

## MODELACIÓN BIOLÓGICA PARA EL DISEÑO, SIMULACIÓN Y PROCESAMIENTO DE ANDAMIOS PARA REGENERACIÓN ÓSEA POR IMPRESIÓN 3D

*Data de aceite: 01/11/2023*

### **Rebeca Franco**

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Físico Matemáticas. Av. San Claudio y 18 sur C. U. Col. San Manuel, Puebla, Pue., México, C. P. 72570.  
<https://orcid.org/0000-0002-4000-8547>

### **Marco A. Morales**

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ingeniería Química. Av. San Claudio y 18 sur C. U. Col. San Manuel, Puebla, Pue., México, C. P. 72570.  
<https://orcid.org/0000-0002-2361-9645>

### **José I. Rodríguez-Mora**

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ingeniería. Boulevard Valsequillo, S/N, C. U. Col. San Manuel, Puebla, México, C. P. 72570.  
<https://orcid.org/0000-0003-0029-4128>

### **Ricardo Agustín-Serrano**

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Físico Matemáticas. Av. San Claudio y 18 sur C. U. Col. San Manuel, Puebla, Pue., México, C. P. 72570.  
<https://orcid.org/0000-0002-6468-7548>

### **Ignacio Muñoz Máximo**

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Dirección de Innovación y Transferencia de Conocimiento. Av. San Claudio y 18 sur C. U. Col. San Manuel, Puebla, Pue., México, C. P. 72570.  
<https://orcid.org/0000-0002-1252-0527>

**RESUMEN.** La ingeniería de tejidos es un campo de investigación multidisciplinario que involucra biología celular y molecular, ciencias de los materiales, bioingeniería, medicina, entre otras, que apuntan a restituir o reemplazar tejidos. Los enfoques predominantes incluyen el diseño y obtención de andamios que proporcionan el soporte estructural adecuado para el tejido óseo. En el presente trabajo, se propone una extensión del modelo matemático del tipo reacción-difusión propuesto por Svetlana V. Komarova et al. en 2003 de interacciones autocrinas y paracrinas entre osteoblastos y osteoclastos con términos biarmónicos que permite calcular la dinámica celular. Se realizó un estudio detallado de la dinámica y estabilidad del modelo de poblaciones estableciendo los valores de los parámetros de control del modelo propuesto, bajo inestabilidad de Turing y Hopf. El modelo es

resuelto utilizando el método de Euler mejorado y diferencia finita en dos y tres dimensiones. Los resultados numéricos de la simulación computacional describen el proceso de remodelación ósea desde el punto de vista biológico. Posteriormente, mediante la técnica de proceso de diseño matemático y fabricación asistida por impresión 3D (MDP-3DPAM), se obtuvieron andamios que muestran una similitud con el tejido óseo trabecular humano, a base de ácido poliláctico (PLA), los cuales fueron caracterizados mediante pruebas de compresión mecánicas. Encontramos que la resistencia mecánica de nuestros andamios tiene un comportamiento viscoelástico que no se presenta en otros andamios obtenidos de la solución numérica del modelo de Komarova extendido por difusión empleando el mismo método.

**PALABRAS CLAVE:** Remodelación ósea; Modelo matemático; Inestabilidad de Turing; Inestabilidad de Hopf; Andamios; Materiales biocompatibles.

## BIOLOGICAL MODELING FOR THE DESIGN, SIMULATION AND PROCESSING OF SCAFFOLDS FOR BONE REGENERATION BY 3D PRINTING

**ABSTRACT.** Tissue engineering is a multidisciplinary research field that involves cell and molecular biology, material sciences, bioengineering, medicine, among others, that aim to restore or replace tissues. Predominant approaches include the design and procurement of scaffolds that provide adequate structural support for bone tissue. In the present work, an extension of the mathematical model of the reaction-diffusion type proposed by Svetlana V. Komarova et al. in 2003 of autocrine and paracrine interactions between osteoblasts and osteoclasts with biharmonic terms that allow calculating cell dynamics. A detailed study of the dynamics and stability of the population model was carried out, establishing the values of the control parameters of the proposed model, under Turing and Hopf instability. The model is solved using the improved Euler method and finite difference in two and three dimensions. The numerical results of the computational simulation describe the process of bone remodeling from the biological point of view. Subsequently, using the mathematical design process technique and 3D printing-assisted manufacturing (MDP-3DPAM), scaffolds were obtained that show a similarity with human trabecular bone tissue, based on polylactic acid (PLA), which were characterized by mechanical compression tests. We found that the mechanical resistance of our scaffolds has a viscoelastic behavior that does not occur in other scaffolds obtained from the numerical solution of the diffusion-extended Komarova model using the same method.

**KEYWORDS:** Bone remodeling; Mathematical model; Turing instability; Hopf instability; scaffolding; Biocompatible materials.

