

Aplicación del método de elementos de contorno para modelar la consolidación ósea

Yomar A. González¹, Cesar González Fuentes² y Miguel E. Cerrolaza¹

¹Instituto Nacional de Bioingeniería, Universidad Central de Venezuela
Los Chaguaramos, 1041, Caracas, Venezuela

Telefax.: 58 0 212 6053115; e-mail: yomar.gonzalez@inabio.edu.ve

²Hospital Universitario de Caracas, Universidad Central de Venezuela
Caracas, Venezuela

Telefax.: 58 0 212 6067498; e-mail: cesar.gonzalez@inabio.edu.ve

Resumen

El proceso de curación de fracturas es iniciado y regulado principalmente por los factores de crecimiento y por el entorno mecánico en el callo. Este fenómeno ha sido analizado desde un punto de vista biomecánico. La mayoría de los modelos computacionales están basados en el método de los elementos finitos y muchos de ellos estudian los niveles de tensiones y deformaciones producidos en los diferentes tejidos como el principal estímulo mecánico que afecta la diferenciación celular y el patrón de osificación ósea. En este trabajo se incorporó esa hipótesis en un entorno basado en el método de los elementos de contorno (BEM) para problemas axialmente simétricos.

La idea principal es proponer el método de elementos de contorno como una alternativa atractiva a los métodos de dominio comúnmente utilizados en esta clase de problemas: diferencias finitas y elementos finitos. Los resultados obtenidos fueron cotejados con los reportados por la literatura comprobando la versatilidad y efectividad del método numérico propuesto.

Como una primera aproximación, se realizó un análisis elástico-lineal para modelar los efectos de estimulación e inhibición que ejerce el estado de deformación sobre el proceso de diferenciación tisular, siguiendo la metodología propuesta por Claes and Heigele¹⁰. Luego, en un modelo bifásico poroelástico en régimen estacionario, se incorpora la presión de poro como variable adicional dentro de la hipótesis, lo que permitió complementar las conclusiones hechas por Claes and Heigele¹⁰. De esta manera, existe una nueva correlación de valores que permitirán a los modelos actuales comparar la evolución de propiedades tales como el modulo de elasticidad (E) y relación de Poisson (ν), en base al estado de deformación presente en el modelo en análisis poroelásticos.

Palabras clave: *callo óseo, elementos de contorno, elasticidad, consolidación ósea.*

MODELING BONE HEALING BY BOUNDARY ELEMENT METHOD

Summary

Fracture healing is initiated and tightly regulated mainly by growth factors and by mechanical environment around the callus site. Biomechanics of fracture healing have been previously studied. Most computational models are based on finite elements and some of them study the level of strain or stress in the different tissues. These strain/stress fields are the main mechanical stimuli affecting cell differentiation and ossification pathway.

In this work we incorporated that hypothesis into an axisymmetric boundary element framework (BEM). The key idea is to establish BEM as an attractive alternative to the more familiar finite difference and finiteelement methods for this kind of problems. The results were in good agreement with those reported in previous works.

As a rough simplification of actual trends in this field, a lineal elastic analysis was used to simulate the stimulatory and inhibitory effects of strains on the tissue differentiation process, following the work done by Claes and Heigele¹⁰. Subsequently, the pore pressure was included into a bifasic stationary-poroelastic callus model, as a part of the stimuli function. These analyses allowed to extend the observations made by Claes and Heigele¹⁰ and a new correlation is proposed. In addition to earlier quantitative theories, recent poroelastic models will be able to compare the tissue properties evolution, such as the elastic moduli (E) and Poisson ratio (ν), as a function of new stimuli values.

Keywords: *bony callus, boundary element method, elasticity, tissue regeneration.*

INTRODUCCIÓN

El proceso de reparación de fracturas involucra la activación de una cascada de eventos celulares coordinados, tales como la diferenciación y proliferación de los principales tipos de células y la síntesis y degradación tanto de los tejidos intermedios (tejido fibroso, conectivo, cartílago, hueso inmaduro, entre otros) que se formarán en el sitio del callo durante el proceso, como del tejido óseo final. Los tejidos intermedios sirven para estabilizar el callo y proveen el soporte ideal para la diferenciación de nuevos tejidos más resistentes. El proceso de curación de fracturas se caracteriza por ser no lineal, anisótropo y heterogéneo, iniciado y regulado principalmente por los factores de crecimiento y por el entorno mecánico en el callo^{6,11,24}. Este fenómeno ha sido ampliamente analizado desde un punto de vista biomecánico.

La mayoría de los modelos computacionales están basados en el método de los elementos finitos y muchos de ellos estudian los niveles de tensiones y deformaciones producidos en los diferentes tejidos^{9,10} como el principal estímulo mecánico que afecta la diferenciación celular y el patrón de osificación ósea (modelos fenomenológicos). Otros modelos estudian el proceso de diferenciación de los tejidos^{22,31} y algunos modelos más completos tratan de simular la diferenciación y el crecimiento del callo al mismo tiempo^{6,24}. Está claro que otros factores, como la velocidad del fluido, presión, etc., son considerados como estímulos, pero la hipótesis subyacente en este trabajo es que el nivel de deformación y la presión de poro combinados conforman el factor que influencia al proceso.

La implementación de la teoría de poroelasticidad está ampliamente difundida en los estudios del proceso de consolidación ósea^{22,23,29}, por lo que la comparación directa con los rangos reportados por Claes and Heigele¹⁰ suele limitarse a una referencia cualitativa, tomando en cuenta las relaciones constitutivas que se utilizaron para la verificación de las hipótesis asumidas.

La finalidad de este trabajo consistió en aplicar el método de los elementos de contorno, como una herramienta numérica adicional para establecer el estímulo mecánico encargado de regular y orientar el patrón de osificación ósea y describir en forma simplificada el fenotipo de los tejidos involucrados. Se propone replantear las correlaciones entre las condiciones mecánicas y los tipos de tejidos presentes en el callo, ahora calculadas enteramente utilizando la poroelasticidad como teoría constitutiva. De esta manera se pone a disposición una alternativa para comparar de manera indirecta, la variación en el tiempo de la función que define a las propiedades mecánicas más importantes en modelos recientes más sofisticados.

Este método se utilizará entonces como el entorno donde modelos fenomenológicos para curación de fracturas podrán ser implementados, a medida que evolucione el algoritmo en base a la adición de metodologías y formulaciones existentes para el tratamiento de aspectos relacionados a la no lineal y heterogeneidad “punto a punto^{18,35}”, cotejando los resultados obtenidos con los reportados en la literatura^{9,10,22,24,29}. El manejo de la heterogeneidad en este tipo de problemas donde coexisten materiales cuyas propiedades cambian constantemente, es sumamente complejo de tratar por cualquier método numérico. En tal sentido, se hace necesario adoptar en un primer paso, simplificaciones donde los modelos propuestos son representados con un número pequeño de regiones para una evaluación razonable de las propiedades asociadas.

Así, en este trabajo se analizan modelos compuestos por varias subregiones para tomar en cuenta la heterogeneidad del problema. En cada subregión se han definido al menos 10 puntos internos donde se evalúan las propiedades actuales del material, lo que proporciona una visión suficientemente precisa del comportamiento de la subregión.

En particular, se modelaron los efectos de estimulación e inhibición que ejerce el estado de deformación presente en los tejidos, siguiendo la metodología descrita en el trabajo realizado por Claes and Heigele¹⁰.

La cantidad de callo formado está fuertemente influenciado por el movimiento interfragmentario en el foco de fractura: a menor estabilización, mayor volumen de callo óseo se formará con mayor probabilidad de disminución en la rigidez del sistema^{19,20}.

El código de elementos de contorno utilizado fue una adaptación al código multi zona original propuesto por Beer³. La adaptación consistió en la implementación de las soluciones fundamentales para tratar problemas con simetría axial en el campo lineal, isótropo y homogéneo^{25,26,27}.

Tejido de reparación: callo óseo

La función biomecánica del callo es la reducción inicial del movimiento entre los fragmentos óseos después de una fractura, hasta que la formación de nuevos puentes óseos pueda ofrecer una mayor estabilidad. Esto es logrado gracias al incremento en el área de la sección transversal del tejido conectivo (Figura 1c) y al aumento de su rigidez¹².

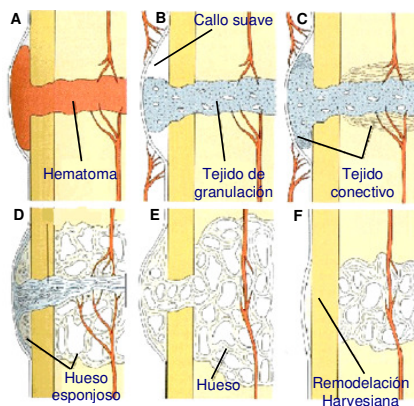


Figura 1. Proceso de reparación ósea: inflamación, reparación, remodelación²⁸

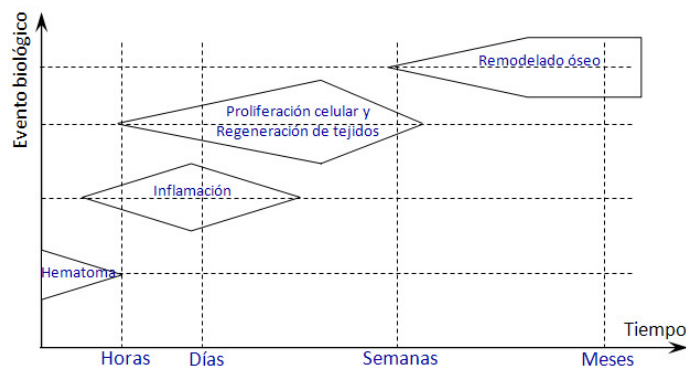


Figura 2. Fases del proceso de curación de tejidos¹

Durante la fase de regeneración, el callo se va conformando de una variedad de tejidos que incluyen fibrocartilago, cartilago, tejido de granulación, hueso intermembranoso y cartilago en calcificación¹², producto de procesos biológicos tales como: proliferación, migración, transformación y diferenciación de las células que intervienen durante el proceso, los cuales progresan de modo determinado para producir una forma y morfología funcional^{4,10}.

