la evaluación de las características anatómicas del hueso alveolar, la selección del implante y el uso de un protocolo de inserción cuidadoso están asociadas con el éxito de la interfase hueso-implante, su oseointegración depende en gran medida de la formación de hueso



en la superficie del implante [4, 34]. En la siguiente sección se muestra cómo la superficie del implante está directamente relacionada con la formación y estabilidad del hueso circundante.

### 2.3. Oseointegración

Como se mencionó anteriormente la oseointegración es la aceptación y adaptación funcional de un implante insertado en el hueso. El éxito del proceso depende de la función de dos procesos previos: la osteoinducción y la osteoconducción [34] (Tabla 2.1). La osteoinducción es el proceso a través del cual las células madre se diferencian en las células osteogénicas que forman el tejido óseo (figura 2.5a). La deposición de nuevo hueso por parte de estas células se conoce como osteogénesis (figura 2.5b) [34]. Existen dos tipos de osteogénesis: osteogénesis a distancia y osteogénesis de contacto [24]. En la primera, el tejido óseo se forma desde la superficie del hueso circundante. En la segunda, la formación de tejido óseo se produce desde la superficie del implante (figura 2.5b). Es decir, la formación de hueso en la región periprotésica tiene dos direcciones: desde la superficie del hueso circundante hacia el implante y desde la superficie del implante hacia el hueso circundante [39].

MECANISMO	DESCRIPCIÓN
Osteoinducción	Transformación de células precursoras en células osteogénicas
Osteoconducción	Formación de hueso sobre la superficie del implante dental
Osteogénesis	Proceso en el que las células osteogénicas forman sitios de deposición de nuevo hueso

Tabla 2.1: Mecanismos de control óseo en la interfase hueso-implante dental [34, 35]

Sin embargo, y a pesar que la osteogénesis de contacto forma tejido óseo a una velocidad 30 % mayor que la osteogénesis a distancia [39], la formación desde la superficie del implante implica que dicha superficie permita su colonización por parte de células de origen mesenquimal [24]. Esta colonización, denominada osteoconducción, corresponde a la formación de hueso

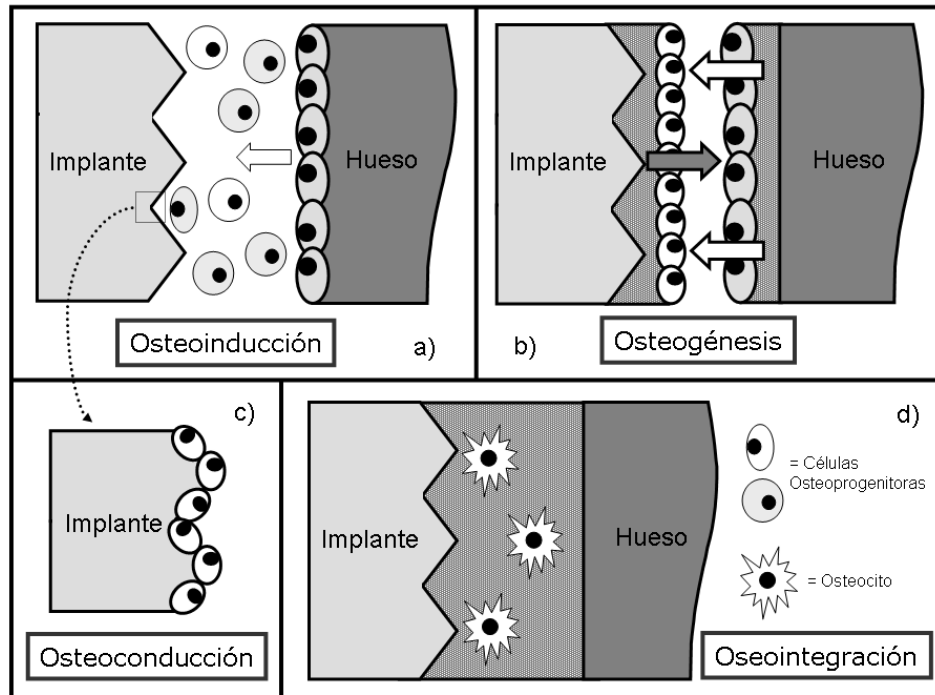


Figura 2.5: La osteoinducción (a) permite la diferenciación de las células osteoprogenitoras. La osteogénesis (b) es causada tanto por las células osteoprogenitoras que alcanzan la superficie del implante (osteogénesis de contacto, flecha gris) como por las células osteoprogenitoras que proliferan desde el borde del hueso (osteogénesis directa, flechas blancas). Estas células que proliferan colonizan la superficie del implante durante la denominada osteoconducción (c). La adecuada formación y viabilidad del hueso (presencia de osteocitos) alrededor del implante permite que exista oseointegración (d) en la interfase hueso-implante.

sobre una superficie de material bioactivo (figura 2.5c) [24,34]. Este fenómeno depende esencialmente de la biocompatibilidad del material y de sus características superficiales [27,44]. Como consecuencia de la colonización de la superficie del implante por parte de las células osteoprogenitoras, se forma una interfase de contacto entre el implante y los tejidos que lo rodean (figura 2.5d).

Este contacto puede ser de dos tipos: el contacto con el hueso o tejido duro, y el contacto con el tejido fibroso o suave. Se ha reportado que el contacto directo entre el hueso vivo y la superficie del implante forma una fuerte matriz extracelular de unión tanto estructural como funcional que incrementa con el tiempo, promueve la osteogénesis reparativa en la interfase y

permite la fijación del implante gracias a su mineralización [2,28]. En el caso de la interfase con el tejido suave, se ha reportado que las células epiteliales forman un fuerte collar alrededor del implante que carece de signos de respuesta inflamatoria y que crea una fina capa de tejido conectivo poco vascularizada en las cercanías de la superficie del implante a partir de la cual comienza la regeneración tisular [14].

Estos contactos entre el tejido biológico y el implante están relacionados con las características topográficas en la superficie del implante. Existen tres escalas de topografía superficial (figura 2.6), cada una con ventajas respecto al comportamiento del implante y la formación de la interfase hueso-implante [19,21,59]. Se ha establecido que las modificaciones superficiales en las dimensiones menores a un micrómetro tiene influencia en la morfología, orientación y adhesión celular [26,60], mientras que las dimensiones entre uno y cien micrómetros están asociadas con la formación de hueso [19], y las dimensiones superiores a los cien micrómetros, especialmente la topografía roscada, están relacionadas con el soporte y estabilidad del implante frente a la acción mecánica [26,45].

Mientras la macrotopografía, es decir, el diseño acanalado del cuerpo del implante está relacionado con la resistencia a esfuerzos y la estabilidad inicial, la microtopografía, es decir, el tratamiento superficial, proporciona a la superficie del implante un patrón similar al dejado por el frente de resorción de osteoclastos en la superficie del hueso durante el remodelamiento [6,45]. Este patrón superficial permite que la línea de cementación secretada por los precursores osteoblásticos se entrelace con la superficie del implante y asegure la formación del nuevo hueso [19]. De la misma manera, el recubrimiento de la superficie del implante puede incrementar la absorción de *integrinas* [26]. Las integrinas son cadenas de proteínas responsables de la adhesión a nivel celular entre el citoesqueleto de la célula y un sustrato, en este caso, la superficie del implante [26,60]. Esta unión se logra mediante la combinación de secuencias proteicas específicas que se encuentran tanto en el citoesqueleto de la células como en el sustrato. La unión de estas secuencias activa vías de señalización que modifican el comportamiento de la célula, haciendo por ejemplo que proliferen o se diferencien [60].

Se ha reportado que el recubrimiento de diferentes tipos de sustratos con algunos tipos de proteínas tales como fibronectina y vitronectina influencia la expresión de integrinas e incrementa la adhesión, proliferación y diferenciación de osteoblastos [21,60]. Esto es así gracias a

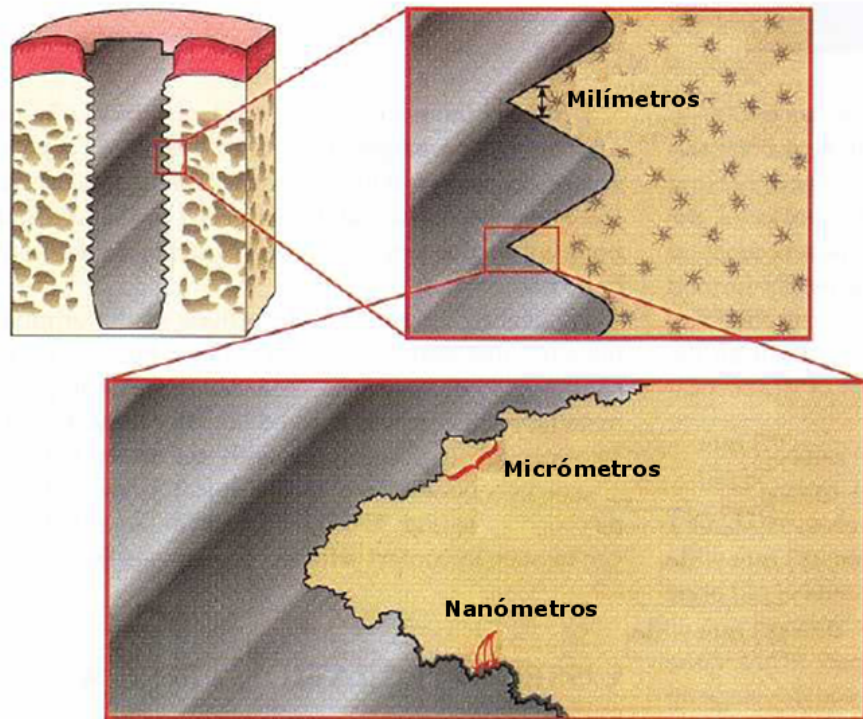


Figura 2.6: Las tres escalas de modificaciones en la superficie de un implante dental. Adaptado de [59]

que estas proteínas de recubrimiento poseen cadenas de unión para las integrinas que median la adhesión de las células osteoblásticas [26,60]. Actualmente estas proteínas junto con otras sustancias presentes durante la regeneración tisular son utilizadas como recubrimiento de las superficies en algunos implantes dentales [26,43].

## 2.4. Calidad de la Interfase

Hasta ahora se han mencionado las generalidades anatómicas del hueso alveolar, las características más importantes de un implante dental y se ha mostrado cómo su superficie determina la oseointegración en la interfase hueso-implante. No obstante, existen otros factores que controlan la respuesta biológica de formación de nuevo hueso en la interfase y que merecen un tratamiento especial. Entre estos factores se encuentran 1) la acción de la carga mecánica, 2) la acción fisiológica sobre el material del implante, 3) los recubrimientos superficiales y 4) los daños en el implante.

### 2.4.1. Carga por Fuerzas Externas

Se ha llegado al consenso general que la transferencia de carga es un factor primordial en el éxito de la interfase hueso-implante debido a que, tanto hueso como implante, deben estar sometidos a cierta cantidad de esfuerzo dentro de un rango de equilibrio [31,47]. En el caso del implante, los esfuerzos deben ser tales que se evite la fatiga del material y su posible fractura. Por su parte, en el hueso es sabido que el sobre-esfuerzo puede causar resorción, mientras que un esfuerzo muy bajo puede dar lugar a atrofia por desuso y la consecuente pérdida del hueso [61]. En condiciones normales, las fuerzas que resultan del contacto oclusal entre los dientes condicionan la adaptación fisiológica de los tejidos del periodonto, y si exceden su capacidad adaptativa, pueden causar lesiones y traumatismos [38]. Sin embargo, y debido a la pérdida de los tejidos periodontales durante la inserción de un implante, la aparición de estos traumatismos en la interfase hueso-implante genera fuerzas oclusales adversas que causan complicaciones mecánicas en el implante como pérdida del perfil roscado y fractura por sobrecarga [61].

Además de la transferencia de carga, la formación de la interfase hueso-implante depende de una adecuada estabilidad inicial. La carga inmediata del implante, aunque posible, puede producir micromovimientos que estimulen la formación de tejido fibroso [39]. Aunque los micromovimientos son normales en un diente natural [38], la eliminación de las estructuras del periodonto en el caso de un implante dental da lugar a que los micromovimientos sean indeseables [6]. Micromovimientos por encima de los 100  $\mu\text{m}$  son suficientes para poner en peligro el contacto directo del hueso con el implante y se ha reportado que micromovimientos mayores a 150  $\mu\text{m}$  pueden causar la formación de tejido fibroso alrededor del implante que impide la adecuada formación de hueso y por lo tanto la oseointegración.

### 2.4.2. Acción Fisiológica

Como se ha mencionado, la topografía del implante influye en los contactos entre el implante y los tejidos biológicos circundantes. Sin embargo, existe un contacto adicional distinto al contacto del implante con los tejidos duros y blandos que caracterizan la interfase hueso-implante. Este contacto corresponde al creado por la presencia de fluidos fisiológicos,

especialmente sangre, durante las etapas tempranas de la cicatrización [26]. Estos fluidos crean una capa aislante entre el implante y el medio circundante que depende directamente de las características del implante, en especial, la tensión interfacial, el potencial zeta y la hidrofobicidad [62].

La tensión interfacial es un parámetro que relaciona las fuerzas de adhesión de las células y las fuerzas de cohesión de los átomos al interior del material, de manera que si las fuerzas de cohesión son mayores que las fuerzas de adhesión habrá muy poca o nula interacción física entre el material y su medio [62].

El potencial zeta es la diferencia de potencial en la superficie de contacto entre un material y su medio externo [62,63]. Esta propiedad está relacionada con la densidad y naturaleza de las cargas estáticas en la superficie del material y depende tanto de las propiedades del material como del medio externo [62]. Determina la tasa de intercambio iónico entre el material y el medio externo. Se ha demostrado que bajos potenciales zeta estimulan la diferenciación de células osteogénicas en la superficie del material y que las superficies cargadas negativamente poseen una excelente biocompatibilidad [62,63]. Su medición es importante para establecer la formación de la capa de proteínas en la superficie del implante que gobierna los mecanismos de adhesión y proliferación celular [21].

La hidrofobicidad es la neutralidad de carga en la superficie del implante que impide su interacción con las moléculas del ambiente exterior, especialmente la molécula de agua [21]. Si el material con el que se fabrica un implante tiene una carga superficial tal que exista una polaridad superficial, entonces dicho material se denomina hidrofílico, mientras que si el material posee poca o ninguna polaridad superficial se denomina hidrofóbico. En el caso de los implantes dentales, se prefieren los materiales hidrofílicos porque reaccionan más rápidamente a las proteínas presentes en el plasma sanguíneo y porque aumentan la respuesta de las células osteoprogenitoras en la superficie del material [9]. Tanto el potencial zeta como la hidrofobicidad determinan la biocompatibilidad del material del implante, alteran el tipo de adhesión celular en su superficie y están relacionados con el grado de activación de ciertas etapas de recuperación de los tejidos como el proceso de mineralización ósea [62].

### 2.4.3. Recubrimientos Superficiales

La tensión interfacial toma mayor importancia cuando se tiene el caso de implantes con recubrimientos superficiales. La idea detrás de esta estrategia es hacer la superficie metálica, comúnmente de titanio, más favorable para las células óseas, lo que permite una mejor cicatrización en reemplazo del encapsulamiento fibroso. Sin embargo, el uso de recubrimientos superficiales es exitoso si los materiales utilizados permiten la osteoconducción y soportan las tensiones interfaciales producidas durante la carga del implante [26]. Entre los recubrimientos más comunes se tienen los fosfatos de calcio, la hidroxiapatita, los recubrimientos con flúor, los recubrimientos con factores de crecimiento como las proteínas morfogénicas de hueso (BMPs) y el factor de crecimiento transformante ( $TGF-\beta$ ), y más recientemente, los recubrimientos con integrinas para proporcionar mayor adhesión celular [60].