## 1 | INTRODUCCIÓN

En diversas ocasiones, distintas enfermedades de origen infeccioso, genético, degenerativo, agresiones físicas o químicas pueden dar lugar a una pérdida o alteración de las células de un tejido u órgano. Esta pérdida o daño celular puede llevar a una alteración de la función normal del órgano y, como consecuencia, conducir al desarrollo de enfermedades o secuelas físicas que reducen la calidad de vida de una persona. Por este

motivo, uno de los principales retos de la medicina actual involucra la regeneración total y el restablecimiento de la función normal de los tejidos u órganos. Estos dos objetivos, regeneración y restablecimiento de la función normal de un tejido u órgano dañado, son los fines principales de la medicina regenerativa e ingeniería de tejidos [1-2].

Actualmente la cirugía reconstructiva es el instrumento fundamental para la atención de estos pacientes; la utilización de órganos para trasplante usualmente se ve limitada por la escasez de donantes y el riesgo de transmisión de enfermedades. Esta necesidad de órganos y tejidos condujo a los investigadores a utilizar células para la reconstrucción de estos mismos. Hoy en día científicos de diversas áreas (molecular, celular, biológica) colaboran activamente con ingenieros mecánicos para desarrollar tejidos análogos que permitan a los médicos mejorar, mantener y restaurar la función de un órgano [3].

En el campo de la cirugía reconstructiva, se han generado soluciones basadas en trasplante de tejido xenogénico (origen animal), prótesis y manipulación localizada de sitios de lesión a nivel celular y molecular, en conjunto con los enfoques convencionales de reconstrucción a partir de tejido alogénico (origen en otro paciente humano) y auto génico (origen en el mismo paciente) [4].

La ingeniería de tejidos es un campo de investigación multidisciplinario que involucra biología celular y molecular, ciencias de los materiales, bioingeniería, medicina, entre otras, que apuntan a mejorar o reemplazar funciones biológicas [5]. La ingeniería de tejidos se conecta con la práctica médica mediante terapias basada en células. Los enfoques predominantes incluyen métodos de recolección y expansión de tejidos vivos *in vitro*, así como el diseño de los biomateriales y andamios que proporcionan el soporte estructural adecuado para el tejido de interés.

Uno de los objetivos más importantes de este campo es el diseño de los biomateriales que soporten las células, y de las moléculas de señalización que permitan la regeneración del tejido, el cual lleve a una alternativa de trasplante de órganos y a la posterior reconstrucción de tejidos [6].

Uno de los principales problemas de los materiales utilizados para aplicaciones médicas es el déficit que presentan en cuanto a la analogía de propiedades (microestructura, composición, funcionalidad, biocompatibilidad, etc.) específicas del tejido a sustituir. En cuanto al perfeccionamiento de la estructura y propiedades de estos materiales, la biología matemática puede servir como base fundamental, en donde tomando como base principios de bioquímica, física y fisicoquímica de los sistemas fuera de equilibrio [7-9] presentes en los sistemas biológicos y expresando mediante simulación; a partir de herramientas computacionales, la formación espacio-temporal y la dinámica de estos procesos a partir de por ejemplo, el planteamiento de modelos deterministas de crecimiento [10] que permitan el observar, estudiar e incluso diseñar la formación de tejidos u órganos a partir de la microestructura de la simulación resultante es muy prometedor.

Un área interesante de estudio para la ingeniería de tejidos es el llamado proceso de

remodelación ósea. El remodelado óseo se produce en lugares espacial y temporalmente diferenciados del esqueleto e implica la reabsorción del tejido mineralizado existente por parte de los osteoclastos, seguida de la formación de hueso nuevo por parte de los osteoblastos [7, 11-13]. El modelado matemático de la remodelación ósea se ha centrado en varios aspectos de este proceso. Cada vez más, los datos experimentales sobre los mecanismos de señalización entre las células óseas indican que las interacciones son complejas, y sacar conclusiones basadas únicamente en la intuición puede ser muy difícil y posiblemente engañoso. El modelado matemático proporciona una herramienta poderosa para reducir la ambigüedad en cuanto a causas y efectos en sistemas complejos, y permite probar varias hipótesis experimentales [14].

En la actualidad, los avances tecnológicos nos han permitido tener un crecimiento exponencial en el desarrollo de nuevos métodos de diseño y síntesis de materiales con potenciales aplicaciones en el área médica [3, 15, 16]. En cuanto a la síntesis de este tipo de materiales, en años recientes con el avance de la tecnología de procesamiento de materiales, la impresión 3D resultó ser una herramienta bastante útil, la cual permite que un objeto tridimensional sea creado mediante la superposición de capas sucesivas de algún material deseado para un propósito en específico.