La formación del callo óseo en el foco de la fractura ocurre en cuatro fases que se solapan. Después del daño que sufre el sistema músculo-esquelético, la ruptura de los vasos sanguíneos activa el proceso de coagulación y formación del hematoma, el cual encierra el área de la fractura (Figura 1a). Mientras avanza el proceso de curación, se hace más evidente el reemplazo del hematoma por hueso nuevo, consistente con la angiogénesis que se está produciendo. Paulatinamente, tanto células madre como otros tipos de células, comienzan a invadir el sitio de la fractura, mientras que nuevos vasos sanguíneos se forman a partir de los ya existentes. La respuesta inflamatoria asociada a todo este proceso, tiene que ver principalmente con la liberación de muchos factores de crecimiento, los cuales juegan un papel importante en la reparación ósea¹³.

Inicialmente, el tejido de granulación (Figura 1b), cuya matriz es sintetizada por las células madre, se forma al término de los fragmentos óseos, siendo reemplazado gradualmente, por fibrocartilago, cuya formación comienza comúnmente en la superficie del endosteo (callo interno), a cierta distancia del foco de fractura, mientras que en las zonas adyacentes al periostio, se suele formar hueso directamente a través de la osificación intermembranosa (callo externo). La cadena de eventos celulares continúa en dirección del foco de la fractura^{10,34}.

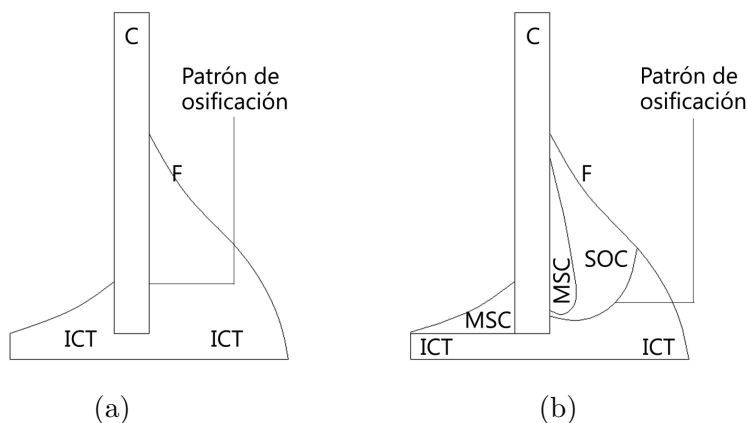
Subsecuentemente, el callo interno se comienza a mineralizar (Figura 1d) para formar un callo más duro (*woven bone*). En la fase final, el proceso de remodelado asociado a la regeneración ósea, permite que el callo sea reemplazado por hueso lamelar que constituye la estructura primaria de nuestros huesos. El tamaño del callo es reducido hasta alcanzar dimensiones similares a las pre-existentes en el sitio de la fractura, y el abastecimiento sanguíneo retorna a la normalidad (Figura 1f) ¹².

Modelo de diferenciación tisular basado en la presión hidrostática y la deformación unitaria

Claes and Heigele¹⁰ desarrollaron una teoría cuantitativa de diferenciación de tejidos la cual relaciona la formación tisular local en el foco de fractura con el estado de tensión y deformación presente. Su hipótesis propuso que la cantidad de deformación y presión hidrostática (estímulos mecánicos) existente a lo largo de las superficies calcificadas en el callo determina la diferenciación de los tejidos. El estudio comparó las tensiones y deformaciones locales calculadas a través de un modelo de elementos finitos axisimétrico de un callo de fractura, con resultados histológicos obtenidos de estudios *In Vivo* con ovejas^{8,11}. El hueso metatarso de un grupo de 7 ovejas fue sometido a una osteotomía transversal, estabilizada posteriormente con un fijador externo especialmente diseñado, el cual proporcionó extrema rigidez a flexión y torsión, mientras permitía movimiento axial controlado inicial (1 mm).

Para la validación del modelo, se compara la evolución de los valores de movimiento interfragamentario (IFM) y de deformación interfragmentaria (IFS) estimados a partir del análisis numérico, con los medidos en los estudios *In Vivo*, obteniendo una buena aproximación⁸. De forma paralela se llevan a cabo estudios sobre cultivos celulares encaminados a conocer cuál es el ambiente mecánico óptimo a nivel celular para la osificación del hueso fracturado¹³.

El modelo axisimétrico desarrollado (Figura 3) simuló tres momentos del proceso de reparación (1, 4 y 8 semanas), con una separación en el foco de fractura de 3 mm y 1 mm de movimiento interfragmentario permitido. La geometría del callo, la disposición espacial de los diferentes tejidos que lo conforman y sus propiedades (Tabla I), se determinaron a partir de datos histomorfométricos obtenidos en estudios previos^{8,10,11}. El comportamiento de los materiales se simuló como hiper-elástico y elástico lineal, con propiedades isotrópicas y homogéneas para todos los análisis. La geometría final se asumió igual para los tres casos en estudio. A partir de esos modelos, también se calculan las deformaciones en el callo y la presión hidrostática, dándole el carácter cuantitativo a la hipótesis (Figura 4).



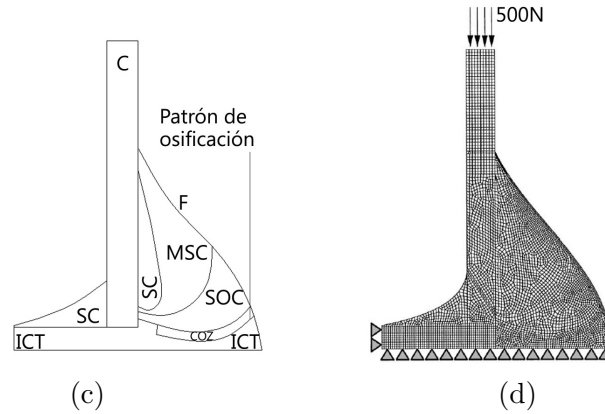


Figura 3. Modelos axisimétricos simulando tres estados del proceso de regeneración y los patrones de osificación: a) 1 semana, b) 4 semanas, c) 8 semanas (post-operatorio), d) modelo de elementos finitos con carga axial y condiciones de contorno⁸

Tipo de tejido	Modulo de Young (Mpa)	Relación de Poisson	Teoría de modelado para el material
Conectivo inicial (ICT)	3	0.4	Hiperelástica no-lineal (Money-Rivlin) y relación presión-desplazamiento
Callo blando (SOC)	1000	0.3	Hooke
Callo intermedio (MSC)	3000	0.3	Hooke
Callo duro (SC)	6000	0.3	Hooke
Zona de osificación condrocítica (COZ)	10000	0.3	Hooke
Cortical (C)	20000	0.3	Hooke
Periferia (F)	250	0.4	Hooke

Tabla I. Propiedades de los diferentes tejidos presentes en el proceso de curación y las teorías utilizadas para modelar su comportamiento⁸

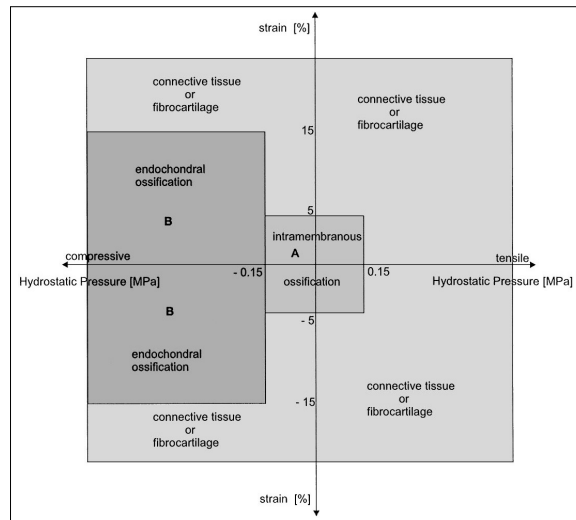


Figura 4. Correlaciones basadas en la hipótesis: relaciones entre las condiciones mecánicas y los tipos de tejidos presentes en el callo⁸

La hipótesis predijo formación de hueso intermembranoso para estados combinados de deformaciones y presiones hidrostáticas en el orden de $\pm 5\%$ y $\pm 0,15\text{ Mpa}$ respectivamente, mientras que la osificación endocondral se asoció a presiones compresivas por encima de $-0,15\text{ Mpa}$ y con deformaciones por debajo de $\pm 15\%$. Todas las demás combinaciones estuvieron relacionadas con la aparición de tejido conectivo y fibrocartilago (Figura 4).

MATERIALES Y MÉTODOS

El método de los elementos de contorno ha demostrado ser una de las técnicas más poderosas en la solución de problemas de elastostática. Incluso se evidencia cierto interés en su aplicación en el área de la bioingeniería como herramienta novedosa de cálculo^{26,32}. Para la realización de los análisis numéricos se seleccionó este método, pues ofrece una clara ventaja al establecer el campo tensión-deformación en un dominio, con tan solo discretizar el contorno utilizando elementos lineales isoparamétricos, lo que supone un ahorro sustancial de tiempo de cálculo manteniendo incluso, el mismo grado de exactitud^{25,26}. La implementación de la teoría elástica⁴ y poroelástica^{16,17} dentro del código BEM siguió una novedosa metodología propuesta para la integración singular en análisis de problemas de contacto axisimétricos²⁷. Por otra parte, los algoritmos de hoy en día ya poseen la habilidad de trabajar con varias regiones simultáneamente dentro de un mismo modelo⁴, cada una con propiedades mecánicas distintas, lo que permite brindar un carácter heterogéneo tan detallado como el modelo así lo requiera.

El primer código utilizado está basado en la teoría de elasticidad clásica^{4,25,26}. En una segunda parte de la investigación, un segundo código basado en la teoría de poroelasticidad clásica de Biot^{16,17}, incorpora la presión de poro como variable adicional en el modelo. Ambos códigos ya contienen las soluciones axisimétricas respectivas para el estudio de problemas definidos en un medio elástico-lineal, isótropo y homogéneo.

En base al análisis poroelástico, se propone para efectos comparativos, una nueva correlación entre el patrón de diferenciación de tejidos y las condiciones mecánicas presentes en modelos poroelásticos de callo óseo (Figura 14).