Aunque estos recubrimientos ayudan en la oseointegración de la interfase hueso implante, existe la posibilidad que la formación de óxido en la superficie del implante haga las veces de recubrimiento y modifique el comportamiento osteoinductivo del material [26]. Durante la inserción, los implantes dentales de titanio forman una capa de óxido de titanio que puede alcanzar un espesor entre 2 y 17 nm, y que exhibe características de biocompatibilidad, no toxicidad, osteoinducción e inercia fisiológica [26]. Sin embargo, una formación abundante de óxido de titanio puede causar efectos negativos a la formación de los tejidos y por esta razón los implantes dentales se comercializan en envases sellados al vacío de manera que el oxígeno entra en contacto con el titanio del implante solamente durante el lapso de tiempo que le tome al cirujano colocar el implante en el sitio de inserción [55, 56].

### 2.4.4. Daños en el Implante

Se ha reportado que en implantes con un tiempo de inserción menor al año, las principales causas de falla están relacionadas con 1) factores propios del paciente como las dimensiones, la cantidad y la calidad del hueso [41, 42], 2) los errores durante el procedimiento de inserción [41, 61], 3) las fallas en la selección del material, diseño y tipo de implante [4, 64], y 4) la mala distribución de las fuerzas oclusales entre el hueso y el implante [61]. Esta distribución de fuerzas debe ser tal que se conserve la integridad física del implante y se mantenga el

equilibrio homeostático de fuerzas que puede y debe soportar el hueso [18,61]. Esta carga ha de considerarse no sólo desde el punto de vista de su magnitud sino de su frecuencia gracias a la capacidad de ésta para estimular el proceso de remodelamiento óseo . Se ha establecido que las cargas mecánicas ejercidas sobre el hueso durante las actividades de la vida diaria generan frecuencias entre 10 y 100 Hz [18]. Sin embargo, en el caso del hueso alveolar, las cargas oclusales producidas durante la masticación causan frecuencias de hasta 30 Hz [6] que si bien estimulan la recuperación tisular pueden alterar la estabilidad del implante, sobre todo en los tipos de hueso mayoritariamente cortical . Las fallas en los implantes y en general, las complicaciones asociadas [5,61], motivan el uso de modelos matemáticos por computador que optimizan el diseño de los implantes dentales y permiten simular su comportamiento ante diferentes condiciones de inserción y de carga [30,31]. Sin embargo, la mayoría de estos estudios asumen un modelo de interfase hueso-implante con oseointegración completa [30], lo que restringe el análisis de la interfase al estado estacionario de remodelamiento óseo que se logra al final del primer año después de la inserción, caracterizado por presentar una insignificante resorción ósea y elevada estabilidad [4].

Con el desarrollo de formulaciones matemáticas que representan procesos biológicos como la migración y diferenciación celular y el comportamiento transitorio de moléculas y sustancias de origen biológico [32,65], los modelos matemáticos han permitido un progreso significativo en la predicción de los fenómenos biológicos y mecánicos asociados con la cicatrización de la interfase hueso-implante. Un modelo matemático validado con el resultado de observaciones experimentales que incluya parámetros asociados con el material, recubrimiento y topografía del implante, así como los aspectos biológicos, bioquímicos y mecánicos involucrados en el proceso de cicatrización del sitio de inserción [65], puede ayudar a mejorar el diseño de los implantes dentales [30,32] y a ampliar el conocimiento del proceso de formación y cicatrización de la interfase hueso-implante dental.



## CAPÍTULO 3

# MECANOBIOLOGÍA DE LA INTERFASE HUESO - IMPLANTE

## DENTAL

### 3.1. Introducción

En general, el hueso es un tipo de tejido conectivo caracterizado por su matriz extracelular mineralizada. Esta matriz está formada por fibras de colágeno, iones de calcio y fosfato, y proteoglicanos que son depositados en forma de hidroxiapatita y glicoproteínas [10]. Su composición permite que el hueso soporte cargas, brinde protección contra cargas externas a órganos sensibles como el cerebro y la médula espinal, y proporcione la reserva corporal de minerales involucrados en los procesos homeostáticos [25]. Debido al uso de estas reservas minerales y a la presencia de cargas externas, el hueso se encuentra en una constante dinámica de crecimiento, resorción y deposición [10,25]. Esta dinámica permite que luego de una lesión el hueso tenga una recuperación condicionada a la dirección de las cargas externas a las que es sometido, con lo que se alcanza su completa adaptación anatómica y funcional [25]. Al proceso de recuperación del hueso tras una lesión se le conoce como proceso de cicatrización ósea [6, 15], mientras que a la ley que gobierna la adaptación del hueso a las cargas externas se le conoce como *Ley de Wolf* [6, 25].

La cicatrización ósea es activada por cualquier lesión de la matriz mineralizada del hueso, como por ejemplo, la inserción de un implante dental [12]. Cuando esta matriz es expuesta a fluidos extracelulares, una serie de proteínas, enzimas, citoquinas y factores de crecimiento

son liberados para activar la formación del hueso [15, 16, 66]. Atraídas químicamente, las células de la médula ósea y del hueso circundante invaden el sitio de la lesión proliferando y diferenciándose en células que recuperan anatómicamente y funcionalmente los tejidos lesionados [17, 66]. Esta recuperación es estimulada y controlada por los efectos de carga causados por las cargas internas y externas, y por la interacción entre las células, los tejidos en recuperación y la superficie del implante [5, 24, 31, 35]. La suma de los factores biológicos asociados con la recuperación de los tejidos biológicos y la serie de eventos mecánicos que modulan su formación y adaptación biofísica es lo que se conoce como *mecanobiología* [29].

En este capítulo se describe el proceso biológico de formación y cicatrización de la interfase hueso-implante dental así como los diferentes estímulos mecánicos internos y externos que regulan la recuperación de los tejidos lesionados. El análisis de la mecanobiología involucrada permite obtener una abstracción simplificada de la interfase hueso-implante dental que puede ser utilizada para el planteamiento de un modelo matemático de la oseointegración del implante dental. En la siguiente sección se realiza una descripción de la secuencia de eventos biológicos y bioquímicos que permiten la formación de nuevo hueso en la interfase hueso-implante dental. Luego se introduce una novedosa clasificación de los fenómenos mecánicos presentes durante todo el período de cicatrización de la interfase y su influencia en la oseointegración del implante. Finalmente se revisan diferentes modelos matemáticos presentes en la literatura que describen algunos mecanismos de recuperación tisular propios de la cicatrización de la interfase hueso-implante dental y que junto con la realidad mecanobiológica de la interfase, permiten formular un modelo matemático simplificado de la oseointegración del implante.

### 3.2. Cicatrización de la Interfase Hueso - Implante Dental

El proceso biológico de formación de la interfase hueso-implante dental está relacionado con el proceso de cicatrización de una fractura [24]. Tras una lesión, como la producida por el procedimiento de inserción de un implante dental, la matriz ósea mineralizada se recupera siguiendo un proceso que consiste de cuatro etapas, cada una asociada a un evento biológico característico (figura 3.1) [23, 67]: 1) formación del hematoma (sangrado y coagulación), 2) degradación del coágulo y limpieza de la herida (fibrinólisis), 3) formación de tejido granular

(fibroplasia y angiogénesis), y 4) síntesis y mineralización de nuevo hueso (modelamiento y remodelamiento óseo).

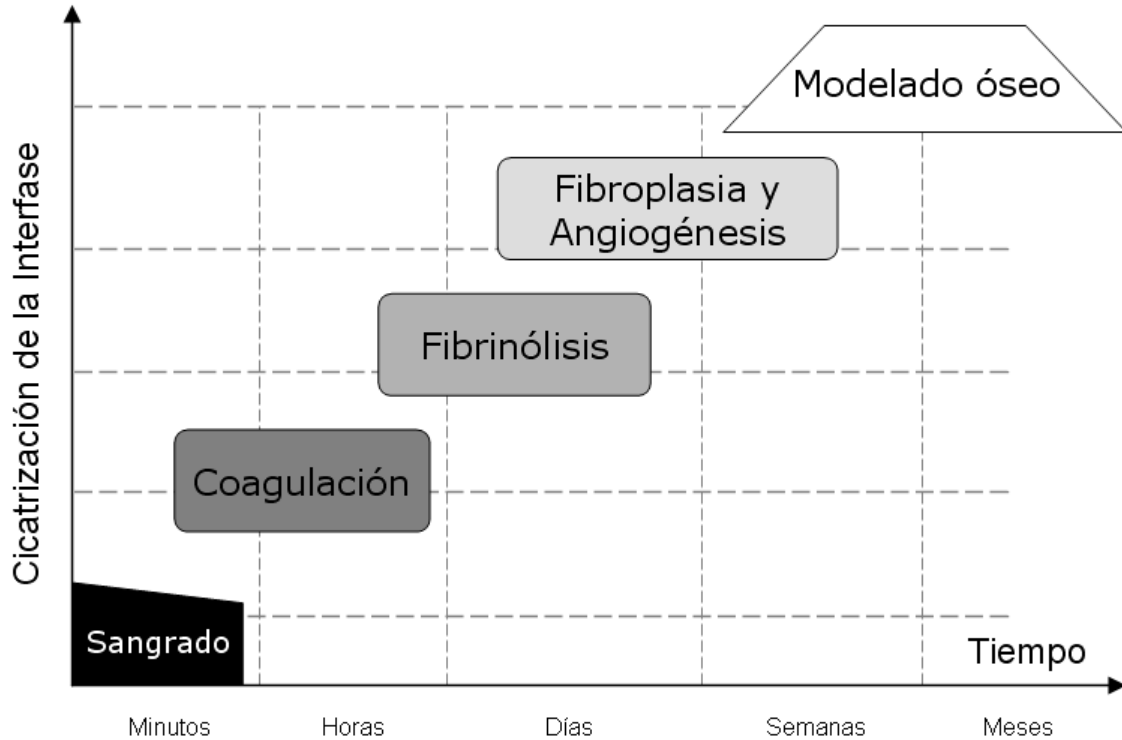


Figura 3.1: Etapas biológicas de la cicatrización en la interfase hueso - implante dental [19, 38, 39].

Durante el procedimiento quirúrgico de inserción de un implante dental es común que se presente sangrado debido a la lesión causada sobre los tejidos blandos (encía) y los tejidos duros (hueso alveolar) [55, 56]. Este sangrado es el punto de partida de la serie de eventos biológicos que concluyen con la oseointegración de la interfase hueso-implante. El sangrado y coagulación resumen la respuesta inicial a la lesión y concluyen con la formación del hematoma o *coágulo* [68]. La posterior degradación de este coágulo permite la recuperación de las estructuras vasculares y la formación de una nueva red fibrilar de tejido conectivo primario denominado *tejido granular* [15, 38]. A partir de este tejido granular comienza la migración y diferenciación de las células osteoprogenitoras que finalmente restauran la *matriz ósea mineralizada* [24]. En adelante, se explican en detalle cada uno de estos eventos biológicos.

### 3.2.1. Sangrado y Coagulación

Durante la inserción del implante, la sangre conducida por los vasos sanguíneos averiados infiltra el sitio de implantación. La sangre contiene *glóbulos rojos, leucocitos y plaquetas* [69]. Aunque los glóbulos rojos están más orientados al transporte de oxígeno, son los leucocitos y las plaquetas las encargadas de iniciar el proceso de cicatrización [24]. Los leucocitos o *glóbulos blancos* son los encargados de iniciar la respuesta inmunológica, mientras que las plaquetas se encargan de detener el flujo de sangre producido tras la lesión [24,68]. Las plaquetas contienen un amplio número de glicoproteínas (GP), un denso sistema tubular y dos tipos de gránulos: los gránulos densos y los gránulos  $\alpha$  [68]. *Los gránulos densos* contienen nucleótidos de adenosina, serotonina e histamina [24,70]. Por su parte, los gránulos contienen el factor de von Willebrand (vWF), el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento transformante (TGF- $\beta$ ), y una proteína conocida como *fibrinógeno* [70,71]. El factor vWF realiza funciones de adhesión tisular [70] mientras que el factor PDGF estimula la proliferación de células mesenquimales y actúa como agente mitogénico de células de tejido conectivo [67]. Por su parte, el fibrinógeno participa activamente en los mecanismos de adhesión celular de las plaquetas y constituye el 10% del contenido de los gránulos  $\alpha$  [72]. El fibrinógeno también está presente en la sangre y tiene un papel importante durante todo el proceso de coagulación [73].

Con el sangrado inician los eventos biológicos que culminan con la cicatrización de la herida. La primera parte de esta cicatrización comienza con la constricción de los vasos sanguíneos averiados y la formación de un tapón de plaquetas que detiene el flujo de sangre [68,70]. Normalmente, las plaquetas no se adhieren al endotelio que recubre los vasos sanguíneos. Sin embargo, cuando los vasos sanguíneos son averiados, la sangre es expuesta al ambiente subendotelial rico en colágeno y microfibrillas y las plaquetas liberadas utilizan las glicoproteínas presentes en su citoplasma para adherirse a su nuevo entorno a través de puentes de unión con el factor vWF y el fibrinógeno [70]. Se ha encontrado que en la superficie de un implante, este mecanismo de adhesión de las plaquetas es función de la microtextura en dicha superficie, lo que sugiere que los implantes con una topografía superficial rugosa presentan una mayor adhesión que los implantes con topografía superficial lisa [19,24]. Además, el contacto de la sangre con la superficie del implante crea sobre ésta última una capa de proteínas que modula el contacto de las células que arriban del tejido circundante [21]. La presencia de proteínas de

adhesión denominadas integrinas en esta capa permite que las células se unan a la superficie del implante, se desplacen sobre él, proliferen y se diferencien [21, 60].

Tras su adhesión, las plaquetas se activan liberando su contenido granular en el ambiente extracelular [15, 24], cambian de forma y extienden prolongaciones citoplasmáticas que incrementan la interacción entre ellas. Esta interacción o agregación permite que las plaquetas se acumulen rápidamente en el endotelio de los vasos sanguíneos y formen un tapón que detiene temporalmente el flujo de sangre [73]. Este tapón temporal de plaquetas es el inicio de una cascada de eventos que finaliza con la coagulación de la sangre y la formación de un tapón hemostático.

La reacción fundamental a partir de la cual se forma este nuevo tapón consiste en la conversión del fibrinógeno soluble en el plasma sanguíneo en una proteína insoluble denominada *fibrina*. Esta reacción está mediada por una serie de moléculas presentes en la sangre conocidas como *factores de coagulación* que entre sí convierten la *protombina* (factor II) en *trombina* (factor IIa) [46, 73, 74]. La trombina convierte el fibrinógeno en monómeros de fibrina que luego son ensamblados en una red de fibras insolubles [70, 71]. Estas fibras forman el *coágulo de fibrina* que detiene completamente el flujo de sangre y además protege los tejidos dejados al descubierto tras la inserción del implante [15].

Aunque la formación del coágulo o hemostasis [24] es crucial en la fase inicial de la cicatrización, su remoción es pertinente para la formación de nuevo tejido. Por lo tanto, alrededor del tercer día después de la inserción del implante [23, 75], el coágulo comienza a ser destruido por un proceso conocido como fibrinólisis [23].