Curso del movimiento interfragmentario

Independientemente del método de estabilización de fracturas, la regeneración ósea está generalmente sujeta a movimientos interfragmentarios complejos (componentes axiales a compresión y corte combinados). Está bien documentado que este movimiento influye sobre el proceso de curación.¹⁹

Experimentos *In Vivo* han demostrado que el movimiento interfragmentario en dirección axial en un rango entre 0.2 y 1.0 mm, presente en un tamaño de foco de 3 mm, y un estado de corte mínimo, es el patrón óptimo para propiciar la regeneración de tejidos. Sin embargo, y aún con los nuevos modelos evolucionistas de callo óseo, no está claro todavía la relación exacta entre el proceso de curación y las otras componentes del movimiento en el foco de fractura^{8,10,19,22}.

Para predecir este movimiento se asumió por simplificación que el estado de carga actuante sobre el metatarso intacto de oveja es similar a aquel existente en el miembro osteotomizado y estabilizado con un fijador externo y que la relación carga-desplazamiento es lineal. Matemáticamente, los movimientos interfragmentarios presentes están relacionados con el estado de carga impuesto, mediante la rigidez del sistema, la cual depende del sistema de fijación. Sí se pretende controlar el movimiento entre los fragmentos para lograr un patrón de curación óptima, tanto la rigidez del sistema de fijación como el estado de carga deben ser conocidos^{19,20}.

Simulación numérica: teoría de elasticidad clásica

En esta simulación se analiza el fenotipo de una fractura con una separación inicial entre los fragmentos fracturados de 3 mm.

El desplazamiento interfragmentario máximo en cada estado del proceso de curación se puede relacionar con la carga axial aplicada, la cual, en ausencia del sistema del sistema de rigidización utilizado, no puede ser aplicada directamente al modelo. Claes *et al.*¹⁰ consideraron un rango de cargas axiales entre 200 y 500N, reportando para este último valor, el desplazamiento axial asociado a varios grados de deformación permitidos (Figura 5a). Para efectos de este trabajo se consideró el caso más desfavorable para imponer las condiciones de contorno del problema: carga axial de 500N y deformación interfragmentaria (IFS) del 31 %.

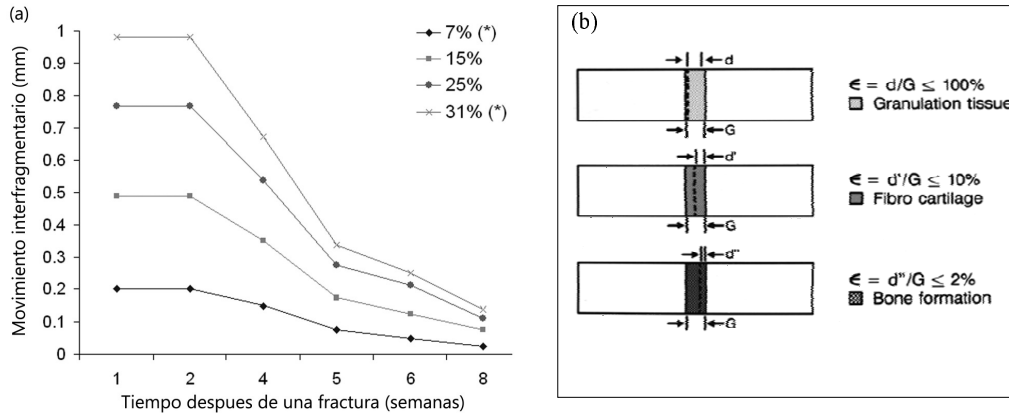


Figura 5. a) Historia de los desplazamientos interfragmentarios para distintas deformaciones interfragmentarias iniciales^{7,20}. b) Teoría de deformación interfragmentaria de Perren: diferenciación de tejidos basado en deformaciones normales en el foco, cuando el movimiento es más pequeño que el tamaño de foco de fractura considerado¹⁵

El desplazamiento prescrito es impuesto en el extremo superior de la zona cortical. Los elementos situados sobre el eje radial están restringidos de movimiento en dirección axial, mientras que aquellos dispuestos sobre el eje "z", poseen restricción total en dirección radial.

En este caso se considera que la fractura no ha provocado la rotura del periostio al nivel de la línea de fractura. Inicialmente el tejido del hematoma o *debris* (baja rigidez) ocupa todo el espacio interfragmentario (Figura 6a). Se supuso que el periostio se encuentra intacto, por tanto, la fractura es más estable desde el principio del proceso de consolidación³⁰. Los procesos celulares y su distribución se suponen asociados a las observaciones hechas en estudios experimentales previos⁸.

Análisis de sensibilidad del modelo

Todo análisis numérico debe calibrar su modelo con la finalidad de no sobredimensionar la cantidad de nodos y elementos necesarios para la obtención de resultados adecuados. En tal sentido, y atendiendo a las zonas susceptibles de mayor deformación¹⁰, según las condiciones de contorno impuestas (Figura 3d), los autores decidieron prestar mayor atención en la cantidad de elementos dispuestos uniformemente alrededor del foco de fractura y en la zona del callo externo y así medir las tensiones equivalentes de *Von Mises*, y las deformaciones en dirección radial en los puntos de interés (A y B) (Figura 6a), a través de cuatro modelos simulando el primer estado del proceso de curación (1 semana). Todos los modelos fueron discretizados usando elementos isoparamétricos con aproximación lineal.

Modelo	Elementos totales	Elementos en zonas de interés	σ_{eq}		ε_r (mm)	
			A	B	A	B
1	177	foco cortical: 8	1.475	0.379	0.284	0.087
		periosteal: 30				
2	267	foco cortical: 16	1.912	0.394	0.341	0.092
		periosteal: 48				
3	467	foco cortical: 32	1.933	0.398	0.344	0.093
		periosteal: 96				
4	1107	foco cortical: 160	1.932	0.422	0.343	0.095
		periosteal: 188				

Tabla II. Resumen del análisis de convergencia. Se muestran los resultados para las tensiones equivalentes y para la deformación radial en los puntos de control A y B

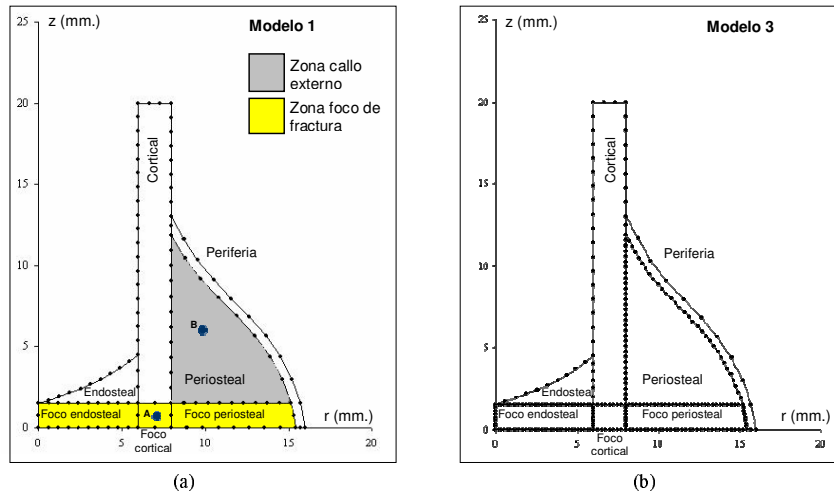


Figura 6. Modelos de elementos de contorno para el análisis de sensibilidad: a) 177 elementos (Se destacan las zonas principales del callo en estudio), b) 467 elementos

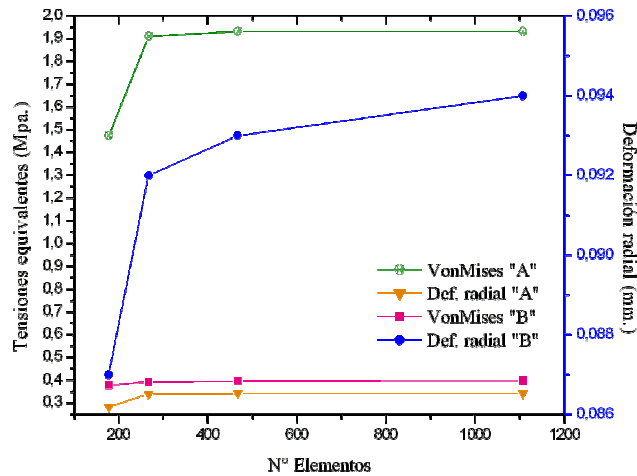


Figura 7. Convergencia en las deformaciones y de las tensiones equivalentes en los puntos A y B, para el análisis con teoría clásica de elasticidad: tendencia lineal

Cabe destacar que el foco cortical es una zona muy pequeña con altas deformaciones debido a la poca rigidez presente, sobretodo durante los primeros estados del proceso. Esta situación es particularmente difícil de manejar para un código BEM multi-región, debido a la gran diferencia de rigideces entre los elementos interfase y a la cercanía existente en la localización del punto *A* en relación a las fronteras de esa región, por lo que pequeños saltos en los valores de los desplazamientos se hicieron evidentes a medida de que la discretización era menor. Sin embargo, los modelos presentan una tendencia a la estabilización en los valores de los campos en estudio. La malla utilizada para el modelo 2 funcionaría bien para nuestros propósitos, sin embargo, los autores decidieron escoger una malla intermedia (modelo 3) tomando en cuenta la situación descrita anteriormente.

Cálculo del campo de deformación global

Se presentan los resultados reportados por Claes and Heigele¹⁰ corroborados mediante observaciones y mediciones histológicas realizadas a los diferentes tipos de tejidos presentes en los tres estados de curación.