### 3.2.2. Degradación del Coágulo

Para que las células que restauran los tejidos lesionados puedan migrar hacia la superficie del implante es necesario que exista una ruta para su avance a través del coágulo. Esta ruta de avance se obtiene mediante la degradación de las fibras de fibrina en los vasos sanguíneos [76]. Este proceso, conocido como fibrinólisis, se encarga de retirar el exceso de fibrina presente en las inmediaciones de los vasos sanguíneos lesionados [68] mediante la acción enzimática de la plasmina [15, 76, 77]. La plasmina es una proteína presente en el plasma sanguíneo en su forma

inactiva denominada plasminógeno. La plasmina tiene un papel importante en la reparación del tejido lesionado no sólo porque degrada la fibrina del coágulo y otras glicoproteínas de la matriz extracelular, sino porque estimula la activación en las células endoteliales de las metaloproteinasas de la matriz (MMPs) [15, 77, 78]. Las MMPs son una familia de enzimas que degradan los componentes orgánicos insolubles de la matriz extracelular, entre ellos el colágeno, y proporcionan un efecto de diferenciación de células óseas gracias a la liberación de moléculas de señalización contenidas en los residuos de la degradación [26]. La activación de las MMPs dispara una cascada de activación esencial para la migración celular, la liberación y activación de factores de crecimiento y la regeneración tisular [78].

Al tiempo que la plasmina degrada la fibrina de los vasos sanguíneos, aumenta la presencia de neutrófilos y macrófagos que se encargan de eliminar por fagocitosis el tejido necrótico y los productos de desecho en que se transforma la fibrina [23, 24]. En conjunto, estas células se encargan de la eliminación de bacterias y de la limpieza de la interfase [15]. Una vez que el tejido de desecho ha sido retirado y la interfase se ha limpiado, los neutrófilos sufren una muerte programada o apoptosis y son removidos por la acción de los macrófagos [23]. Finalmente, el hueso que fue lesionado durante el procedimiento de inserción del implante es degradado y fagocitado [79]. Las siguientes fases del proceso de cicatrización son activadas si se logra limpiar la interfase de todo desecho biológico [80]. El control de la apoptosis celular regula la respuesta celular inmune al mismo tiempo que se inicia el reclutamiento de células fibrogénicas y se estimulan la formación de nuevos capilares [75], dándose inicio a la formación del tejido granular [15].

### 3.2.3. Formación del Tejido Granular

Alrededor del cuarto día de cicatrización, un proceso conocido como *fibroplasia* reemplaza el coágulo de fibrina por una nueva matriz extracelular compuesta en gran medida por nuevos capilares, macrófagos, fibroblastos y tejido conectivo laxo [15]. Esta nueva matriz facilita la migración de las células osteoprogenitoras [23], estimuladas por los factores PDGF y TGF- $\beta$  [24] y por el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) producido por macrófagos, monocitos, células mesenquimales y osteoblastos [75]. El factor FGF proporciona un efecto mitogénico para los osteoblastos y los fibroblastos localizados en el tejido conectivo circundante [16] y promueve la formación de nuevos vasos sanguíneos [15, 67]. A medida que el proceso de

cicatrización avanza, la matriz provisional de fibrina es reemplazada por una nueva matriz rica en colágeno y fibronectina sintetizada por los fibroblastos que migran dentro de la herida [15,16].

El origen de estos fibroblastos es variado. Mientras algunos provienen del tejido conectivo circundante, otros provienen de *pericitos* del endotelio vascular de capilares y vénulas cercanas que son inducidos a migrar y proliferar en la herida especialmente por acción de los factores PDGF y TGF- $\beta$  [15,16,24,67]. Entre el 7-10 día de cicatrización, algunos de los fibroblastos en la herida se transforman en miofiblastos [16] caracterizados por tener microfilamentos citoplasmáticos de  $\alpha$ -actina de *músculo liso* que les permite generar las fuerzas contráctiles responsables de la contracción de la herida [15,16,24]. Esta contracción responde a la labor de los fibroblastos de unir los márgenes de una herida para aumentar la rapidez de la cicatrización y a la tensión causada sobre la matriz durante su migración [16]. En las etapas finales de la fibroplasia, el número de fibroblastos y miofiblastos presentes comienza a disminuir por efecto de la apoptosis celular [15].

La necesidad de restaurar la red vascular en la región afectada, y con ella, el suministro de oxígeno y alimento para los nuevos tejidos, inicia un proceso paralelo a la fibroplasia denominado *angiogénesis* [23,81]. La angiogénesis permite la formación y crecimiento de vasos sanguíneos a partir de la migración y proliferación de células endoteliales mediante un fenómeno conocido como *arteriogénesis* [81]. Este fenómeno causa la expansión o ramificación de los vasos sanguíneos existentes a partir de la formación de vasos colaterales con los que se recupera el suministro de sangre en la zona de la lesión [81,82].

Esta expansión de la red vascular comienza con la liberación de factores de crecimiento como el factor FGF, el factor TGF- $\beta$  y el factor de crecimiento vascular (VEGF), producidos principalmente por las células endoteliales y las células mesenquimales [67,81,83]. Cuando un capilar es lesionado, comienza la degradación de su membrana basal y del tejido intersticial que rodea la lesión, debido a la actividad de varias MMPs como la MMP2, MMP3, y MMP9 [84-86]. Con esta degradación, las células endoteliales comienzan su migración y proliferación hacia la zona del estímulo angiogénico haciendo uso de la matriz provisional de fibrina [15,87]. La formación del nuevo capilar comienza con el arribo de las células endoteliales a la zona de degradación, en donde, a partir del extremo del capilar lesionado, crean estructuras tubulares

o *brotos* del capilar existente que luego se dividen en *anastomosis* que terminan por invadir el área de la lesión [84]. Finalmente, el nuevo capilar es provisto de una nueva membrana basal creada mediante procesos de remodelado angiogénico [88] y de células musculares y pericitos que incrementan su soporte [87].

Los nuevos vasos sanguíneos así creados proporcionan el oxígeno y los nutrientes necesarios para el creciente número de células en el nuevo tejido [23, 82]. De hecho, el término tejido granular proviene de la apariencia roja granular de los nuevos vasos sanguíneos que invaden el tejido en cicatrización. Como en el caso de los fibroblastos, las células endoteliales que participan en la angiogénesis entran en un estado de muerte programada durante las siguientes etapas de formación de los nuevos tejidos [15, 86].

### 3.2.4. Modelado Óseo

Una vez termina el proceso de recuperación del suministro de sangre, se inicia un proceso de recambio de la matriz provisional de tejido conectivo sintetizada por las células osteoprogenitoras que culmina con la formación de nuevo hueso. Este proceso se conoce como *modelado óseo* [25]. Aunque la recuperación del tejido óseo a lo largo de la nueva estructura vascular inicia unos 21 días después de la lesión [23, 79], las células osteoprogenitoras comienzan a aparecer desde incluso el tercer día. Su aparición está asociada a la diferenciación hematopoyética de células madre [89] activada por las proteínas morfogénicas de hueso (BMPs) producidas por las células mesenquimales y los fibroblastos [67]. La posterior activación del complejo de proteínas *SMAD* encargadas de transmitir la señal de las BMPs al núcleo de estas células y la expresión en ellas del factor *Cbfa-1/Runx-2* encargado de activar el genotipo osteogénico, conduce a la diferenciación final de los *osteoblastos* [90] (figura 3.2), células encargadas de secretar los compuestos de la nueva matriz ósea y de regular su mineralización [35].

Esta matriz se compone en un 90 % de proteínas colágenas, especialmente colágeno tipo I, y en un 10 % de proteínas no colágenas [91], entre las que se encuentran la *osteocalcina*, la *osteonectina*, la *sialoproteína ósea*, y la *osteopontina*, [25, 35]. Otros productos de secreción de los osteoblastos son los *proteoglicanos I y II*, más conocidos como PG-1 y PG-2, relacionados con el crecimiento y cambio en el diámetro de las fibras de colágeno [91] y la *fosfatasa alcalina* o ALP, una molécula que promueve la formación de cristales minerales en la matriz extracelular [25, 92] y que junto con la síntesis de colágeno caracterizan el linaje osteogénico [66, 92].



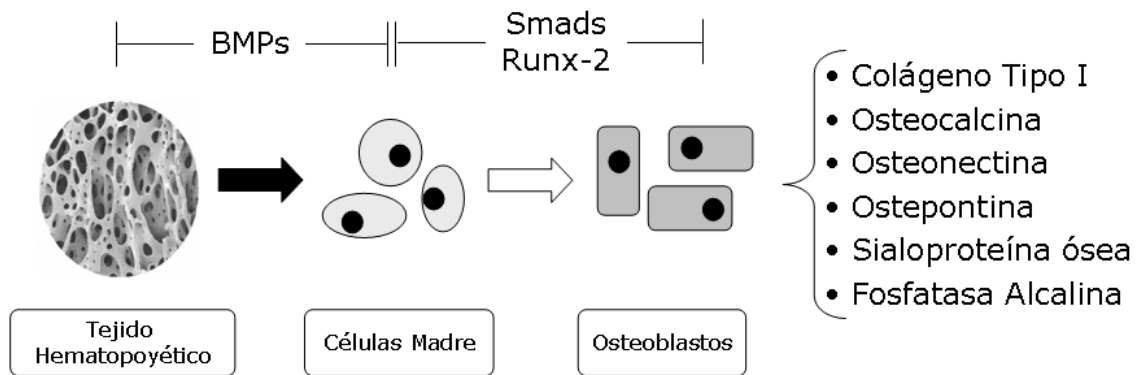


Figura 3.2: Cadena de diferenciación osteoblástica y principales moléculas involucradas. Al final, los osteoblastos maduros secretan los componentes de la matriz ósea.

Durante el proceso de diferenciación de los osteoblastos se pueden distinguir cuatro tipos de células: preosteoblastos, células de recubrimiento, osteoblastos y osteocitos [62,66,93]. Los preosteoblastos, como precursores osteoblásticos, comparten algunas características del fenotipo con los osteoblastos como la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina pero no expresan los productos de secreción de los osteoblastos maduros [62,94]. Las células de recubrimiento son más inactivas que los osteoblastos y con su forma delgada y alargada recubren la superficie del hueso [35,62]. Los osteocitos son el tipo de células óseas más abundante, aproximadamente en una relación 10 a 1 respecto a los osteoblastos. Proviene de osteoblastos maduros que quedan inmersos en la matriz extracelular mineralizada [62]. En el proceso de diferenciación, los osteocitos pierden la capacidad de sintetizar matriz ósea pero adquieren otras entre las que se destacan la homeostasis del calcio en la sangre y el control de la adaptación funcional del hueso [25,93]. Al quedar inmersos en la matriz extracelular, los osteocitos adoptan una forma estrellada con extensiones citoplasmáticas en forma de dendritas. Mediante estas extensiones, los osteocitos se conectan entre sí y con los osteoblastos que rodean el hueso en su forma de células de recubrimiento [94]. Estas conexiones crean uniones comunicantes o gap junctions [25,91] entre el citoplasma de los osteocitos y el citoplasma de los osteoblastos. La función de estas uniones es formar una red de células al interior de la matriz mineralizada que permite la conversión de los estímulos mecánicos externos en señales bioquímicas que controlan la deposición y la resorción del hueso [18,25,93].

La formación de hueso, más conocida como *osteogénesis*, comienza a partir de las estruc-

turas vasculares [23, 62]. Las células osteoprogenitoras migran y se reúnen en las cercanías de un capilar en donde comienzan a diferenciarse en osteoblastos y secretan las primeras fibras de colágeno. Estas fibras iniciales son pequeñas, tienen una distribución desordenada y dejan extensos espacios alrededor del capilar [25]. A medida que esto sucede, algunos osteoblastos se convierten en osteocitos que comienzan a secretar factores de inhibición que disminuyen la tasa de formación de hueso [95]. Cuando la deposición alcanza unos 20  $\mu$ m de altura comienza la mineralización [25]. La mineralización de esta nueva matriz conocida como *osteoides* ocurre entre 24 y 74 horas después de su formación y se caracteriza por la nucleación de cristales de fosfato cálcico y su conversión en *hidroxiapatita*, principal mineral del hueso [25, 62]. La liberación de estos primeros cristales activa una reacción en cadena que tiene como objetivo la nucleación de cada molécula de colágeno presente en el nuevo osteoide. Finalmente, procesos posteriores de deposición y aposición ósea causan el remodelado de la matriz mineralizada que convierte la matriz primaria en una matriz rígida que cumple con las condiciones fisiológicas del hueso [25]. Debido a esto, el proceso completo de osteogénesis y recuperación ósea puede tomar entre 2 y 6 meses [4, 23, 35].

En el caso de los implantes dentales, tanto la síntesis de nuevo osteoide como su mineralización están relacionadas con la topografía superficial del implante [24, 26, 59]. Los implantes dentales en su superficie deben tener la habilidad de soportar las tensiones ejercidas por las células que migran sobre la red de fibrina y colágeno y que restauran los tejidos lesionados [16, 24, 87]. Se ha identificado que esta superficie debe tener una topografía a nivel de micro y nano escala que semeje la superficie natural del hueso [19, 26, 59]. Un tratamiento superficial que cree una topografía de este tipo incrementa el área superficial de contacto entre el implante dental y los tejidos en formación e intensifica la absorción de proteínas que estimulan la activación y degranulación de las plaquetas [26, 60], la formación de la red de fibrina y la migración de las células osteoprogenitoras hacia la superficie del implante [24].

La formación del osteoide sobre la superficie del implante inicia con deposición de una *línea de cementación* que corresponde a una capa de matriz mineralizada no colágena que suaviza la superficie rugosa [19]. Esta línea de cementación se invagina, interdigita y entrelaza con la superficie del implante y activa la formación de osteoide colágeno [19]. Sobre la línea de cementación, los osteoblastos diferenciados continúan formando la nueva matriz que luego es mineralizada. Se ha encontrado que implantes con superficies lisas tienen menor capacidad de

retener el nuevo osteoide en comparación con los implantes con tratamientos superficiales [5,9], con lo cual, la línea de cementación se convierte en la frontera que asegura la oseointegración entre el biomaterial y el tejido vivo [24].

Con el modelado termina el proceso biológico de cicatrización de la interfase hueso-implante dental. Sin embargo, factores como 1) la adhesión celular, 2) la migración y proliferación de las células sobre los tejidos circundantes, y 3) la acción de las cargas internas y externas se encuentran relacionados con la respuesta mecánica de dicha interfase. En la siguiente sección se describen cada uno de estos factores y se pone en evidencia la realidad *mecanobiológica* de la interfase hueso-implante dental.

### **3.3. Actividad Mecánica en la Interfase Hueso - Implante Dental**

Desde el punto de vista biológico, la formación de la interfase hueso-implante dental incluye una serie de respuestas tisulares y celulares que permiten la recuperación de los tejidos lesionados y la formación de nuevo hueso alrededor del implante. Sin embargo, estos eventos biológicos se encuentran relacionados con fenómenos mecánicos causados por la actividad de las células y las proteínas disueltas en el entorno extracelular, y por la transmisión de cargas externas necesarias para la recuperación tisular [96]. En la interfase hueso-implante dental, estos fenómenos mecánicos pueden clasificarse de acuerdo a su naturaleza en (figura 3.3): 1) fenómenos de adhesión, 2) fenómenos de contracción, y 3) fenómenos de activación.

#### **3.3.1. Fenómenos de Adhesión**

Los fenómenos de adhesión son aquellos producidos por la fijación de las células a un sustrato [91]. Durante la cicatrización de la interfase, el sustrato puede ser la superficie del implante, los tejidos existentes o los tejidos en formación. Los fenómenos de adhesión se caracterizan por la presencia de tensiones entre el citoplasma de las células y el sustrato al cual se adhieren [97]. Esta adhesión celular se divide en dos fases: una primera fase de *acercamiento* en la que, en cuestión de minutos, las fuerzas iónicas y las fuerzas de van der Waals gobiernan la interacción físico-química entre las células y la superficie [62], y una fase de *adhesión* que dura varias horas en las que ocurre la interacción proteica entre la célula y

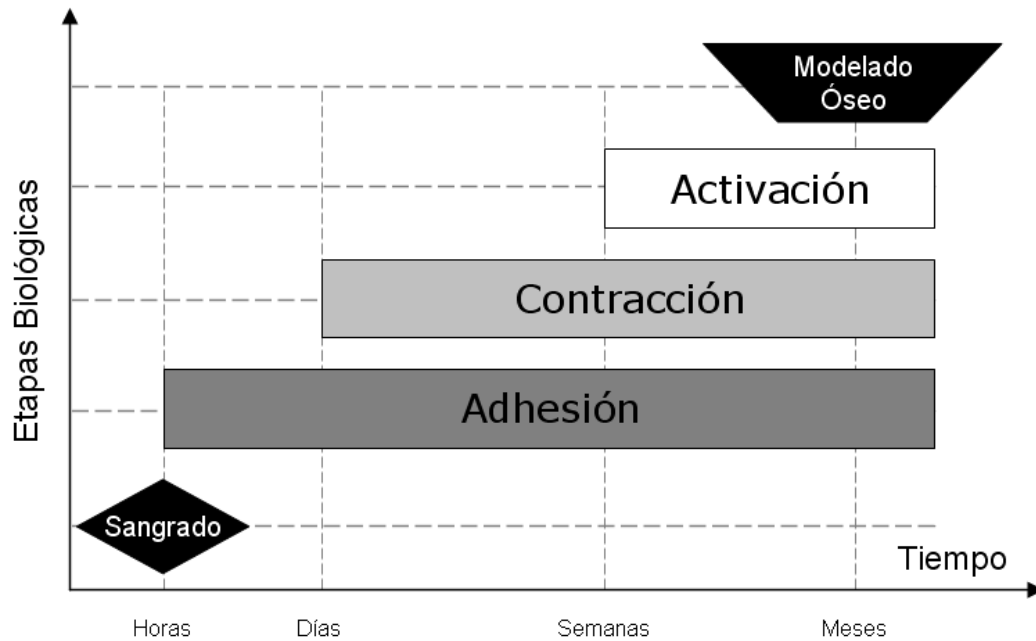


Figura 3.3: Fenómenos mecánicos que se producen durante la cicatrización de la interfase hueso-implante.

el sustrato [60,62].

El proceso de adhesión tiene lugar en sitios específicos del sustrato en los que las integrinas permiten la conexión entre el citoesqueleto de la célula y la matriz extracelular [60]. En estos sitios, denominados *contactos focales*, las integrinas se agrupan y actúan sobre las cadenas de actina presentes en el citoplasma celular logrando que la distancia entre la célula y el sustrato disminuya a unos 10-15 nm [62, 98]. Esta nueva distancia crea una tensión de adhesión con un orden de magnitud de  $10^{-12}$  N [97] que regula la capacidad de migración, proliferación y diferenciación de la célula [26].

En general, las fuerzas de tensión creadas por los fenómenos de adhesión son el primer tipo de control mecánico que existe a lo largo del proceso de cicatrización de la interfase hueso-implante. En este primer control, la acción de unión de las integrinas actúa como el primer mecanismo sensible a las cargas externas capaz de convertir un estímulo físico en una respuesta biológica, proceso conocido como *mecanotransducción* [96]. Tras la adhesión, las células comienzan a desarrollar cambios en su citoplasma, expandiéndose y aumentando el área de contacto con el sustrato [25]. Esta expansión activa la migración y proliferación

celulares que crean tensiones adicionales [98]. Estas nuevas tensiones hacen parte de la segunda clasificación de fenómenos mecánicos: los fenómenos de contracción.

### 3.3.2. Fenómenos de Contracción

La contracción es un fenómeno mecánico producido por las células al desplazarse sobre un sustrato [16]. Durante la cicatrización de la interfase hueso-implante dental, la contracción es consecuencia de la migración celular durante la fibroplasia, la angiogénesis y el modelado [15]. En la fibroplasia y modelado, los fibroblastos y células osteoprogenitoras se adhieren a la red de fibrina y comienzan a desplazarse a través de ella en un intento por colonizar la superficie del implante [19]. Durante este desplazamiento, se ejercen tensiones sobre las fibras que eventualmente pueden contraer la red y separarla del implante. Estas tensiones tienen una magnitud de aproximadamente 3 nN y están asociadas a la actividad de contracción creada por los fibroblastos al diferenciarse en mioblastos [15, 24].

Los fenómenos de contracción son producto del movimiento celular creado por gradientes de concentración en las sustancias quimiotractantes específicas para un contingente celular [99]. Cuando existe un gradiente de quimioattractante, las células activadas ejercen fuerzas de tracción que inducen la aparición de múltiples contactos focales que contraen el citoesqueleto celular de actina y que finalmente desplazan la célula [97]. Sin embargo, el movimiento celular no sólo es favorecido por estos gradientes de concentración sino por la rigidez y la topografía del sustrato sobre el cual se realiza el desplazamiento [98].

Por lo tanto, cualquier intento de migración celular sobre la red de fibrina es fallido si no existe una adecuada adhesión celular. Es decir, la adhesión celular es la condición necesaria para que exista migración celular sobre un sustrato [24, 100]. De acuerdo a la superficie del sustrato, se consideran tres tipos de adhesión: un primer tipo en el que la superficie es poco adhesiva y las células no se fijan, un segundo tipo en el que el sustrato es altamente adhesivo y las células al fijarse pierden capacidad para moverse, y un tercer tipo en el que el balance entre las fuerzas de adhesión permite la movilidad celular [101]. Si se obtiene este balance de fuerzas, debe existir un compromiso entre los fenómenos de adhesión celular y la superficie del sustrato para que los fenómenos de contracción permitan la migración celular. Recientemente, se ha utilizado el término mecanosensado para referirse al proceso mediante el cual las células tras

su adhesión al sustrato ejercen fuerzas de contracción con el objeto de explorar su entorno. Se cree que son las integrinas las encargadas de regular este mecanismo debido a su capacidad de transmitir los estímulos mecánicos desde y hacia el interior de la célula [98]. La aparición de estas fuerzas da lugar al concepto de *tensegridad celular* [102], según el cual cada célula se encuentra en equilibrio respecto a las fuerzas de contracción generadas en el citoesqueleto de actina y a las fuerzas de compresión o reacción producidas en los contactos focales con el sustrato. Este hecho explica porqué es necesario suturar una herida profunda para lograr su cicatrización [102]. Tanto la tensegridad como el mecanosensado constituyen la base de la acción mecánica en los procesos de movimiento celular y ayudan a explicar el fenómeno de la mecanotransducción.

### 3.3.3. Fenómenos de Activación

Los fenómenos mecánicos de activación son aquellos que en presencia de una carga externa inducen la actividad metabólica necesaria para producir cambios estructurales en la matriz extracelular. En general, los fenómenos de activación se llevan a cabo en la etapa final de la cicatrización de la interfase hueso-implante y constituyen la denominada *mecanotransducción ósea* [18, 25, 103]. La interacción entre el proceso biológico y las cargas externas constituye la base del concepto de la mecanotransducción y explica la adaptación funcional a las cargas que exhibe el hueso, descrita por la Ley de Wolf [6, 25, 79, 104].

La mecanotransducción ósea es el proceso mediante el cual las células de la matriz ósea sienten los estímulos mecánicos externos produciendo como respuesta una serie de señales biológicas que estimulan la producción o degradación de la matriz [6, 25]. Las células encargadas de controlar esta señalización son los osteocitos y en general, la red de interconexión generada entre ellos que proporciona la estructura celular necesaria para el sensado de los estímulos mecánicos [6, 18, 25]. Aunque los osteocitos están rodeados por la matriz ósea calcificada, la mineralización del osteoide deja un espacio sin calcificar en las cercanías del citoplasma de cada célula (*laguna*) y de las extensiones citoplasmáticas a través de las cuales se interconectan (*canalículos*). Este conjunto de estructuras conforman el denominado sincitio de los osteocitos, base del mecanismo de mecanotransducción [94]. Por medio de las conexiones adicionales que los osteocitos tienen con los capilares y mediante un mecanismo de trasudación por gradientes de presión [81], el sincitio de los osteocitos se llena de un líquido pericelular que produce una

presión hidrostática natural [25,103]. Cuando se aplica una carga externa, se crean diferencias en la presión del fluido y se obtiene un flujo neto que induce un esfuerzo [18,103]. Este esfuerzo activa en los osteocitos la producción de una serie de señales bioquímicas similares a las producidas por las células endoteliales cuando el flujo de sangre aumenta y que permiten la dilatación de los vasos sanguíneos [18]. Entre estas señales bioquímicas se encuentran las prostaglandinas y el óxido nítrico (NO) [18,25,104]. Las prostaglandinas, en particular la PGE-2, inducen la proliferación y diferenciación de osteoclastos [25], células encargadas de la degradación de la matriz ósea mineralizada, mientras que el NO estimula la proliferación osteoblástica [18,25].

En condiciones normales de carga, los osteocitos se mantienen estables debido al continuo intercambio de nutrientes y desechos. En estas condiciones, la red de osteocitos es estable y las uniones comunicantes son funcionales [25]. En presencia de una sobre-carga, el cambio en la presión del fluido estimula los osteocitos a inducir el reclutamiento de osteoblastos para producir un nuevo osteoide que recupere el equilibrio mecánico [104]. Por el contrario, cuando el estímulo de carga disminuye, por ejemplo durante largos períodos de descanso o en estados de ingravidez, los osteocitos pierden la estimulación mecánica producida por el fluido. Esto causa que la viabilidad de los osteocitos se reduzca y que entren en estado de apoptosis [25]. En este caso, la necesidad de recuperar el estímulo mecánico causa que los osteocitos induzcan el reclutamiento de osteoclastos y se produzca la resorción de hueso hasta recuperar el equilibrio en la presión del fluido [95,104] (figura 3.4). Un segundo mecanismo de resorción está relacionado con los estímulos de carga repetitivos que producen microfracturas en la matriz mineralizada [93]. Estas microfracturas pueden lesionar las interconexiones entre los osteocitos, lo que induce el reclutamiento de osteoclastos, la resorción de hueso y la posterior aposición de nuevo osteoide para eliminar el daño [25,104].

Desde el punto de vista macroestructural, el estímulo mecánico cambia el volumen de la matriz ósea y del sincitio y en consecuencia altera la presión hidrostática que produce la respuesta bioquímica mencionada. Este cambio en el volumen de la matriz está controlado por la respuesta de tipo viscoelástica que exhibe el hueso en respuesta a la carga externa [6]. De acuerdo a esto, el hueso actúa de forma viscosa ante cargas de baja magnitud y se comporta como un material elástico cuando se somete a cargas de gran magnitud [38]. Esta propiedad viscoelástica se debe a la madurez de la red de colágeno y a la mineralización de los núcleos

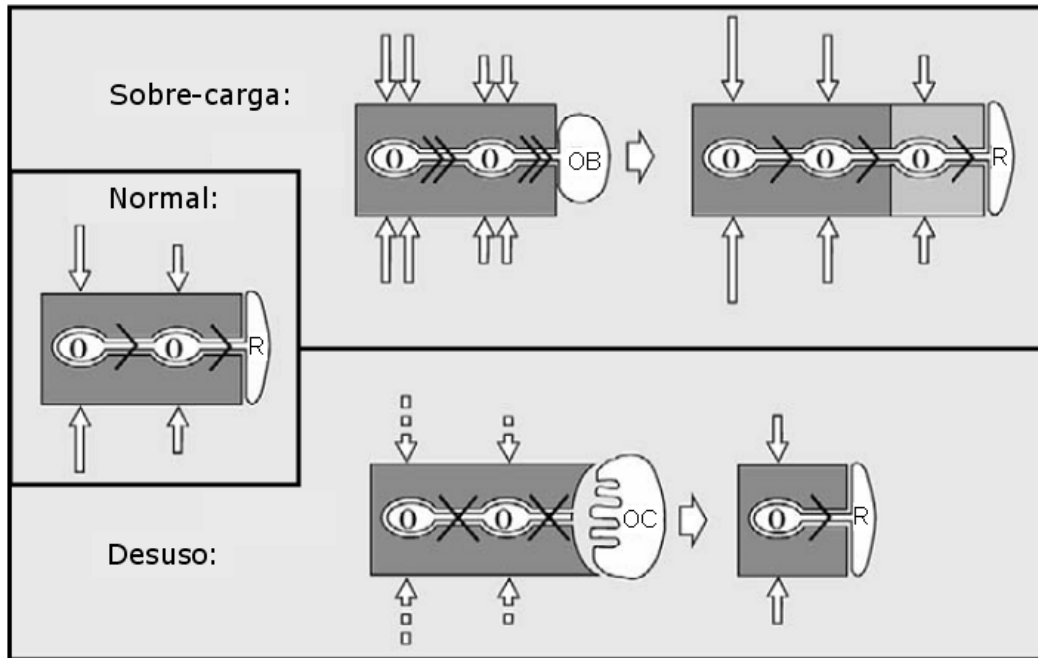


Figura 3.4: Esquema del mecanismo de mecanotransducción ósea. En condiciones normales de carga, la presión del fluido (flechas) se mantiene estable y no hay señales de activación celular. Cuando hay una sobrecarga, el aumento en la presión del fluido (flechas dobles) induce la señalización osteoblástica y la formación de nuevo osteoide que equilibra la presión. Con el desuso, la disminución en la presión (líneas cruzadas) activa la señalización osteoclástica y tras la resorción de hueso que nuevamente equilibra la presión. O: Osteocitos, OB: Osteoblastos, OC: Osteoclastos, R: Células de recubrimiento. Adaptado de [104].

de hidroxapatita [79] y explica porqué la formación de hueso depende del estímulo mecánico y es mayor cuando la carga es dinámica y menor cuando la carga es estática [6, 18].

Las cargas dinámicas se caracterizan por su frecuencia, que puede estar en el rango de 10 a 100 Hz, y porque tienen un efecto osteogénico independiente de su magnitud [18]. No obstante, los niveles de magnitud de carga regulan la aposición y resorción de hueso y definen su adaptación funcional. En el caso de la interfase hueso-implante dental, estas cargas ajustan la propiedad viscoelástica del nuevo hueso y junto con la superficie del implante aumentan sus propiedades biomecánicas [6]. Se cree que la aplicación de cargas que generan esfuerzos entre 250 y 400 psi producen un máximo crecimiento del hueso en la interfase [30], mientras que un esfuerzo mayor a los 700 psi produce la resorción patológica del hueso así como un



esfuerzo menor a 200 psi induce su atrofia [47]. Adicionalmente, la adaptación funcional de la interfase hueso-implante dental depende de la estabilidad del implante, determinada por los micromovimientos del implante que dan lugar a la formación de tejido fibroso que conduce a la pérdida de estabilidad en la interfase y ausencia de oseointegración [5, 13, 105], y por la presencia de cargas cortantes de gran magnitud [6].

La presencia continua de los estímulos mecánicos permite la consolidación del nuevo tejido óseo y la correcta cicatrización de la interfase hueso-implante dental. Este balance entre estímulo mecánico y proceso biológico es la realidad anatómica y funcional que sustenta la idea de la mecanobiología como una ciencia que estudia la acción biológica del estímulo mecánico y cómo este condiciona la arquitectura de los tejidos [29]. Aunque gran parte del conocimiento que se tiene sobre el tema proviene de trabajos experimentales, en los últimos años se han obtenido resultados cuantitativos a partir del desarrollo de modelos matemáticos computacionales que analizan numéricamente los procesos biológicos y los fenómenos mecánicos. Un adecuado balance entre la mecanobiología experimental y la computacional permite una mayor interpretación de los resultados experimentales y una mejor provisión de datos para los modelos matemáticos [29]. En la siguiente sección se mencionan algunos modelos matemáticos útiles para formular un modelo que contribuya a ampliar el conocimiento de la interfase hueso-implante dental y su oseointegración.