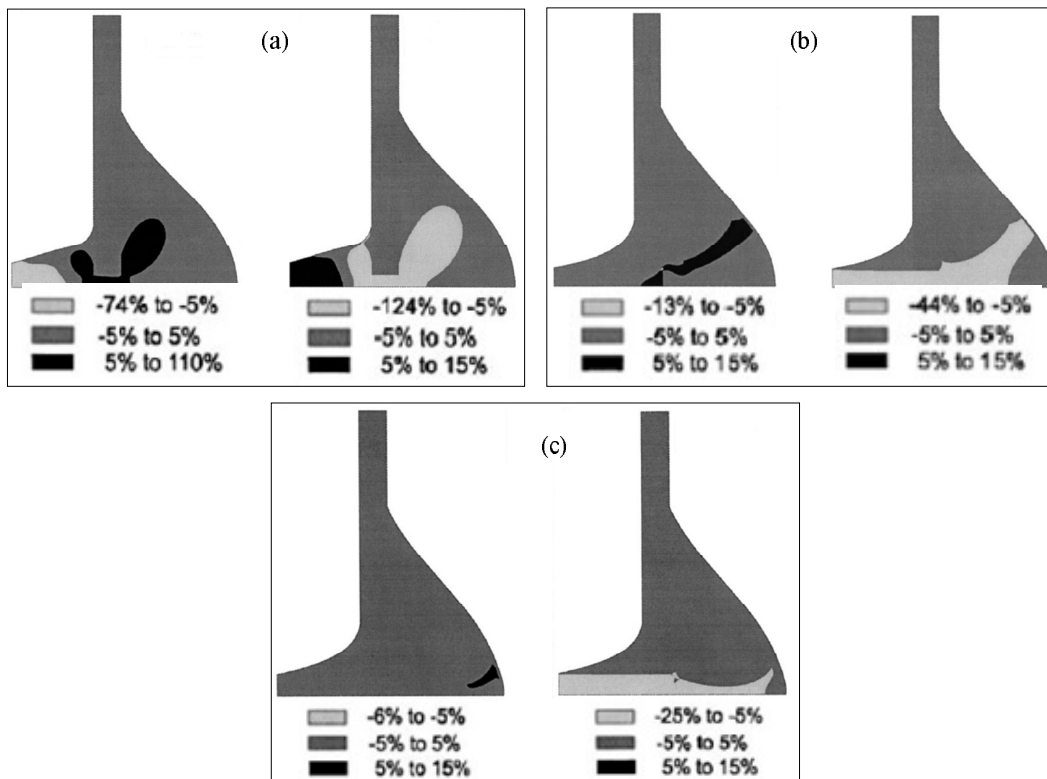


Figura 8. Distribución del campo de deformaciones en dirección radial y axial respectivamente, obtenidos a través de análisis FEM (Claes and Heigele⁸): a) Primer estado de curación (1 semana). b) Segundo estado de curación (4 semanas). c) Tercer estado de curación (8 semanas)

Cálculo del campo de deformación a lo largo del patrón de osificación

Para caracterizar el avance de osificación ósea es importante determinar a lo largo de su superficie, el campo de deformaciones presente. Según las conclusiones obtenidas en varios modelos de regeneración¹⁴, los valores asociados deben ser óptimos para estimular los dos grandes patrones de osificación: intermembranosa (OI) y endocondral (OE). La geometría y el tipo de osificación asociada a lo largo del frente de avance, fueron determinados en base a mediciones *In Vivo*⁸.

Discusión de resultados en medio elástico

Todos los modelos fueron discretizados usando elementos isoparamétricos con aproximación lineal. La utilización de estos elementos supone una desventaja al compararlos con aquellos definidos por funciones de interpolación más sofisticadas, lo que hubiera significado un grado de discretización menor. La utilización de elementos lineales obedeció entonces a que las técnicas utilizadas para el cálculo e integración de las soluciones fundamentales implementadas en el algoritmo, fueron diseñadas para trabajar únicamente con funciones lineales. Aún así, el número de elementos de contorno utilizados en los modelos del callo fue significativamente menor en comparación con los requeridos para los análisis FEM para obtener un precisión similar en los resultados, lo cual suele minimizar considerablemente los tiempos de cómputo, sobre todo durante los cálculos quasi-estáticos que se suelen realizar en modelos evolutivos de regeneración ósea más recientes.

En el primer estado de curación, el modelo contó con 467 elementos de contorno y con 10 puntos internos por región. Todas las áreas alrededor de las superficies endosteal (zona interna adyacente a la médula) y periosteal (zona más externa a la capa cortical) mostraron valores bajos de deformación (Figura 9a). Tanto en el eje cortical donde se inicia el patrón de osificación (Figura 3a, 10a), como en el foco cortical, se encontraron deformaciones importantes en ambas direcciones. Durante los primeros estados de la consolidación, el proceso de diferenciación tisular origina matrices con marcadas diferencias en sus propiedades. El tejido granular, predominante en la zona del callo, es un material con poca rigidez, razón por la cual se evidencian altas deformaciones y presiones moderadas en las interfaces con el hueso cortical, el cual se asume intacto a lo largo de la sección que define al patrón de osificación (Figura 3a).

En el segundo estado de curación, el modelo contó con 498 elementos y 10 puntos internos por región. Durante este estado se encontraron bajas deformaciones en la zona del nuevo callo en formación (Figura 9b), producto de la osificación intermembranosa y en la superficie periférica recientemente formada (Figura 10b: último segmento "OI"). El nivel de deformación (mayormente positivo) presente se asocia con la expansión de volumen necesaria durante la proliferación y diferenciación de células óseas que tiene lugar en este estadio. Condiciones similares se encontraron en pequeñas áreas cercanas al periosteo (Figura 10b: primer segmento "OI") y al endosteo. Los valores encontrados en el segmento restante a lo largo del patrón de osificación son producto del encuentro de los frentes intermembranoso y endocondral.

En el tercer estado, se utilizó un modelo con 564 elementos lineales. Se encontraron valores de deformación bajos en la parte más periférica del callo periosteal y en toda la región endosteal (Figura 9c: segmento "OI"). En este último estado, se mantuvieron deformaciones a compresión en dirección axial, predominante altas alrededor en el foco cortical. Este comportamiento se presume asociado a la paulatina homogeneización de las propiedades mecánicas.

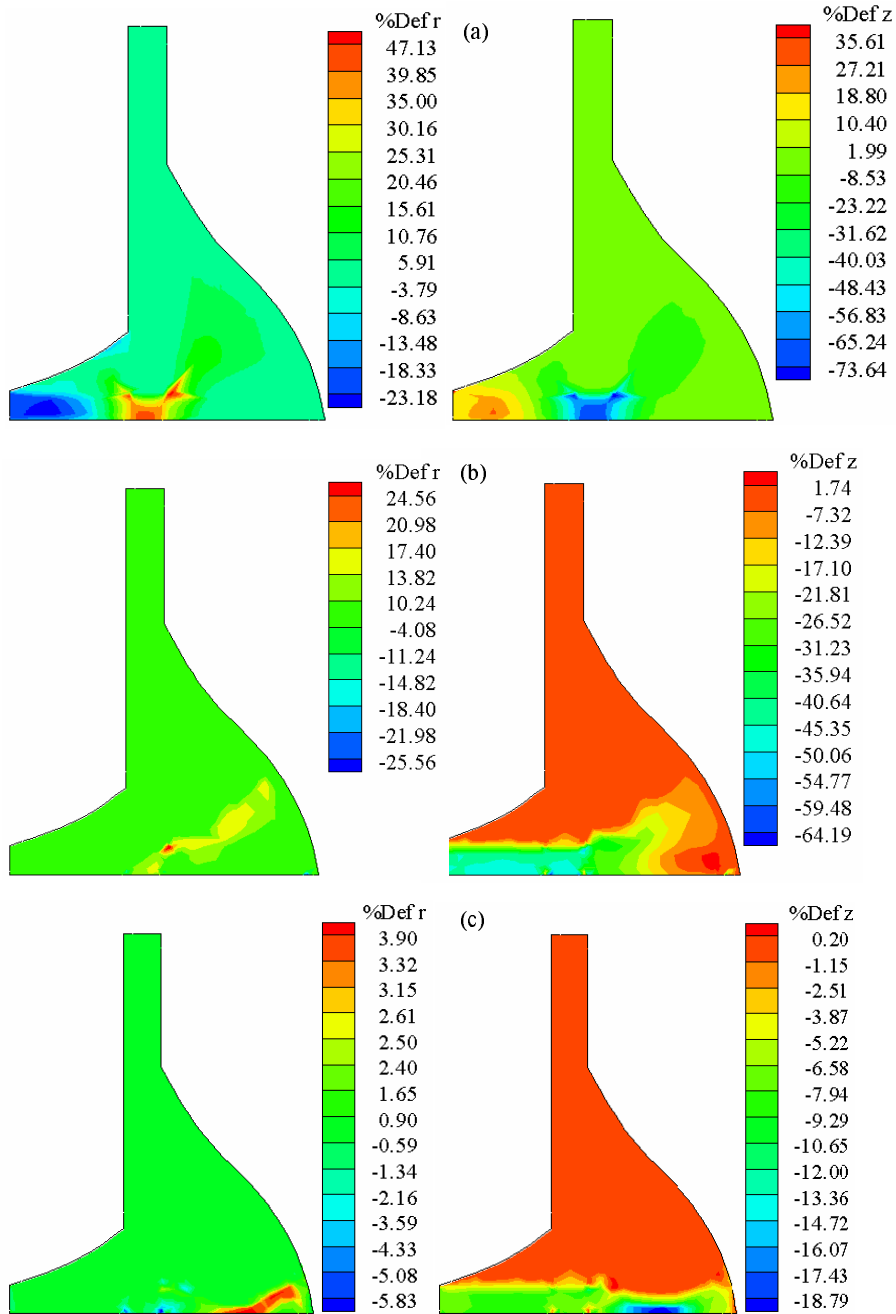


Figura 9. Distribución del campo de deformaciones en dirección radial y axial respectivamente, obtenidos a través de análisis BEM: a) Primer estado de curación (1 semana). b) Segundo estado de curación (4 semanas). c) Tercer estado de curación (8 semanas). Deformaciones negativas implican disminución en una dirección determinada (reducción) y deformaciones positivas, un incremento

Estos resultados parecen apoyar las observaciones hechas por varios investigadores que, mediante la implementación de otros modelos matemáticos más sofisticados de regeneración ósea, sostienen que el proceso intermembranoso de formación ósea (OI) está relacionado con los estados de bajas deformaciones en un rango fisiológico (Figuras 10a y 10b), mientras que en las regiones de altas deformaciones, el tejido primario suele ser el conectivo o fibrocartilago durante las primeras etapas, propicio para la estimulación del proceso endocondral.