### 3.4. Modelado Matemático

Aunque en la interfase hueso-implante dental confluyen tanto factores biológicos como mecánicos, la mayoría de los modelos matemáticos reportados consideran únicamente los factores mecánicos y obtienen conclusiones sobre la viabilidad a largo plazo de los implantes, la distribución de carga con el hueso y el comportamiento mecánico de los materiales con los que son fabricados [30, 31]. En estos modelos la formación de la interfase hueso-implante es despreciada y se parte del supuesto que los implantes son estables y están completamente oseointegrados [30]. Existen además algunos modelos que intentan acercarse al fenómeno biológico de cicatrización de la interfase, describiendo la formación de tejido fibroso como consecuencia de variables mecánicas [106] o a partir del comportamiento fenomenológico de la mecánica involucrada [107]. Modelos con enfoque biológico formulan sus descripciones a partir

de cambios de fase en la interfase [32] y como variaciones en las concentraciones celulares y densidades de matriz [33, 65]. En ellos, las ecuaciones utilizadas incluyen términos específicos para describir procesos celulares de mitosis, proliferación, diferenciación y apoptosis, así como eventos naturales de formación, transformación y degradación de matriz [33, 65, 108].

Aunque no se conoce un modelo mecanobiológico del proceso de formación y cicatrización de la interfase hueso-implante dental, varios autores han reportado éxito en la formulación de modelos matemáticos que, incluyendo los factores biológicos y mecánicos asociados, describen algunas de las etapas de la formación de dicha interfase. Este es el caso de modelos de adhesión y proliferación celular [98, 101], modelos de coagulación [109–111], modelos de angiogénesis y contracción celular [87, 112, 113], y modelos de formación ósea [33, 107, 114]. A partir de la realidad biológica y mecánica del proceso de formación y cicatrización de la interfase hueso-implante dental y de los resultados aportados por los modelos matemáticos mencionados, se pueden tener en cuenta las siguientes características en la formulación de un modelo mecanobiológico completo de la interfase hueso-implante dental:

1. Las etapas biológicas de cicatrización de la interfase se pueden entender como eventos secuenciales en una escala de tiempo dividida en minutos, horas, días, semanas y meses [15, 32, 75].
2. La etapa de sangrado se simplifica como la formación del coágulo de fibrina producto de la actividad combinada de la trombina y el fibrinógeno [15, 70].
3. La etapa de fibrinólisis puede considerarse como un término de degradación natural del coágulo, mientras que la fibroplasia y la angiogénesis pueden simplificarse en un único evento que conduce en la síntesis de una nueva matriz de colágeno [16].
4. La formación y recambio de esta matriz de colágeno por el nuevo osteoide está asociado a la presencia de una determinada concentración de células osteogénicas y a la presencia de una sustancia quimioattractante que controle la migración y proliferación celular [24, 33, 39].
5. La adecuada formación de hueso alrededor del implante depende de su topografía y de la creación de la línea de cementación [19, 21].

6. Los fenómenos mecánicos de adhesión pueden despreciarse considerando que la diferenciación celular y la formación de los tejidos son una consecuencia directa de la adhesión celular [19].
7. Los factores mecánicos de contracción y activación son similares a nivel macro estructural y pueden simplificarse como el comportamiento viscoelástico que exhibe la matriz de fibrina [115] y el nuevo osteoide [6, 38].
8. Los efectos de carga en el implante son despreciables si se considera una cicatrización inicial recomendada de 3 a 6 meses [4].

Estas características y el aporte de la revisión teórica presentada en las secciones anteriores permiten formular un modelo preliminar del proceso de formación y cicatrización de la interfase hueso-implante dental (figura 3.5).

Este modelo simplifica el proceso biológico de cicatrización como una secuencia de etapas cada una asociado a un conjunto de eventos. De esta manera, la etapa de sangrado y coagulación se simplifica como la formación del coágulo de fibrina por acción de la reacción de conversión de la trombina y el fibrinógeno. Durante la fibroplasia inicia la migración de células osteoprogenitoras por acción de una sustancia quimioattractante a la vez que el coágulo de fibrina es degradado por la plasmina. La formación de una nueva matriz de colágeno por parte de las células osteoprogenitoras simplifica la fibroplasia y la angiogénesis en una única etapa denominada tejido granular [15]. El desplazamiento de las células osteoprogenitoras sobre esta matriz causa su contracción, condicionada a una respuesta mecánica de tipo viscoelástica controlada por las propiedades del colágeno. Esta contracción constituye la interacción que en el modelo se hace entre el proceso biológico y los fenómenos mecánicos. Finalmente, la síntesis de nuevo osteoide, condicionada a la topografía del implante y la adecuada formación de la línea de cementación, deriva en la oseointegración inicial del implante.

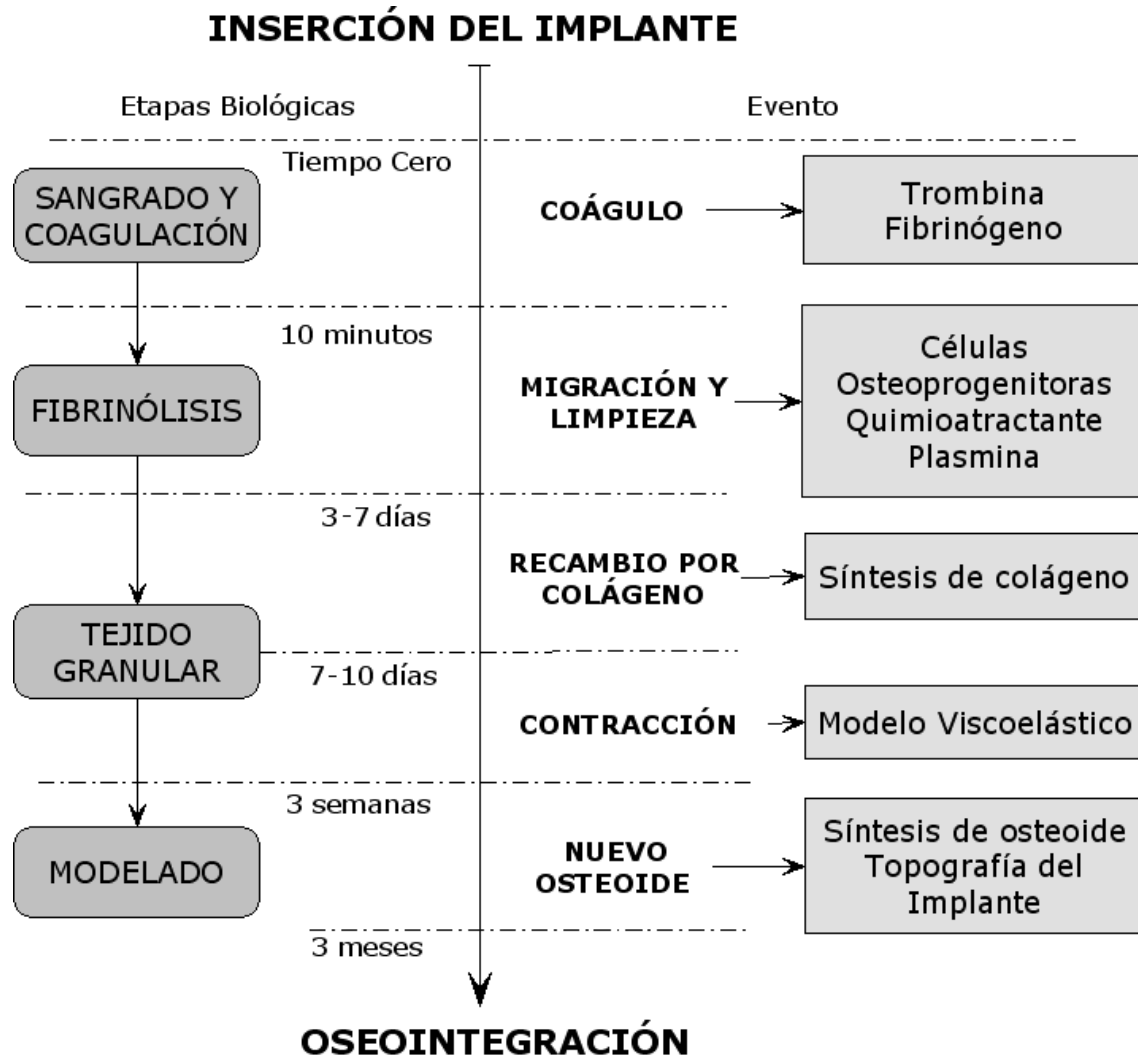


Figura 3.5: Esquema de un modelo preliminar de la oseointegración de implantes dentales. A la izquierda se muestra la secuencia de etapas biológicas y a la derecha los eventos que suceden en cada etapa. Los recuadros resumen los elementos más importantes de cada evento y constituyen las simplificación hechas a la compleja cadena de fenómenos biológicos y mecánicos presentados en las secciones anteriores y que conducen a la oseointegración de un implante dental.

## CAPÍTULO 4

# IMPLEMENTACIÓN DE MODELOS BIOLÓGICOS DE REACCIÓN-DIFUSIÓN MEDIANTE EL MÉTODO DE LOS ELEMENTOS FINITOS

### 4.1. Introducción

El modelado matemático de problemas de biología del desarrollo ha permitido la formulación de modelos en cuya solución se encuentra la formación de patrones espacio-temporales [116]. Estos modelos pueden clasificarse como modelos de patrones químicos y modelos de patrones de movimiento celular. A su vez, en la categoría de los modelos de patrones químicos existen dos tipos de modelos: modelos de gradiente y modelos de reacción-difusión [117].

Los modelos de gradiente son aquellos que generan patrones a partir de sustancias químicas que experimentan diferencias de concentración y que durante su evolución temporal tienden a un estado uniforme en el espacio y en el tiempo [117]. Por su parte, en los modelos de reacción-difusión, las interacciones químicas generan patrones complejos en el espacio y/o el tiempo, debido a que se encuentran términos de transporte, síntesis y degradación que dependen de todas las sustancias químicas presentes en el dominio de análisis [117, 118]. Por el contrario, los modelos de movimiento celular involucran la formación de patrones debido a cambios de densidad celular debido a procesos de agregación o repulsión entre las células, o por respuesta a sustancias químicas concretas [118].

En general, existen dos tipos de soluciones de estos modelos matemáticos: los patrones espacio-temporales y las ondas viajeras [117, 118]. En 1952 Alan Turing [119] demostró que un modelo de reacción-difusión con los parámetros apropiados y definido por un dominio espacial cerrado y extenso, evoluciona en un patrón espacial heterogéneo debido a pequeñas perturbaciones de las concentraciones químicas, fenómeno conocido como inestabilidad por difusión [117, 118, 120]. Estas *inestabilidades de Turing*, a su vez, se caracterizan por presentar un estado temporal estable a medida que evoluciona en el tiempo, y por la formación de patrones inestables en el espacio, adecuados para describir problemas de morfogénesis [117, 118, 121, 122]. Por su parte, la solución de onda viajera representa, desde el punto de vista físico, procesos de transición de un equilibrio a otro que se adaptan a las propiedades del medio y generan un patrón de onda que se desplaza desde las condiciones iniciales [123].

Estas soluciones han sido estudiadas en la biología del desarrollo debido a que permiten cuantificar la evolución de las distintas variables implicadas en el proceso de formación y crecimiento de los diversos tejidos, y porque es posible asociar la formación de patrones espacio-temporales y ondas viajeras a los fenómenos biológicos de desarrollo tisular [117, 118, 124]. Teniendo en cuenta la descripción general de los diferentes tipos de modelos biológicos, en este capítulo se consideran dos modelos químicos formulados a partir de ecuaciones de reacción-difusión cuya respuesta presenta inestabilidades de Turing, y un modelo en cuya solución la onda viajera describe un proceso de movimiento celular. El objetivo es presentar una implementación numérica de estos modelos utilizando el método de los elementos finitos y comparar las soluciones con los resultados reportados por otros autores [116–118, 125, 126]. En la siguiente sección se hace una breve explicación de las ecuaciones de reacción-difusión y luego se presentan los modelos biológicos utilizados. Posteriormente se introduce el método de los elementos finitos mediante el cual estos modelos fueron implementados. Finalmente, se presentan los resultados obtenidos y se hace una discusión de sus características más relevantes.

## 4.2. Ecuaciones de Reacción-Difusión

Un problema de difusión modela el movimiento de una densidad de individuos de una especie (bacterias, células, químicos) en un entorno cualquiera [116, 117, 121]. El movimiento de  $u(t, x)$ , o término difusivo, indica los cambios en la concentración desde puntos de mayor

concentración hacia puntos de menor concentración [125–127]. Este principio es conocido como *Ley de Fick* y se expresa de la siguiente forma (4.1) [125]:

$$\mathbf{J}(t, \mathbf{x}) = -D\nabla u(t, \mathbf{x}) \quad (4.1)$$

donde  $\mathbf{J}$  es el vector de flujo de  $u(t, \mathbf{x})$ , y  $D$  es el *coeficiente de difusión*.

A su vez, la reacción entre dos o más sustancias establecen un término reactivo adicional en la función de concentración  $u(t, x)$  denotado por  $f(t, x, u)$ . De acuerdo al principio de conservación, la razón de cambio de la cantidad de materia contenida en un volumen  $V$  debe ser igual al flujo neto de materia a través de la superficie  $S$  que la delimita, más la cantidad de materia transformada al interior de  $V$  debido al término reactivo. Esto expresado matemáticamente es (4.2):

$$\frac{\partial}{\partial t} \int_V u(t, \mathbf{x}) dV = - \int_S (\mathbf{J} \cdot \bar{\mathbf{n}}) dS + \int_V f dV \quad (4.2)$$

En (4.2)  $\bar{\mathbf{n}}$  es el vector normal a la superficie  $S$ . Utilizando el teorema de la divergencia en el término difusivo y combinando 4.1 y 4.2 se obtiene (4.3):

$$\frac{\partial}{\partial t} \int_V u(t, \mathbf{x}) dV = \int_V \nabla \cdot (D\nabla u(t, \mathbf{x})) dV + \int_V f dV \quad (4.3)$$

La ecuación (4.3) corresponde a una ecuación integral definida en el dominio  $\Omega = V$  con condiciones de contorno definidas por la superficie  $\Gamma = S$  que rodea al volumen  $V$ . Para garantizar que el patrón espacial formado se deba únicamente a la organización al interior del contorno, y no a flujos externos, se deben asumir condiciones de flujo en el contorno iguales a cero [120]. Expresando (4.3) en forma diferencial se obtiene (4.4) [117]:

$$\underbrace{\frac{\partial u(t, \mathbf{x})}{\partial t}}_{\text{Tasa de Cambio}} = \underbrace{\nabla \cdot (D \nabla u(t, \mathbf{x}))}_{\text{Término Difusivo}} + \underbrace{f(t, \mathbf{x})}_{\text{Término Reactivo}} \quad (4.4)$$

La ecuación (4.4) se conoce como ecuación de reacción-difusión y permite, junto con las condiciones de contorno dadas, predecir la evolución de los individuos de la especie denotada por  $u(t, \mathbf{x})$ . Aunque el análisis anterior es válido para un sistema de una única especie de individuos, el resultado puede extenderse a un sistema de varias especies de individuos denotando  $u(t, \mathbf{x})$  como  $\mathbf{u}(t, \mathbf{x})$  [117, 120, 125].