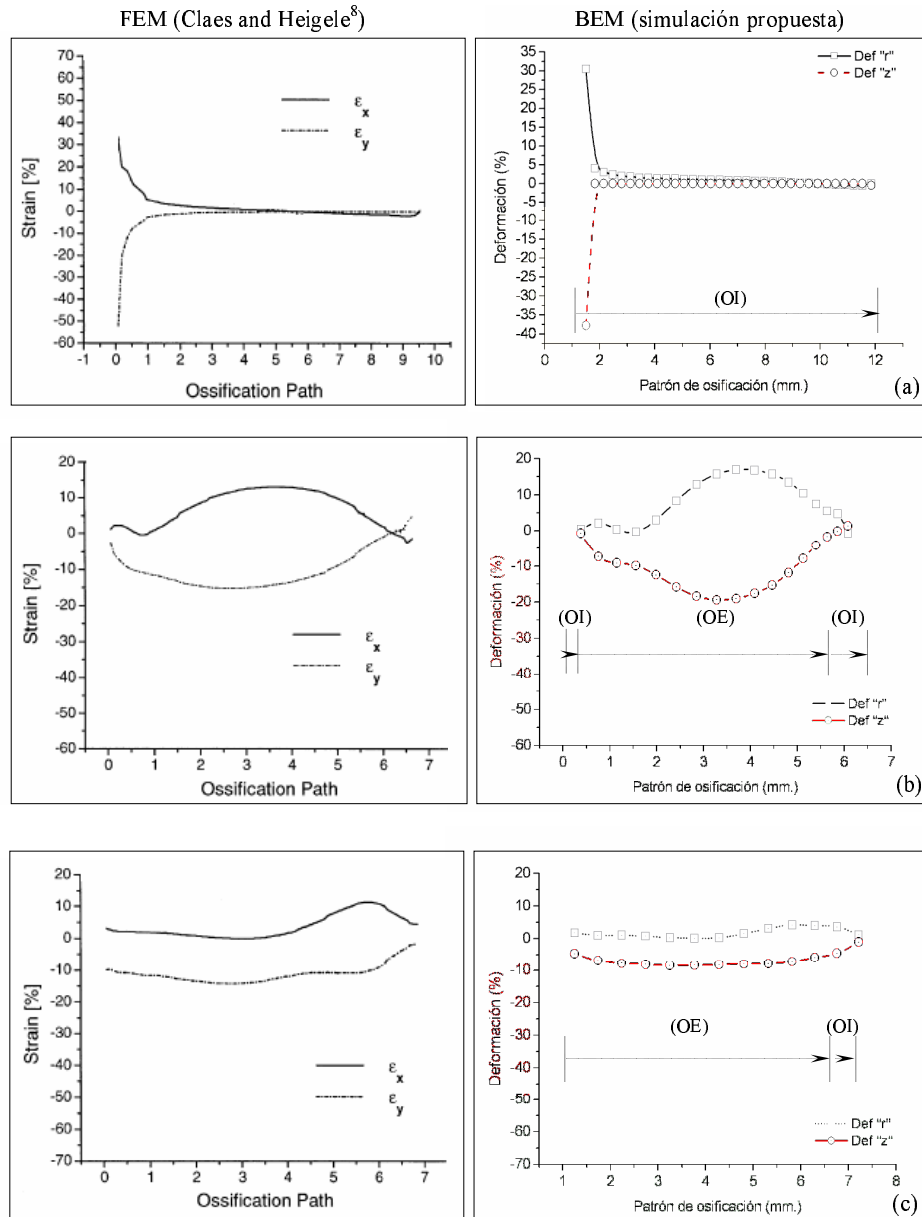


Figura 10. Comparación entre las deformaciones calculadas numéricamente a través de FEM y BEM en dirección radial y axial, a lo largo de la superficie de osificación (ver Figuras 3a, 3b y 3c): a) 1 semana, b) 4 semanas, c) 8 semanas. (OI) osificación intermembranosa $\epsilon < \pm 5\%$, (OE) osificación endocondral $\epsilon < \pm 20\%$

Refiriéndose a los resultados obtenidos en forma general, los valores positivos de deformaciones reportados se asocian comúnmente con la formación de tejido. En general, los rangos obtenidos fueron similares a los mostrados en la Figura 4, comparando la distribución histológica de tejidos *In vivo* con los valores numéricos obtenidos por FEM y BEM. En tal sentido, esta parte del trabajo, además de ratificar cualitativamente los rangos de deformaciones asociados con los tejidos más importantes (de acuerdo a la hipótesis asumida), permitió establecer numéricamente nuevos valores en las deformaciones, asumiendo materiales con comportamiento elástico-lineal y manteniendo los valores límites comparativos reportados en la literatura¹⁰.

Durante las primeras semanas del proceso de curación, debido a la gran diferencia de rigideces entre las regiones y a la no linealidad presente, la aplicación de modelos lineales como una ley de comportamiento representan una simplificación importante. Muchos de los modelos mecanobiológicos existentes han evolucionado hacia el uso de teorías más sofisticadas (visco-elasticidad, poro-elasticidad, hiper-elasticidad lineal, etc.) que intentan simular lo más preciso posible el proceso y sus propiedades mecánicas, partiendo de formulaciones cuyas variables suelen asumirse como homogéneas e isótropas.

Sin embargo, en base a las condiciones de contorno impuestas en el modelo experimental y al pequeño y estricto rango de deformación axial controlado por el sistema externo de rigidización (Claes *et al.*⁸), se decidió implementar la ley de Hooke como primera aproximación, para calibrar el nuevo método numérico y adecuar el mallado. Según los resultados reportados podemos establecer de manera conservadora, que un análisis elástico-lineal puede ser capaz de reportar valores razonablemente precisos dentro del intervalo de deformaciones entre - 20 % y 20 %. Fuera de este rango, los resultados son más sensibles a la ley de comportamiento que determine el fenotipo de otros tejidos y su relación entre ellos.

Está bien documentado que durante el proceso de diferenciación de tejidos, el callo no solo cambia su rigidez y densidad celular, sino que también cambia su forma geométrica^{1,29}. Tales cambios en la geometría fueron despreciados, al igual que una descripción detallada de los mecanismos celulares inherentes, los cuales no fueron estudiados explícitamente. Sin embargo, el hecho de que la simulación de este modelo cuente con propiedades medidas directamente *In vivo*, le otorga hoy en día, un grado de aceptación importante y vigencia dentro de la comunidad científica dedicada a la simulación de este tipo de fenómenos.

La nueva aplicación descrita a continuación, permitirá ampliar la comparación de los resultados obtenidos hasta ahora con modelos de callo óseo más recientes, y que utilizan ampliamente la teoría poroelástica como medio de cálculo de variables mecánicas principalmente.

Simulación numérica en un medio óseo poroelástico

En esta sección, se implementó la teoría de consolidación como un medio alternativo para la simulación numérica del proceso de diferenciación tisular.

El análisis de este modelo se realizó considerando nuevamente una deformación inicial del 31 % (Figura 5a). El desplazamiento prescrito es impuesto en el extremo superior de la zona cortical. Los elementos situados sobre el eje radial están restringidos de movimiento en dirección axial, mientras que aquellos dispuestos sobre el eje “z”, poseen restricción total en dirección radial. Ambos grupos de elementos poseen condición de flujo nulo ($\bar{q} = 0$).

Los análisis realizados se basaron en los modelos utilizados previamente para los análisis elásticos. Por el hecho de haber implementado la versión desacoplada de la teoría poroelástica, es necesario contar con las presiones de poro (θ) como condición de contorno adicional en cada caso estudiado (Figura 11). Esta data (consecuencia de la variación de la deformación en el tiempo) fue extraída directamente del modelo de Claes and Heigele¹⁰ para simular adecuadamente el efecto producido por esta variable en el campo de deformaciones y en cálculo del resto de las presiones de fluido en las interfaces del modelo.

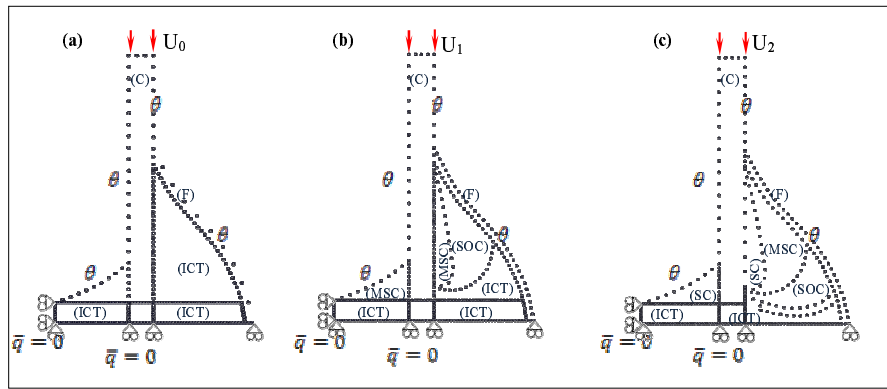


Figura 11. Discretización y condiciones de contorno para el análisis poroelástico: a) 1 semana, b) 4 semanas, c) 8 semanas

Cálculo del campo de deformación global y presión de poro

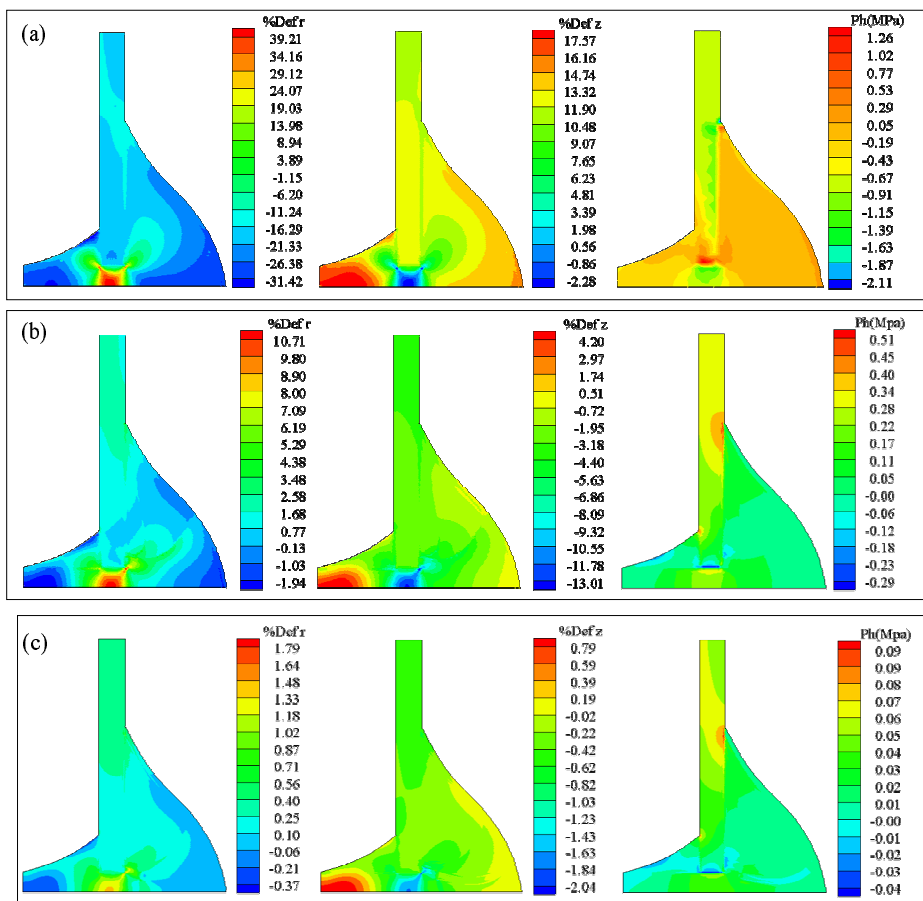


Figura 12. Distribución del campo de deformaciones (en dirección radial y axial respectivamente) y presiones de poro, obtenidos a través del análisis poroelástico BEM: a) Primer estado de curación (1 semana). b) Segundo estado de curación (4 semanas). c) Tercer estado de curación (8 semanas). Deformaciones negativas implican disminución en una dirección determinada (reducción) y deformaciones positivas, un incremento. Presiones de poro negativas implican una reducción de volumen

Cálculo del campo de deformación a lo largo del patrón de osificación

La comparación entre la orientación típica de formación ósea intermembranosa y/o endocondral, y las deformaciones y presiones presentes, permiten describir las nuevas condiciones mecánicas para el frente de osificación ósea, basados en la teoría poroelástica. Los segmentos que definen el avance del proceso se basan en el patrón mostrado en la Figura 3.

Discusión de resultados en medio poroelástico

Los modelos numéricos más recientes^{23,24,29} presentan una marcada tendencia hacia el estudio del comportamiento de los tipos de células presentes de acuerdo a sus respectivas hipótesis. Sin embargo, aunque sus resultados han contribuido categóricamente en la comprensión de un fenómeno biológico tan complejo como lo es la formación del callo óseo, no se evidencia un análisis relacionado con la evolución de las propiedades poroelásticas de los materiales (tales como el módulo de elasticidad y la relación de Poisson) que forman parte de la función estímulo propuesta, y que ayudaría a sustentar aún más los resultados reportados por estos modelos en relación al comportamiento de las células, el cual es dependiente del estímulo que a su vez, suele ser función del estado de deformación y las tensiones presentes, entre otros.

A pesar de que el trabajo realizado por Claes and Heigele¹⁰ es una de las referencias obligada en estos modelos, la comparación con éste es únicamente cualitativa, sin poder comprobar, en base a la variación de las propiedades mecánicas y a las relaciones constitutivas que se utilizaron para la verificación de las hipótesis asumidas, los rangos del estímulo asociado con cada tipo de tejido.

En tal sentido, se propone replantear las correlaciones entre las condiciones mecánicas y los tipos de tejidos presentes en el callo, ahora calculadas enteramente utilizando la poroelasticidad como teoría constitutiva. De esta manera se pone a disposición una alternativa para comparar de manera indirecta, la variación en el tiempo de la función que define a las propiedades mecánicas más importantes en modelos recientes.

Para la realización de los análisis, se tomaron las mismas consideraciones descritas para los modelos de elementos de contorno utilizados en los análisis elásticos, incluyendo ahora dentro de los modelos, la presión de poro como condición de contorno (Figura 11). Por otra parte, se aumentó el número de puntos internos por región (40 puntos en promedio) para garantizar una mejor interpolación de las variables en el post proceso.

De los resultados obtenidos, la primera observación importante es que el proceso de diferenciación de tejidos es sensible a la ley de comportamiento asumida, sobre todo en los primeros momentos del proceso³⁰. Los valores obtenidos en las deformaciones (afectados directamente por el exceso de presión de poro en condición húmeda) no simulan correctamente la distribución espacial y temporal de los tipos de tejidos en el callo, sí se pretende mantener los rangos propuestos en la Figura 3.

Examinando el proceso regulatorio simulado mediante poroelasticidad y apoyados en los resultados obtenidos, encontramos a partir de la cuarta semana, diferencias importantes en el estímulo biofísico en comparación con los resultados obtenidos en los análisis elásticos. Sin embargo, inicialmente el frente de osificación (Figura 13a) muestra una deformación considerable acompañada por presiones altas y a medida que pasa el tiempo, estas presiones se tornan moderadas debido principalmente al proceso de formación ósea que tiene lugar. Estas observaciones son apoyadas por los resultados de Lacroix and Prendergast (2002) que predicen valores considerables de deformaciones en corte y flujo alrededor de la zona en estudio. El flujo de fluido en este punto se presume asociado a las presiones negativas obtenidas en los resultados mostrados en la Figura 13a.

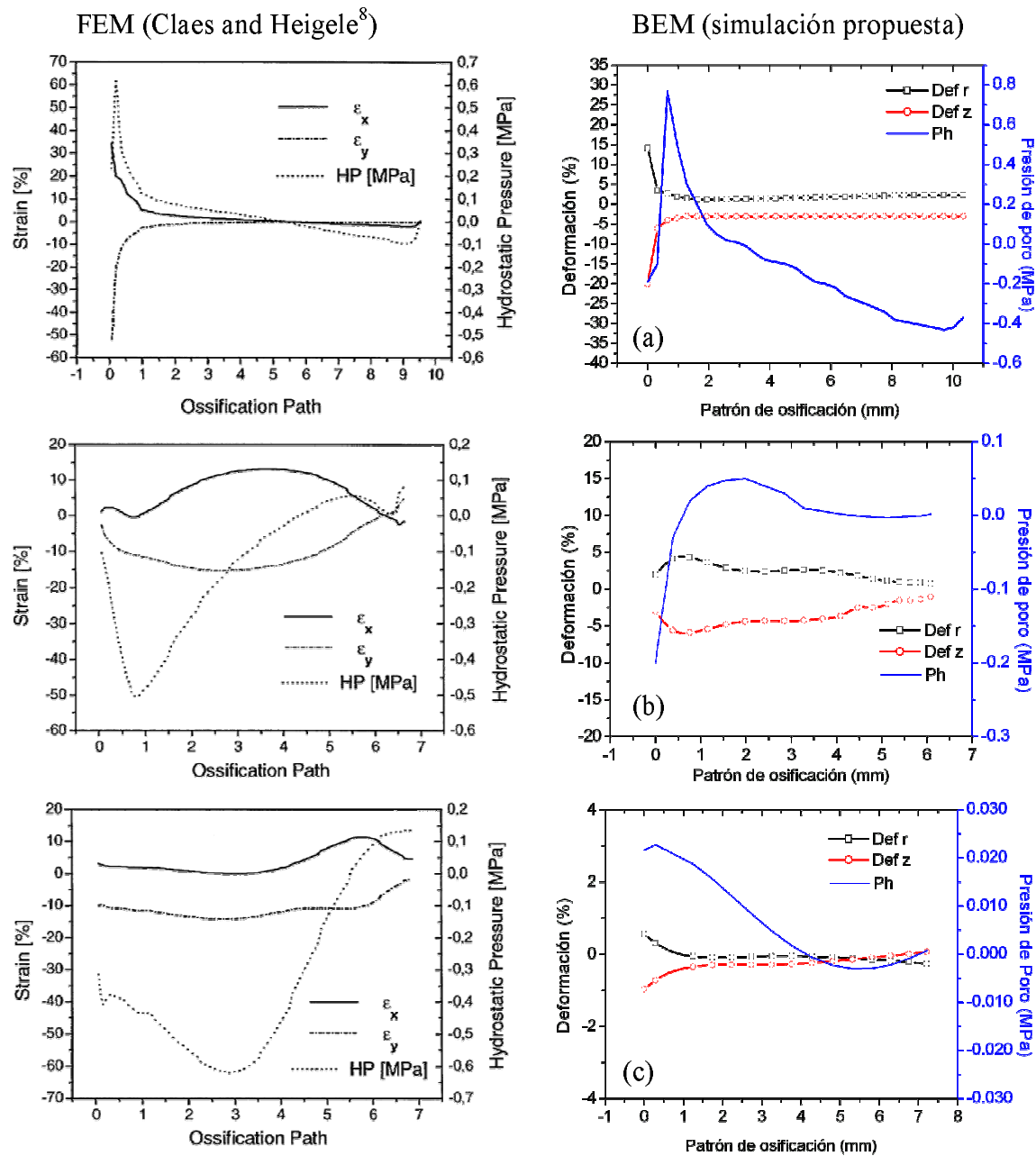


Figura 13. Comparación entre las deformaciones calculadas numéricamente a través de FEM (Claes and Heigele⁸) y BEM (poroelástico) en dirección radial y axial, a lo largo de la superficie de osificación. a) 1 semana, b) 4 semanas, c) 8 semanas. (OI) osificación intermembranosa, (OE) osificación endocondral

Usando la presión de poro como parte de la señal de diferenciación (estímulo), el primer estado logró simular condiciones para la osificación alrededor del periostio y en la mayor parte del endósteo: bajas presiones y valores moderados de deformaciones (Figuras 12a y 13a), a diferencia de valores más elevados en las deformaciones reportados en los análisis elásticos (Figuras 9a y 10a). En la zona del foco de fractura se presentan altas presiones a compresión, lo cual estimula la formación ósea por vía secundaria (endocondral), moderándose éstas a medida que nos acercamos hacia la periferia del foco periosteal, estado característico de los tejidos conectivos.