### 4.3. Modelos Implementados

Existen diferentes modelos que permiten obtener una descripción matemática de fenómenos complejos presentes en la naturaleza [116, 118, 124–126]. Dos modelos bien referenciados, formulados por ecuaciones de reacción difusión, son el modelo de Schnakenberg, o modelo de morfogénesis [116, 117, 125, 126], y el modelo de glucólisis [117, 122, 125], utilizado para explicar la síntesis de glucosa en energía celular. Estos dos modelos generan patrones espaciales y cumplen con los criterios de estabilidad de Turing analizados en [122]. Un tercer modelo típicamente utilizado para ilustrar el movimiento celular consecuencia de la interacción química con el entorno es el modelo de quimiotaxis [121, 125]. Este modelo tiene como solución una onda viajera.

#### 4.3.1. Modelo de Schnakenberg

El modelo de Schnakenberg determina el comportamiento de un químico activador  $u$  en presencia de un químico inhibidor  $v$  [116, 117]. En su forma adimensional, el modelo está descrito por las siguientes ecuaciones (4.5) [117]:

$$\underbrace{\frac{\partial u}{\partial t}}_1 = \gamma \left( \underbrace{a}_2 - \underbrace{u}_3 + \underbrace{u^2 v}_4 \right) + \underbrace{\nabla^2 u}_5 \quad (4.5a)$$

$$\underbrace{\frac{\partial v}{\partial t}}_1 = \gamma \left( \underbrace{b}_2 - \underbrace{u^2 v}_4 \right) + \underbrace{d \nabla^2 v}_5 \quad (4.5b)$$



En la ecuación 4.5 el término 1 representa flujo, 2 representa producción, 3 representa consumo, 4 representa catálisis no lineal, y 5 representa difusión. Las constantes  $a$ ,  $b$ ,  $d$  y  $\gamma$  son todos parámetros positivos, con  $a$  y  $b$  valores adimensionales de producción,  $\gamma$  una constante adimensional y  $d$  una constante de difusión [117, 125]. La reacción cinética es tal que en la ecuación (4.5a) el término 4 representa la producción de  $u$  en presencia de  $v$ , en tanto que en la ecuación (4.5b) el mismo término representa el consumo de  $v$  en presencia de  $u$ . El modelo se utiliza como base matemática para análisis de estabilidad y formación de patrones [117, 122], en la predicción de la interacción entre sistemas químicos moleculares [117, 126] y en la morfogénesis de formación y crecimiento de hueso [117, 128].

### 4.3.2. Modelo de Glucólisis

La glucólisis o glicólisis es el proceso de síntesis de la molécula de glucosa para proporcionar energía al metabolismo celular. A través de una secuencia de reacciones, la glucosa es transformada en piruvato y en ATP, unidad de intercambio metabólico en el organismo vivo [125]. Este proceso se describe matemáticamente en forma adimensional mediante las siguientes ecuaciones (4.6) [117, 125]:

$$\underbrace{\frac{\partial u}{\partial t}}_1 = \underbrace{D_u \nabla^2 u}_2 + \underbrace{\delta}_3 - \underbrace{ku}_4 - \underbrace{u^2 v}_5 \quad (4.6a)$$

$$\underbrace{\frac{\partial v}{\partial t}}_1 = \underbrace{D_v \nabla^2 v}_2 + \underbrace{ku}_3 + \underbrace{uv^2}_6 - \underbrace{v}_7 \quad (4.6b)$$

En la ecuación (4.6) el término 1 representa flujo, 2 representa difusión, 3 representa producción, 4 representa degradación, 5 representa consumo no lineal, 6 representa activación no lineal, y 7 representa consumo. La interpretación biológica es similar al modelo de Schnakenberg, con  $u$  la concentración de glucosa,  $v$  la producción de piruvato,  $D_u$  y  $D_v$  los coeficientes de difusión, el término  $u^2 v$  representando consumo no lineal de  $u$  y el término  $uv^2$  representando la activación no lineal de  $v$ .  $\delta$  es un parámetro positivo que representa la constante de formación de glucosa. El parámetro  $k$ , también positivo, representa en (4.6a) el consumo

natural de glucosa, mientras que en (4.6b) representa la producción, en la misma proporción, de piruvato. Este modelo representa la heterogeneidad de un tejido para la transformación de glucosa en piruvato simulando la realidad del fenómeno.

### 4.3.3. Modelo de Quimiotaxis

La quimiotaxis es el fenómeno de migración celular en el cual las células dirigen su movimiento conforme a gradientes de concentración de ciertos químicos presentes en el entorno celular denominados quimioattractantes [121, 125]. Un modelo de este fenómeno describe el movimiento celular como una onda viajera controlada por la concentración del quimioattractante [125]. Como este movimiento celular puede ocurrir conjuntamente con procesos de división mitótica y pérdida celular, el modelo completo es descrito por las siguientes ecuaciones (4.7) [125]:

$$\underbrace{\frac{\partial n}{\partial t}}_1 = \nabla \cdot \left[ \underbrace{D_n \nabla n}_2 - \underbrace{n \alpha \nabla u}_3 \right] + \underbrace{r f(u) n \left[ 1 - \frac{n}{n_o} \right]}_4 - \underbrace{\delta_n n}_6 \quad (4.7a)$$

$$\underbrace{\frac{\partial u}{\partial t}}_1 = \underbrace{D_u \nabla^2 u}_2 + \underbrace{g(n)}_5 - \underbrace{\delta_u}_6 \quad (4.7b)$$

En (4.7),  $n$  es la densidad celular,  $u$  es la concentración de quimioattractante,  $D_u$  y  $D_v$  son los coeficientes de difusión,  $\alpha$  es la sensibilidad al quimioattractante,  $\delta_n$  es la tasa de degradación natural celular,  $\delta_u$  es la tasa de degradación química celular y  $g(n)$  es una función de la producción de quimioattractante por parte de las células. El término 1 representa flujo, 2 representa difusión, 3 representa quimiotaxis, 4 representa mitosis celular, 5 representa producción dependiente, y 6 representa degradación. En la siguiente sección se presenta la técnica de solución numérica utilizada para implementar los modelos anteriores mediante el método de los elementos finitos.

## 4.4. Método de los Elementos Finitos

El empleo del método de los elementos finitos permite transformar el sistema de ecuaciones diferenciales parciales que conforma cada modelo presentado en un sistema de ecuaciones

diferenciales ordinarias respecto del tiempo [117, 129, 130]. El método que se presenta a continuación se implementa mediante una rutina de usuario programada de forma particular para cada modelo, cuyo fundamento matemático se encuentra en el *método de ponderación de los residuos* [131–133]. Una explicación más detallada del método puede encontrarse en el Apéndice A. El hardware utilizado es un PC de escritorio con procesador AMD Athlon 64 de 2.4 GHz y 1 GB de memoria RAM.

Sea un dominio  $\Omega$  dividido en cierto número  $NE$  de elementos, cada uno definido como un subdominio  $\Omega^e$  de  $\Omega$ . Para cada  $\Omega^e$  existe un *residuo*  $R^e$  o error entre la solución numérica local y la solución exacta. Si se toma la suma de los residuos locales, es posible obtener un residuo global  $R^g$  y una solución global del problema definido en el dominio  $\Omega$ . Para el caso unidimensional de la ecuación de reacción difusión expresada en (4.4), se quiere que el error en el dominio  $\Omega$  cumpla con la relación (4.8) [131]:

$$\int_{\Omega} R^g w . dx = 0 \quad (4.8)$$

donde  $R^g$  es el residuo en  $\Omega$  definido como (4.9):

$$R^g = \frac{\partial u}{\partial t} - D \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} - f \quad (4.9)$$

En (4.9)  $u:=u(t,x)$ ,  $f:=f(t,x,u)$  y  $w$  es una *función de ponderación*. A partir de esta formulación se obtiene la forma residual ponderada de la ecuación (4.4) dada por (4.10) [125, 133]:

$$\int_{\Omega} \left( \frac{\partial u}{\partial t} - D \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} - f \right) w . dx = 0 \quad (4.10)$$

Resolviendo la integral para cada uno de los términos, haciendo integración por partes en el segundo término, y teniendo en cuenta condiciones de contorno nulas, se obtiene (4.11):

$$\int_{\Omega} \frac{\partial u}{\partial t} w dx + \int_{\Omega} \frac{\partial u}{\partial x} \frac{\partial w}{\partial x} dx - \int_{\Omega} f w dx = 0 \quad (4.11)$$

donde  $\Gamma$  es el contorno del dominio  $\Omega$ . La evaluación de (4.11) en cada subdominio  $\Omega^e$  o elemento da lugar a la expresión (4.12):

$$\int_{\Omega^e} \frac{\partial u}{\partial t} w dx + \int_{\Omega^e} \frac{\partial u}{\partial x} \frac{\partial w}{\partial x} dx - \int_{\Omega^e} f w dx = 0 \quad (4.12)$$

Si  $u_1$  y  $u_2$  son los valores de  $u(t,x)$  en los nodos 1 y 2 de un elemento cualquiera, la variación lineal o interpolación entre estos dos valores a lo largo de dicho elemento está dada por (4.13) [133]:

$$u(\xi) = [N_1 \ N_2] \cdot \begin{bmatrix} u_1 \\ u_2 \end{bmatrix} \quad (4.13)$$

En (4.13)  $N_1$  y  $N_2$  son las funciones de interpolación definidas para cada elemento que constituyen la base para la construcción de una solución continua, también conocidas como *funciones de forma* [132,133]. Estas funciones están definidas en el intervalo  $-1 \leq \xi \leq 1$  con  $\xi$  una variable de normalización. Esto garantiza que las funciones de forma sean independientes de las coordenadas nodales de cada elemento, lo que permite su extensión a todos los elementos del dominio  $\Omega$  [131]. Definiendo la variable  $x$  como una interpolación de los valores nodales de  $x$  para un elemento con nodos en las coordenadas  $x_1$  y  $x_2$  se obtiene (4.14) [133]:

$$u(\xi) = [N_1 \ N_2] \cdot \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \end{bmatrix} \quad (4.14)$$

Utilizando el método de Bubnov-Galerkin, más conocido como *método de Galerkin*, según el cual las funciones de ponderación son iguales a las funciones de forma [131–133], cambiando

el espacio de integración de la variable  $x$  a la variable  $\xi$  mediante el *jacobiano* ( $J$ ) de la *transformación* y ajustando la notación vectorial, la expresión (4.12) puede reescribirse como (4.15):

$$\begin{aligned}
 & \left( \int_{-1}^1 \left( \frac{1}{\Delta t} \begin{bmatrix} N_1 \\ N_2 \end{bmatrix} \cdot [N_1 \ N_2] \cdot \frac{1}{J} \right) d\xi \right) \cdot \begin{bmatrix} u_1 \\ u_2 \end{bmatrix} \\
 + & \left( \int_{-1}^1 \left( D \begin{bmatrix} \frac{\partial N_1}{\partial \xi} \\ \frac{\partial N_2}{\partial \xi} \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} \frac{\partial N_1}{\partial \xi} & \frac{\partial N_2}{\partial \xi} \end{bmatrix} \cdot \frac{1}{J} \right) d\xi \right) \cdot \begin{bmatrix} u_1 \\ u_2 \end{bmatrix} \\
 - & \left( \int_{-1}^1 \left( f(t, x(\xi), u(t, x(\xi))) \begin{bmatrix} N_1 \\ N_2 \end{bmatrix} \cdot \frac{1}{J} \right) d\xi \right) = 0
 \end{aligned} \tag{4.15}$$

En (4.15) la función  $f$  es el término reactivo de la expresión (4.4). La expresión (4.15) puede reducirse a un sistema matricial de tipo elemental expresado como (4.16) [129, 130, 133]:

$$k \cdot u = f \tag{4.16}$$

La expresión (4.16) corresponde a la discretización algebraica en el dominio  $\Omega^e$  de un elemento, con  $k$  la *matriz de rigidez elemental*,  $u$  las incógnitas y  $f$  el término independiente. Ensamblando el resultado de (4.15) para el total  $NE$  de elementos en  $\Omega$  [131, 133] se obtiene un sistema matricial general definido como (4.17) [129, 130, 133]:

$$\mathbf{K} \cdot \mathbf{U} = \mathbf{F} \tag{4.17}$$

En (4.17)  $K$  es la matriz global de rigidez,  $U$  es el vector de incógnitas y  $F$  es el vector global de entradas. Este método matemático es aplicable a problemas de mayor dimensión. Una formulación para problemas bidimensionales y tridimensionales puede encontrarse en [117, 129, 131].

## 4.5. Resultados

### 4.5.1. Modelo de Schnakenberg

Los resultados para el modelo descrito por las ecuaciones (4.5) en el dominio unidimensional  $[0,1]$  se muestran en las figuras 4.5.1 y 4.5.1. En la implementación se usaron los siguientes parámetros:  $a=0.1$ ,  $b=0.9$ ,  $d=10$ ,  $\gamma = 789$ . Las condiciones de flujo en el contorno se consideran iguales a cero (flujo nulo). Se realizan 1.000 iteraciones, con un paso de tiempo  $\Delta t = 0,005$ , se utilizan 300 elementos cuadráticos lagrangianos y 601 nodos. Las flechas en las figuras señalan la dirección hacia la cual evoluciona la respuesta hasta alcanzar el estado espacial estable. La condición inicial corresponde a una perturbación del 5% alrededor del estado temporal estable.

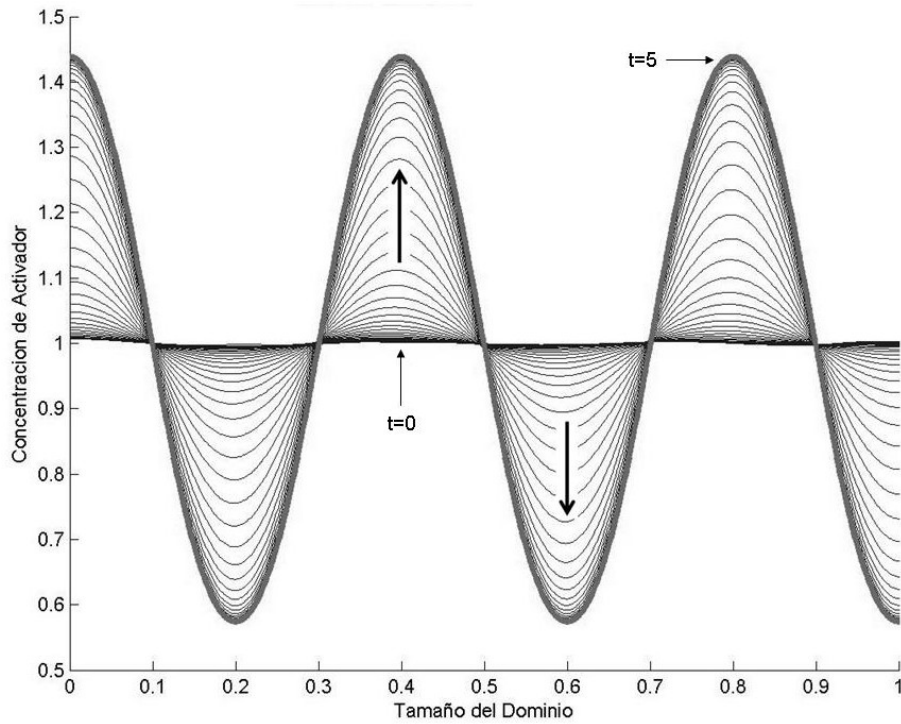


Figura 4.1: Modelo de Schnakenberg 1D. Concentración de químico activador.