A partir de la cuarta semana, las presiones a lo largo del patrón de osificación (Figura 13b) evoluciona de manera distinta a las tensiones hidrostáticas reportadas por Claes and Heigele¹⁰. Se evidencia un incremento en las presiones a medida que nos acercamos a la periferia del callo en formación. A este nivel, encontramos una matriz formada mayormente por cartílago producto del avance de la osificación endocondral y del proceso de diferenciación celular hacia osteoblastos inmaduros (formación de hueso inmaduro), por lo que una expansión de volumen tiene lugar para albergar a las nuevas células. Por otro lado, los valores de deformaciones reportados (valor absoluto) son pequeños relativos a los obtenidos en los análisis elásticos (Figura 13b), lo cual continua siendo propicio para la proliferación de condrocitos (tejido cartilaginoso) y subsecuente osificación.

A medida que el frente de osificación avanza (estados 1, 2 y 3) las deformaciones producto del análisis poroelástico presentan un incremento moderado que se atenúa a medida que los frentes de osificación (intermembranosa y endocondral) se relacionan y dan lugar a nuevos tejidos (Figuras 13b y 13c).

Por otra parte, el hecho de que las presiones de poro usadas como condición de contorno correspondan a estados poroelásticos transitorios, implica que los análisis realizados con elementos de contorno (en régimen estacionario) simulan esta condición en cada estado del proceso estudiado, por lo que se puede suponer que la diferencia en el estado de tensiones entre el poro y su entorno aún no ha alcanzado la condición de equilibrio. En general, y a pesar de que cualitativamente las relaciones entre las deformaciones se mantienen (en comparación con la Figura 4), los valores obtenidos se vieron influenciados en gran medida por la situación descrita anteriormente. Esto es particularmente visible en la región del foco cortical (Figura 12), donde presiones positivas moderadas contribuyen con la disminución (en valor absoluto) en las deformaciones, si comparamos éstas con los resultados de los análisis elásticos.

A medida que el exceso de presión disminuya (estado de equilibrio), los desplazamientos serán cada vez más dependientes de las propiedades de la matriz sólida cuyos tejidos están en formación, tal como ocurre en un análisis puramente elástico, razón por la cual, y a medida que el proceso de consolidación evoluciona, la deformación interfragmentaria se hará cada vez menor debido al aumento de las propiedades mecánicas.

Aunque los resultados obtenidos por Lacroix and Prendergast³¹ toman como variables principales las deformaciones de corte y el nivel de flujo de fluido intersticial, logran obtener una distribución de tejidos que de manera cualitativa podemos asociar a los niveles de deformaciones y presiones reportados por los análisis poroelásticos en este trabajo: altos niveles del estímulo biofísico favorece el proceso de diferenciación de células madres en fibroblastos, mientras que un valor bajo de este estímulo favorece la diferenciación en osteoblastos. En su estudio, estos autores relacionan la disminución de volumen (reabsorción) con bajos estados de deformación y bajos niveles de flujo de fluido. Asumen que altas deformaciones de corte y alto flujo de fluido estimulan la formación de tejido conectivo fibroso, mientras que bajos niveles simulan formación de cartílago y osificación paulatina. Esto último se evidencia en la Figura 12, característico de un proceso de osificación avanzado en la zona del callo externo.

En base al análisis anterior, se propone para efectos comparativos, una nueva correlación entre el patrón de diferenciación de tejidos y las condiciones mecánicas en modelos poroelásticos de callo óseo (Figura 14), siguiendo los eventos biológicos asociados.

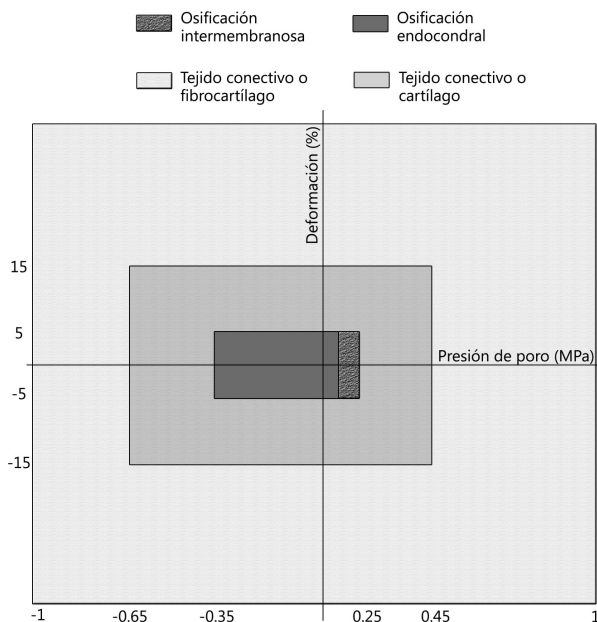


Figura 14. Nueva correlación poroelástica entre las condiciones de contorno y los tipos de tejido en el callo óseo. La incorporación del tejido cartilaginoso se basó en las observaciones hechas por Lacroix and Prendergast²⁵

Bajo las condiciones de contorno asumidas, la simulación del patrón de diferenciación de tejidos se describe como sigue: primeramente, la osificación intermembranosa ocurre a nivel proximal y distal del sitio de fractura donde predomina un tejido conectivo de bajas propiedades, con una paulatina aparición de fibrocartilago entre la primera y la cuarta semana, evidenciado en la Figura 13b por el aumento de la presión. A continuación el proceso de osificación endocondral toma lugar en el callo externo hasta que las propiedades de los tejidos permiten suficiente estabilización para permitir la formación de puentes óseos, atenuándose las deformaciones hacia la zona de la periferia (Figuras 13b y 13c). Estos puentes generan cierto nivel de transferencia de carga a través de la zona periférica, lo que reduce las deformaciones en el sitio de la fractura (por lo que la condición de contorno prescrita cambia), mejorando las condiciones para una eventual diferenciación en cartilago que posteriormente estimulará el avance de la osificación endocondral. Una vez que esto ocurre, el nivel de transferencia de carga es cada vez más importante debido al incremento y homogeneización de las propiedades, permitiendo que las deformaciones remanentes en el callo externo disminuyan aún más debido al incremento en la rigidez de la matriz sólida y el decrecimiento de las presiones hidrostáticas.

CONCLUSIONES

El trabajo acá presentado representa contribución importante al desarrollo y aplicación del método de los elementos de contorno (BEM) a problemas simulados axialmente simétricos. En especial, la aplicación de este tipo de herramienta para establecer el entorno mecánico asociado con la diferenciación tisular que se origina durante el proceso de curación de fracturas (consolidación) en huesos largos, ha resultado ser de utilidad.

Definitivamente métodos como elementos finitos (FEM) y diferencias finitas (MDF) son las herramientas por excelencia, pero sabemos que las soluciones fundamentales y/o metodologías alternas necesarias para que BEM pueda ser aplicado, incluso en la simulación de variables biológicas complejas, existen, tal y como se comentó al inicio de este trabajo. El problema principal radica en su implementación y tratamiento. Es laborioso el proceso de adecuar los códigos necesarios hasta obtener una herramienta numérica propicia para poder establecer, de manera conservadora, un modelo de callo óseo acorde con las hipótesis actuales, pero los resultados acá obtenidos sustentan la posibilidad de que a mediano y largo plazo, modelos más completos de callo óseo puedan ser implementados basados en un método de frontera.

Los complejos procesos biológicos que se desarrollan a nivel celular y en un caso macroscópico a nivel de los distintos tipos de tejidos presentes durante las primeras etapas del proceso de curación (hematoma, tejido conectivo y cartílago) y la variación geométrica producto de la formación del callo, presentan un comportamiento no lineal, anisótropo y en pocos casos axialmente simétrico. En tal sentido, el uso de un código BEM cuyas soluciones fundamentales solo toman en cuenta condiciones de contorno simétricas, en un medio homogéneo e isótropo y con un rango lineal de comportamiento, es una simplificación importante asumida en el desarrollo de este trabajo.

En base a observaciones recientes, el hecho de que la geometría se simule simétrica respecto a un eje, no implica necesariamente que las condiciones de contorno también lo sean. De hecho, tal y como se comentó en el desarrollo de este trabajo, para el caso del método de los elementos de contorno, existe al menos una metodología conocida para incorporar esta nueva condición dentro de las soluciones fundamentales, lo que representaría un avance en la optimización del código.

Sin embargo, en base a los resultados obtenidos a través de otros modelos mecanobiológicos, la simulación completamente simétrica aún permite extraer observaciones importantes a medida que el entendimiento sobre este fenómeno evoluciona, razón por la cual, y para efectos comparativos, se decidió utilizar para el cálculo estructural únicamente condiciones de contorno simétricas, obteniendo resultados que logran complementar los criterios clásicos relacionados con los estados mecánicos durante la diferenciación tisular.

El empleo de análisis estático y en régimen estacionario, también es un modo de simplificar el comportamiento del fenómeno. Sin embargo, para el estudio de tres estados del proceso de consolidación bien diferenciados entre sí, parece adecuada la aplicación de estas condiciones, debido a que las propiedades y condiciones de contorno no son dependientes directamente de su evolución en el tiempo y fueron medidas a través de ensayos *In vivo*.

La formulación para BEM de la teoría poroelástica desacoplada de Biot, orientada a la resolución de problemas cuasiestáticos (sin considerar términos dinámicos), fue implementada en este trabajo para el cálculo de la función estímulo. La principal ventaja de poder analizar el proceso de difusión del fluido por separado, durante el análisis del problema de formación del callo óseo, radica en la posibilidad de expresar la ecuación diferencial en función de la evolución del contenido de fluido. Esto es muy conveniente por ejemplo, cuando modelos evolutivos logren simular la respuesta mecanosensorial del hueso. Por otro lado, el hecho de contar con un medio para análisis de difusión no dependiente dentro del mismo código BEM, otorga al modelo acá presentado la posibilidad de incorporar, dentro de un esquema de análisis cuasiestático, una herramienta que permita predecir los cambios en la geometría durante la formación del callo óseo. A pesar de las bondades de la formulación desacoplada, su implementación también presenta una desventaja, y es el hecho de requerir como condición de contorno adicional, la presión de poro durante la realización de un análisis estático.

Vale la pena destacar la capacidad para el análisis de problemas con múltiples regiones del código utilizado, lo cual permitió trabajar con una distribución heterogénea de propiedades dentro del modelo. Sin embargo, el grado de heterogeneidad requerido para la implementación de modelos mecanobiológicos más complejos es mucho mayor, por lo que el código requiere de la incorporación de metodologías adicionales para el tratamiento “punto a punto” de las propiedades dentro de una misma región del problema.