Una implementación adicional en el dominio bidimensional  $[0, 1]$  permite obtener la formación de patrones espacio-temporales mostrada en la figura 4.3. Los parámetros usados son:  $a=0.1$ ,  $b=0.9$ ,  $d=9.1676$ ,  $\gamma=176.72$ . Se realizaron 100 iteraciones con un paso de tiempo

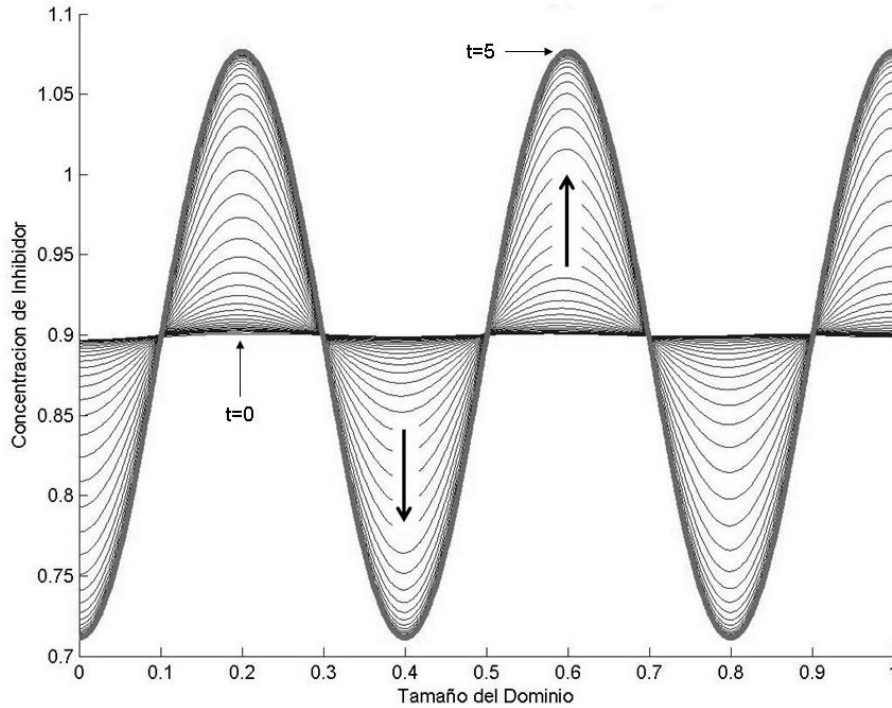


Figura 4.2: Modelo de Schnakenberg 1D. Concentración de químico inhibidor.

$\Delta t=0.05$ . Se utilizaron 625 elementos cuadriláteros bilineales [16]. Las condiciones de flujo en el contorno se consideran iguales a cero. Los resultados muestran la evolución temporal de la formación del patrón espacial del químico activador. En la figura 4.3, a) es la condición inicial, dada por un nivel de perturbación del 5% alrededor del estado temporal estable, b) respuesta en  $t=1$ , c) respuesta en  $t=2$ , y d) respuesta en  $t=5$ .

Los resultados muestran el patrón inestable espacial del modelo. Además, la respuesta del modelo en el caso unidimensional muestra el desfase de  $180^\circ$  del químico activador respecto al inhibidor, lo que indica la acción de éste último sobre la producción del primero. En el caso bidimensional se presenta el mismo tipo de solución desfasada, pero por simplicidad, no se muestra la solución del modelo para la ecuación del químico inhibidor. Adicionalmente, el modelo permite confirmar que pequeñas perturbaciones son determinantes en la formación de patrones espaciales [1, 2, 6, 9]. Los resultados mostrados están en completa concordancia con los resultados reportados utilizando para la implementación otros métodos numéricos [1, 2, 8].

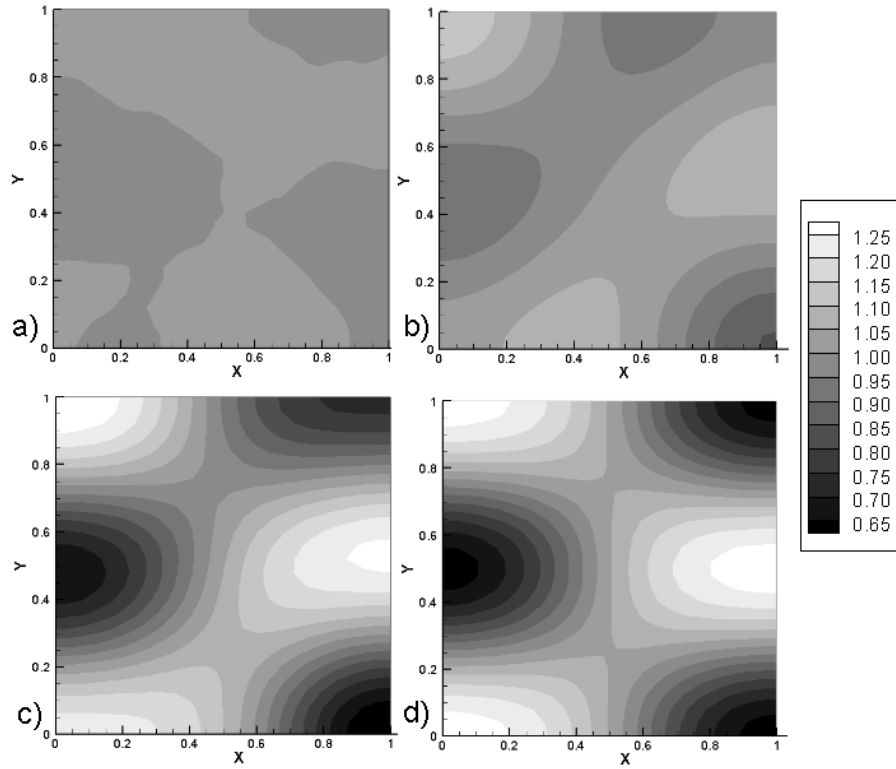


Figura 4.3: Modelo de Schnakenberg 2D. Concentración de químico activador.

#### 4.5.2. Modelo de Glucólisis

El modelo descrito por las ecuaciones (4.6) fue solucionado en el dominio bidimensional  $[0, \pi] \times [0, \pi]$  utilizando los siguientes parámetros:  $D_u=1.0$ ,  $D_v=0.0518$ ,  $\delta=1.75$ ,  $k=0.05$ . Se realizaron 25.000 iteraciones con un paso de tiempo  $\Delta t=0.1$ . Se utilizaron 2.500 elementos cuadriláteros bilineales. Las condiciones de flujo en el contorno se consideran iguales a cero. Las figuras 4.4 y 4.5 muestran el resultado obtenido para la concentración de glucosa (químico activador) y la concentración de piruvato (químico inhibidor) donde a) es la condición inicial, dada por un nivel de perturbación del 5% alrededor del estado temporal estable, b) respuesta en  $t=750$ , c) respuesta en  $t=1.500$ , y d) respuesta en  $t=2.500$ .

Se observa el patrón inestable espacial del modelo y la respuesta en desfase de  $180^\circ$  entre las dos concentraciones debido a la relación consumo-producción entre los agentes químicos. Las diferencias de intensidad se deben a que el consumo de glucosa es mayor que la producción de piruvato.



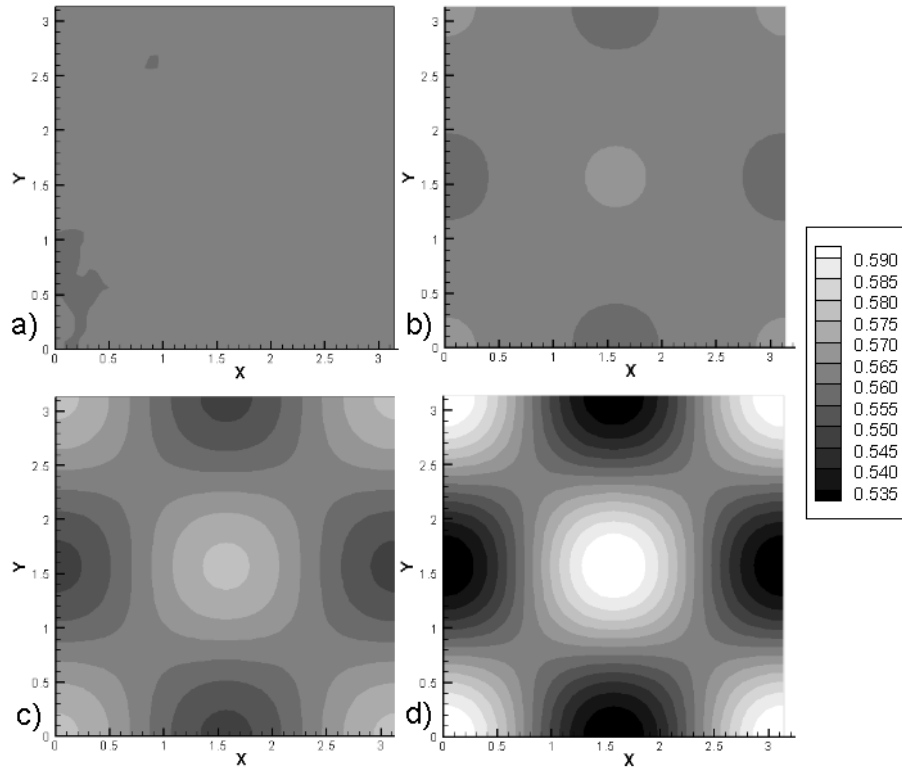


Figura 4.4: Modelo de Glucólisis 1D. Concentración de glucosa

Utilizando un dominio bidimensional  $[0, 5\pi] \times [0, 5\pi]$  con una malla de 2.500 elementos cuadriláteros bilineales, los parámetros antes usados, y manteniendo las condiciones de la simulación del caso anterior, se obtiene el patrón de puntos mostrado en la figura 4.6, con a) la condición inicial, dada por un nivel de perturbación del 5% alrededor del estado temporal estable, b) respuesta en  $t=750$ , c) respuesta en  $t=1.500$ , y d) respuesta en  $t=2.500$ .

Finalmente, usando el dominio bidimensional  $[0, 5\pi] \times [0, 5\pi]$  con una malla de 2.500 elementos cuadriláteros bilineales, se establecen para los parámetros los valores  $D_u=1.0$ ,  $D_v=0.08$ ,  $\delta=1.2$ ,  $k=0.06$ , y se realizan 100.000 iteraciones con un paso de tiempo  $\Delta t=0.1$ , se obtiene el patrón de franjas mostrado en la figura 4.7, donde a) la condición inicial, dada por un nivel de perturbación del 5% alrededor del estado temporal estable, b) respuesta en  $t=50$ , c) respuesta en  $t=150$ , y d) respuesta en  $t=300$ .

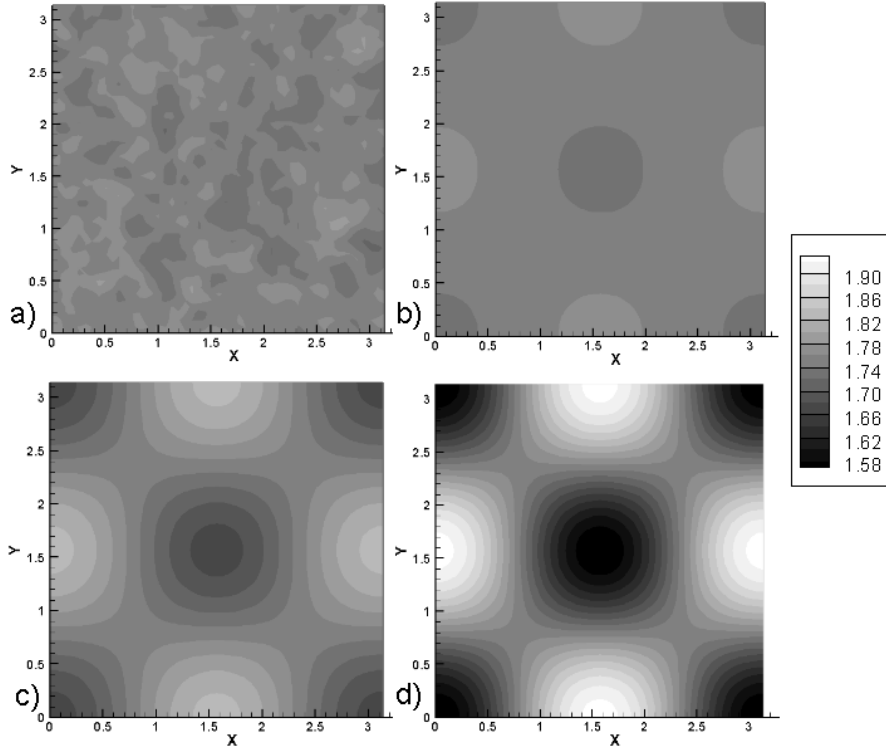


Figura 4.5: Modelo de Glucólisis 1D. Concentración de piruvato.

### 4.5.3. Modelo de Quimiotaxis

El modelo de quimiotaxis dado por las ecuaciones (4.7) fue implementado utilizando un dominio bidimensional de dimensiones  $[0,1] \times [0,1]$  con una malla de 2.500 elementos cuadriláteros bilineales y un total de 800 iteraciones con un paso de tiempo de  $\Delta t=0.01$ . Los parámetros utilizados son:  $D_u=0.001$ ,  $D_v=0.005$ ,  $\alpha=2$ ,  $\delta_u=0.05$ ,  $\delta_v=0.05$ ,  $\gamma=0.001$ ,  $p=30$ ,  $r=4$ . La función  $f(u)$  es un escalón unitario que ha sido aproximado por la expresión (4.18):

$$f(u) = \frac{u^p}{u^p + u_0^p} \quad (4.18)$$

Por su parte, la función  $g(n)$  es un escalón unitario que ha sido aproximado por la expresión (4.19):

$$g(n) = \frac{\gamma n^p}{n^p + n_0^p} \quad (4.19)$$

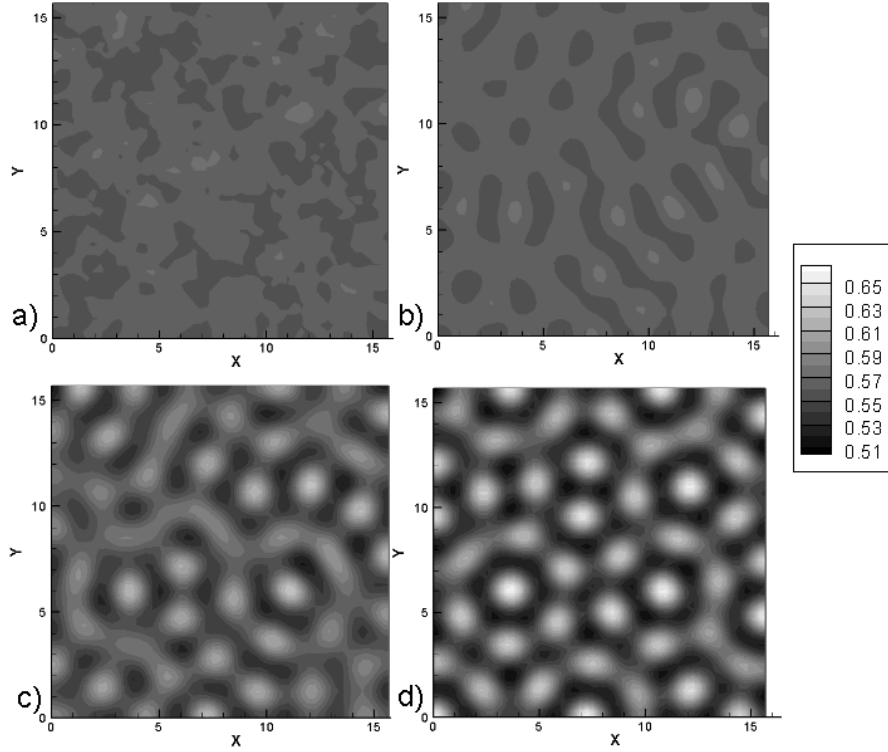


Figura 4.6: Modelo de Glucólisis 2D. Patrón de puntos en la concentración de glucosa.