Es importante notar que el comportamiento lineal y el hecho de asumir una teoría basada en pequeñas deformaciones, no suelen ser características del estudio de problemas biológicos, sobre todo cuando son dependientes del tiempo, donde los primeros estadios del proceso presentan deformaciones importantes. Ahora bien, siempre habrá un rango de deformaciones y presiones tal que las ecuaciones constitutivas presentadas puedan ser aplicadas a un problema poroelástico. De manera similar existirá un rango de valores para la variación del flujo másico de fluido, tal que Kf aún pueda ser considerado como constante. Sin embargo, la validez de esos rangos depende de la interacción entre los componentes del material poroso, de los parámetros que se tengan a disposición y del periodo de tiempo que se considere para su aplicación y análisis, relaciones que no han sido clarificadas totalmente a saber por los autores.

Por ahora, debido a la heterogeneidad de la matriz ósea y a la escala de porosidades presentes en el hueso, se dificulta la determinación experimental de dichos parámetros. Sin embargo, algunos investigadores han logrado estimar el conjunto de constantes necesarias para una descripción isótropa completa a nivel de las porosidades más importantes presentes en los tejidos óseos. Estos datos han permitido la implementación de la teoría poroelástica dentro de los modelos más recientes de regeneración ósea.

Uno de los aportes de este trabajo fue entonces complementar las conclusiones hechas por Claes and Heigele¹⁰, mediante el uso de la poroelasticidad para la obtención del estado mecánico inherente al proceso en estudio. De esta manera, existen nuevos rangos de valores que permitirían a los modelos actuales analizar la evolución de propiedades tales como el módulo de elasticidad (E) y relación de Poisson (ν), en base al estado de deformación presente en el modelo.

AGRADECIMIENTOS

- Proyecto ALFA II-0357-FA-FCD-FI (ELBEnet).
- División de Soldadura y Fractomecánica, Instituto Tecnológico de Materiales (INTE-MA), Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, Argentina.
- Instituto Nacional de Bioingeniería (INaBio), Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT), Caracas, Venezuela.
- Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH), Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

REFERENCIAS

- 1 D. Ambard, P. Swider, “A predictive mechano-biological model of the bone-implant healing”, *European Journal of Mechanics A/Solids*, Vol. **25**, pp. 927-937, (2006).
- 2 W. Annicchiarico, G. Martínez, M. Cerrolaza, “Boundary elements and β -spline surface modeling for medical applications”, *J. Applied Mathematical Modelling*, Vol. **31**, N° 2, pp. 194-208, (2007).

- 3 J. Balas, J. Sládek, V. Sládek, “*Stress analysis by boundary element method*”, 1th Edition, Amsterdam, Elsevier, (1989).
- 4 G. Beer, “*Programming the boundary Element Method: An introduction for Engineers*”, John Wiley & Sons, Ltd. U.K, 1th edition, (2001).
- 5 J.C. Banzo, “Simulación del comportamiento del fémur distal y de la rodilla humanos en estado sano y tras implantación protésica”, Tesis Doctoral, Universidad de Zaragoza - España, (2001).
- 6 A. Bailón-Plaza, M.C.H. Van der Meulen, “Beneficial effects of moderate, early loading and adverse effects of delayed or excessive loading on bone healing”, *Journal of Biomechanics*, Vol. **36**, pp. 1069-1077, (2003).
- 7 C.A. Brebbia, J. Dominguez, “*Boundary element: an introductory course*”, 2nd Edition, Computational Mechanics Publications, U.K., (2003).
- 8 L.E. Claes, H.-J. Wilke, P. Augat, S. Rübenacker, K. J. Margevicius, “Effect of dynamization of gap healing of diaphyseal fractures under external fixation”, *Clinical Biomechanics*, Vol. **10**, N° 5, pp. 227-234, (1995).
- 9 L. Claes, P. Augat, H.J. Wilke, “Influence of size and stability of the osteotomy gap on the success of fracture healing”, *J. Orthop. Res.*, Vol. **15**, N° 4, pp. 577-584,(1997).
- 10 L.E. Claes, C.A. Heigele, “Magnitudes of local stress and strain along bony surfaces predict the course and type of fracture healing”, *Journal of Biomechanics*, Vol. **32**, pp. 255-266, (1999).
- 11 L. Claes, “Biomechanics of fracture healing”, *Journal of Biomechanics*, Vol. **39** N° 1, S8-S9,(2006).
- 12 M. Comin, J. Peris, J. Prat, J. Dejoz, J. Hoyos, “*Biomecánica de la Fractura Ósea y Técnicas de Reparación*”, Instituto de Biomecánica de Valencia, Publicaciones IBV, España (1999).
- 13 M. Comín, “Caracterización biomecánica de fracturas: Desarrollo y validación de un modelo evolutivo de callo de fractura”, Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Valencia, España, (2000).
- 14 S.C. Cowin, “*Bone Mechanics handbook*”, 2nd Edition, CRC Press LLC, Florida (2001).
- 15 E.Y.S. Chao, N. Inoue, “Biphsical stimulation of bone fracture repair, regeneration and remodelling”, *European Cells Materials*, Vol. **6**, pp. 72-85, (2003).
- 16 G.F. Dargush, P.K. Banerjee, “A time domain boundary element method for poroelasticity”, *International Journal for Numerical Methods in Engineering*, Vol. **28**, pp. 2423-2449, (1989).
- 17 G.F. Dargush, P.K. Banerjee, “Time dependent axisymmetric thermoelastic boundary element analysis”, *International Journal for Numerical Methods in Engineering*, Vol. **33**, pp. 695-717, (1992).
- 18 G.F. Dargush, P.K. Banerjee, “A boundary element method for axisymmetric soil consolidation”, *Int. J. Solids Structures*, Vol. **28**, pp. 897-915, (1991).
- 19 E. Divo, A.J. Kassab, “A generalized boundary integral equation for axisymmetric isotropic media”, *XIX International Conference on the boundary Element Method*, Italia, (1997).
- 20 G. N. Duda, H. Kirchner, H-J. Wilke, L. Claes, “A method to determine the 3-D stiffness of fracture fixation devices and its application to predict interfragmentary movement”, *Journal of Biomechanics*, Vol. **31**, pp. 247-252, (1998a).
- 21 G.N. Duda, K. Eckert-Hübner, R. Sokiranski, A. Kreutner, R. Miller, L. Claes, “Analysis of inter-fragmentary movement as a function of musculoskeletal loading conditions in sheep”, *Journal of Biomechanics*, Vol. **31**, pp. 201-210,(1998b).

- 22 L.A. De Lacerda, L.C. Wrobel, "Frictional contact analysis of coated axisymmetric bodies using the boundary element method", *Journal of strain analysis*, Vol. **35**, N° 5, pp. 423-440, (2000).
- 23 D.R. Epari, W.R. Taylor, M.O. Heller, G.N. Duda, "Mechanical conditions in the initial phase of bone healing", *Clinical biomechanics*, Vol. **21**, pp. 646-655, (2006).
- 24 J.M. García, J.H. Kuiper, M. Gómez, M. Doblaré, J. Richardson, "Computational simulation of fracture healing: Influence of interfragmentary movement on the callus growth", *Journal of Biomechanics*, Vol. **40**, N° 7, pp. 1467-1476, (2007).
- 25 M.J. Gómez, J.M. García-Aznar, J.H. Kuiper, M. Doblaré, "Influence of fracture gap size on the pattern of long bone healing: a computational study", *Journal of Theoretical Biology*, Vol. **235**, pp. 105-119, (2005).
- 26 Y. González , A. Cisilino , M. Cerrolaza, "Aplicación del método de elementos de contorno a problemas con simetría axial: implementación de la formulación para elasticidad lineal", *XV Congreso sobre Métodos Numéricos y sus Aplicaciones ENIEF 2006*, Santa Fé, Argentina, (2006).
- 27 Y. González, A. Cisilino, M. Cerrolaza, "Aplicación de la ecuación integral de contorno para elasticidad y termoelasticidad", *Boletín Técnico del IMME*, Vol. **45**, N° 3, (2007).
- 28 E. Graciani, V. Mantic, F. Paris, A. Blazquez, "Weak formulation of axisymmetric frictionless contact problems with boundary elements Application to interface cracks", *J. Comp. Struc.*, Vol. **83**, pp. 836-855, (2005).
- 29 <http://www.vetmed.ufl.edu/sacs/notes/Cross-Healing/>.
- 30 H. Isaksson , W. Wilson , C. Van Donkelaar, R. Huiskes , K. Ito, "Comparison of biophysical stimuli for mechano-regulation of tissue differentiation during fracture healing", *Journal of Biomechanics*, Vol. **39**, pp. 1507-1516, (2006).
- 31 P. Klein, H. Schell , F. Streiparth, M. Heller, J. Kassi, F. Kandziora, H. Bragulla, N.P. Haas, G.N. Duda, "The initial phase of fracture healing is specifically sensitive to mechanical conditions", *Journal of Orthopaedic Research*, Vol. **21**, pp. 662-669, (2003).
- 32 D. Lacroix, P.J. Prendergast, "A mechano-regulation model for tissue differentiation during fracture healing: analysis of gap size and loading", *Journal of Biomechanics*, Vol. **35**, pp. 1163-1171, (2002).
- 33 G. Martínez , J.M. García Aznar, M. Doblaré , M. Cerrolaza, "External bone remodeling through boundary elements and damage mechanics", *Mathematics and Computers in Simulation*, Vol. **73**, pp. 183-199, (2006).
- 34 Z.H. Qiu, L.C. Wrobel, H. Power, "Boundary element approach to mass and charge transport in electrochemical cells", *Engineering Analysis with Boundary Elements*, Vol. **15**, pp. 299-312, (1995).
- 35 A.D. Richard, F. Carano, F. Ellen, "Angiogenesis and bone repair", *Drug discovery today*, Vol. **8**, N° 21, pp. 980-989, (2003).
- 36 M. Zerroukat, H. Power, L.C. Wrobel, "Heat and solute diffusion with a moving interface: a boundary element approach", *Int. J. Heat Mass Transfer*, Vol. **41**, N° 16, pp. 2429-2436, (1998).