En (4.18) y (4.19)  $n_0$  y  $u_0$  son los puntos de activación. Los valores utilizados son:  $n_0=0.01$  y  $u_0=0.0195$ . Las condiciones de flujo en el contorno se consideran iguales a cero. Las figuras 4.8 y 4.9 muestran los resultados obtenidos donde a) es la condición inicial, b) es la respuesta en  $t=2.5$ , c) es la respuesta en  $t=5$ , y d) es la respuesta en  $t=8$ . La condición inicial en a) está dada por (20), con  $n_i=1.0$ ,  $x_i=1.0$ , y  $u_i=0.2$ .

$$\begin{aligned}
 n(x, y, 0) &= \begin{cases} n_i, & \text{si } x < x_i \\ 0, & \text{si } x \geq x_i \end{cases} \\
 u(x, y, 0) &= u_i
 \end{aligned} \tag{4.20}$$

Finalmente, se modificó la condición inicial en (4.20) de la siguiente manera (4.21):

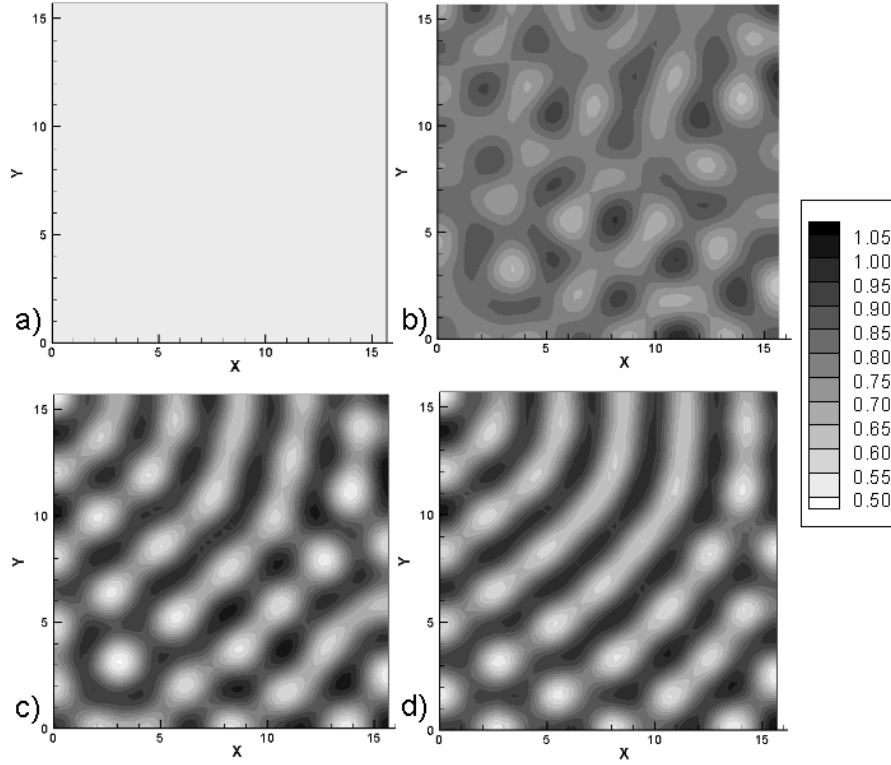


Figura 4.7: Modelo de Glucólisis 2D. Patrón de franjas en la concentración de glucosa.

$$\begin{aligned}
 n(x, y, 0) &= \begin{cases} n_i, & \text{si } x < x_i, y < y_i \\ 0, & \text{si } x \geq x_i, y \geq y_i \end{cases} \\
 u(x, y, 0) &= u_i
 \end{aligned} \tag{4.21}$$

Usando (4.21) con  $n_i=1.0$ ,  $x_i=1.0$ ,  $y_i=1.0$  y  $u_i=0.2$ , los demás parámetros como en el caso anterior, y un total de 200 iteraciones con un paso de tiempo de  $\Delta t=0.05$ , se obtuvo la solución mostrada en la figura 4.10 donde a) es la condición inicial, definida por (4.21), b) es la respuesta en  $t=50$ , c) es la respuesta en  $t=75$ , y d) es la respuesta en  $t=100$ .

Las dos implementaciones del modelo de quimiotaxis se ajustan a los resultados obtenidos mediante el método de diferencias finitas reportado en [125]. Se comprueba además la formación del patrón de onda viajera que representa el llamado químico que el quimioattractante ejerce sobre las células, y tal como se aprecia en las figuras 4.8 y 4.10, es posible ajustar las condiciones iniciales para obtener resultados variables. Este hecho es significativo para la formulación de modelos específicos en problemas de crecimiento y desarrollo celular y tisular,

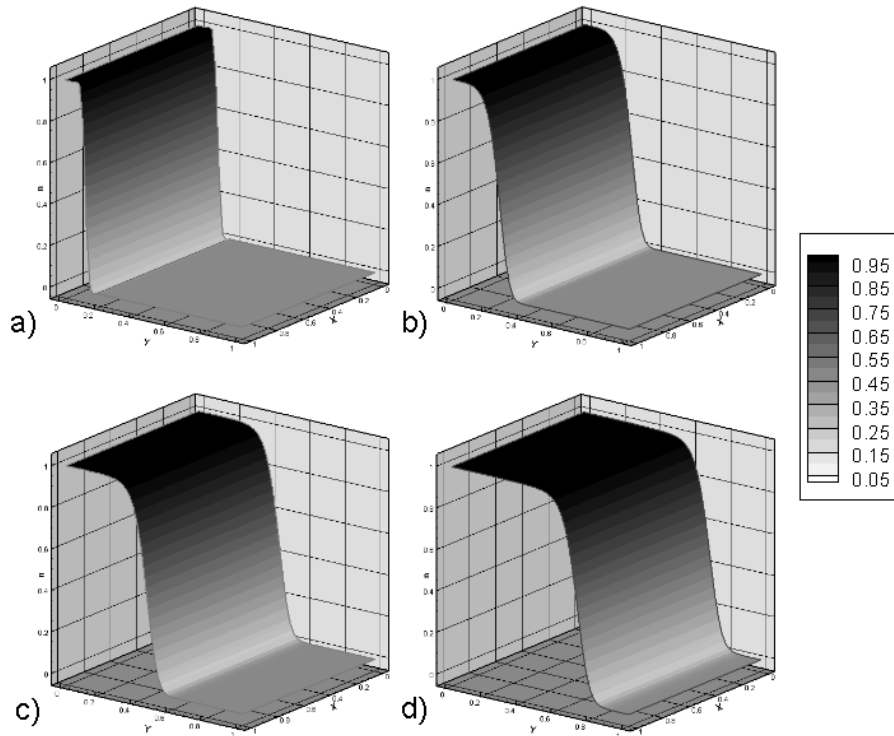


Figura 4.8: Modelo de Quimiotaxis. Densidad celular.

donde los procesos de diferenciación y proliferación tienen lugar en zonas definidas.

## 4.6. Discusión

Los modelos matemáticos implementados muestran cómo las ecuaciones de reacción-difusión son de utilidad para representar la formación de patrones en sistemas biológicos. Se ha evidenciado la existencia de inestabilidades espaciales debido a pequeñas perturbaciones del estado temporal estable y las variaciones de dichas inestabilidades conforme a los parámetros de cada modelo.

La implementación del modelo de Schnakenberg permite visualizar esta formación de patrones espaciales y la evolución en el tiempo de esta formación. Un análisis de los parámetros puede hacerse para identificar características de la formación del patrón, el modo de la onda, y el valor de estado estable [117, 122]. La implementación unidimensional del modelo de Schnakenberg es complementada con su implementación bidimensional, con lo que se comprueba la validez del método para la solución de problemas de dimensión superior.

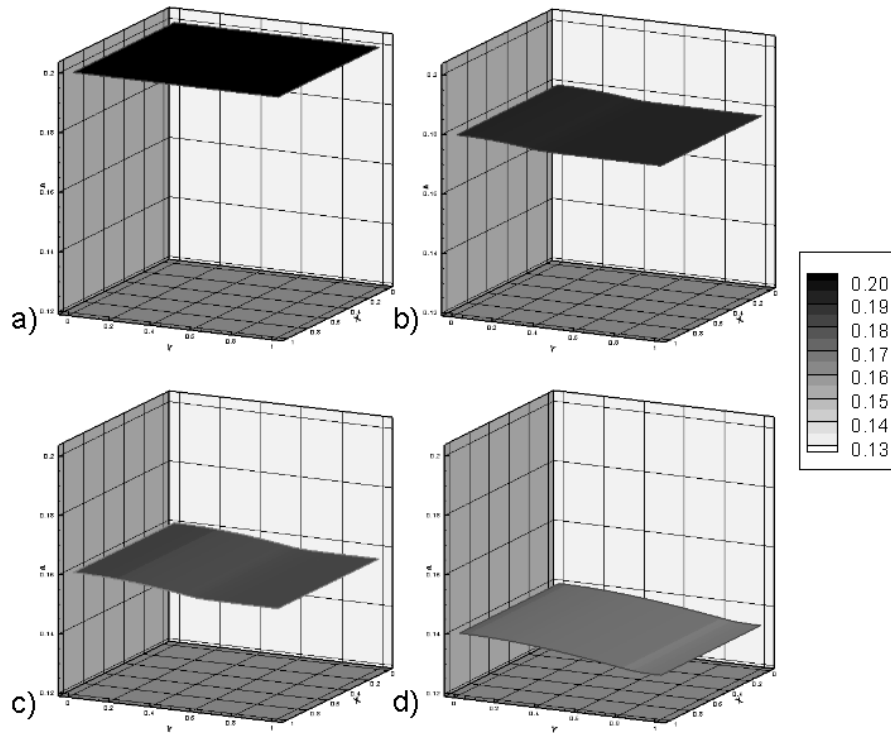


Figura 4.9: Modelo de Quimiotaxis. Concentración de quimioattractante.

En el modelo de glucólisis se hace más evidente la variación del patrón espacial inestable conforme a los valores dados a los parámetros del modelo, tal como se observa en las figuras 4.4, 4.6 y 4.7. Se observa además el efecto de la dimensión del dominio en la formación del patrón, especialmente en relación con el dominio bidimensional  $[0, \pi] \times [0, \pi]$  de las figuras 4.4 y 4.5, y el dominio bidimensional  $[0, 5\pi] \times [0, 5\pi]$  de las figuras 4.6 y 4.7, hecho que ha sido ampliamente analizado por [116, 129]. En términos computacionales, estas variaciones del dominio, en conjunto con la elección adecuada de parámetros, inducen a que la solución requiera de un menor número de iteraciones pasos de tiempo menor, como en el caso del resultado de la figura 4.7. La escogencia de los parámetros esta asociada a las características de inestabilidad de Turing del modelo y una análisis matemático detallado de la inestabilidad conduce a parámetros ajustados [122]. Para efectos de formación morfogénica como en el caso de redes fibrilares, el resultado mostrado en la figura 4.7 se ajusta no sólo en cuanto al patrón espacio sino en términos de su velocidad de estabilidad temporal, ya que sólo requiere de 300 unidades de tiempo para alcanzar su estado estable. Por su parte los resultados de las figuras 4.3, 4.4, 4.5 y 4.6 pueden ser asociados a la formación de patrones de pigmentación o

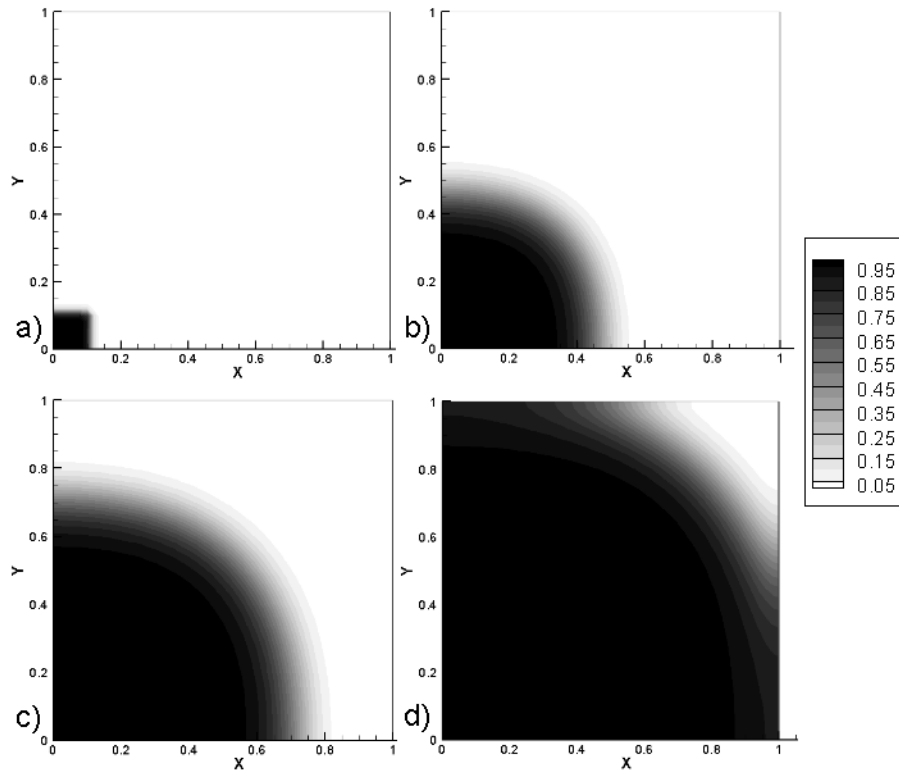


Figura 4.10: Modelo de Quimiotaxis. Variación de las condiciones iniciales.

a patrones de formación ósea [117] [118] [125].

El modelo de quimiotaxis, por su parte, se presenta como un ejemplo de los fenómenos de movimiento y transporte celular. En particular, los resultados permiten evidenciar la obtención de un patrón espacial que semeja el movimiento de un contingente celular en respuesta a una concentración de quimioattractante. Estos frentes de onda son apreciables en las figuras 4.8 y 4.10. El resultado de este movimiento celular es la reducción en el nivel de quimioattractante mostrado en la figura 4.9 y que denota el consumo necesario para generar el movimiento del frente celular 4.8. Un desarrollo más notorio de este movimiento es el objeto de la figuras 4.10, donde la condición inicial se ha limitado a un cuadrado de  $[0,0.1] \times [0,0.1]$  en la esquina inferior izquierda del dominio. El resultado muestra el movimiento de la concentración celular a partir del cuadro de condición inicial. Conforme el contingente inicial de células se desplaza, la concentración final aumenta producto del término mitótico en (4.7), lo cual explica la aparente homogeneidad a lo largo del dominio. A su vez, el término difusivo en (4.7) controla la dirección del movimiento celular y garantiza que el frente de onda tenga un patrón de

desplazamiento radial desde la región de condición inicial [117,120].

De los resultados obtenidos se concluye que la implementación los modelos biológico presentados mediante la formulación matemática y el método numérico por elementos finitos descritos anteriormente permite reproducir los resultados obtenidos por otros autores [116,117,125,126]. La técnica empleada permite solucionar modelos complejos con menor costo computacional y mejor aproximación numérica, siempre que el dominio, el mallado y las características temporales sean bien especificados. Se espera que la evidencia de los resultados presentados y la técnica de solución empleada sean de utilidad en la formulación e implementación de modelos matemáticos biológicos complejos de crecimiento y desarrollo celular y tisular.