Teniendo en cuenta este contexto, resulta hasta cierto punto sorprendente que la cantidad de modelos matemáticos que estudien los efectos integrados de las interacciones conocidas entre el hueso y las células propuestos a la actualidad sean pocos. Sin embargo, es cierto que ha habido algunos documentos recientes. Por ejemplo, los modelos matemáticos de la dinámica de las células óseas que han sido propuestos por Komarova et al. [11] y Lemaire et al. [7].

En el presente trabajo, se propone un modelo matemático del tipo reacción-difusión (Komarova, 2003) de interacciones autocrinas y paracrinas entre osteoblastos y osteoclastos con términos biarmónicos que permite calcular la dinámica celular. Se realizó un estudio detallado de la dinámica y estabilidad del modelo de poblaciones estableciendo los valores de los parámetros de control del modelo propuesto, bajo inestabilidad de Turing y Hopf. El modelo es resuelto utilizando el método de Euler mejorado y diferencia finita en dos y tres dimensiones. Los resultados numéricos de la simulación computacional describen el proceso de remodelación ósea desde el punto de vista biológico. Posteriormente, mediante la técnica de proceso de diseño matemático y fabricación asistida por impresión 3D (MDP-3DPAM), se obtuvieron andamios que muestran una similitud con el tejido óseo trabecular humano, a base de ácido poliláctico (PLA), los cuales fueron sometidos a pruebas de compresión mecánicas de donde encontramos que la resistencia mecánica de nuestros andamios es mayor al de otros andamios obtenidos empleando el método MDP-3DPAM.

## 2 I MODELO EXTENDIDO KOMAROVA – SWIFT-HOHENBERG

El modelo planteado por Svetlana V. Komarova et. al. en 2003 [11], es un modelo matemático que describe la dinámica de la población de células óseas, con el número de osteoclastos y osteoblastos en una sola unidad multicelular básica (BMU) denotado por  $C$  y  $B$ , respectivamente. Las tasas de producción global de cada población celular reflejan el efecto neto del reclutamiento de precursores y la formación de células maduras. Las tasas de eliminación de células reflejan la muerte celular, así como la diferenciación de los osteoblastos en osteocitos y células de revestimiento del hueso.

Se propuso que las células tengan la capacidad de interactuar entre sí a través de efectores, los cuales son liberados o activados por las células óseas y actúan de forma autocrina o paracrina de manera que, afectan localmente al tipo celular de origen o a otro tipo celular, respectivamente. En este modelo, tanto los osteoclastos como los osteoblastos pueden producir efectores locales capaces de activarse o inhibirse a sí mismos o a otro tipo celular. El ciclo de remodelación inicia cuando los osteoclastos se diferencian a partir de los preosteoclastos para obtener un aumento en la población, lo cual constituye una condición inicial para el sistema. Estos osteoclastos inician la reabsorción de hueso con la consecuente pérdida de masa ósea. Sin embargo, este evento a su vez provoca la diferenciación de osteoblastos a partir de los preosteoblastos, provocándose un incremento en la población de osteoblastos con la consecuente formación y restitución de masa ósea por acción de estas células.

El modelo de remodelación ósea considera la región del hueso hasta el nivel celular, con influencia de factores locales y está basado en las ecuaciones:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \alpha_1 C^{g_{11}} B^{g_{21}} + (\lambda_C - \beta_1)C - \lambda_C(1 + \nabla^2)^2 C \quad (1)$$

$$\frac{\partial B}{\partial t} = \alpha_2 C^{g_{12}} B^{g_{22}} + (\lambda_B - \beta_2)B - \lambda_B(1 + \nabla^2)^2 B \quad (2)$$

$$\frac{dZ}{dt} = -k_1 \max(0, C(t) - \bar{C}) + k_2 \max(0, B(t) - \bar{B}) \quad (3)$$

donde  $C$  y  $B$  son el número de osteoclastos y osteoblastos;  $\alpha_i$  y  $\beta_i$  son las actividades de producción y eliminación de células; los parámetros  $g_{ij}$  representan la eficacia neta de los factores autocrinos o paracrinos derivados de los osteoclastos. Es importante mencionar que, una propiedad destacable es que las células son capaces de moverse de forma independiente a través de la matriz extracelular. Este movimiento celular puede definirse por la interacción de las células con sus vecinos más cercanos. Pueden sentir y responder más allá de las condiciones inmediatas del vecindario. Sin embargo, las células mesenquimales pueden responder a la interacción espacial de largo alcance de las células vecinas (efecto no local en la dispersión difusiva). Teórica y experimentalmente, la difusión puede ser reemplazada por la combinación de los mecanismos subyacentes con interacciones espaciales de largo y corto alcance, estos comportamientos biológicos se

consideran matemáticamente en los términos  $\Lambda_C (1 + \nabla^2)^2 C$ ,  $\lambda_B (1 + \nabla^2)^2 B$ , con  $\lambda_B$ ,  $\Lambda_C$  términos constantes [22, 23].

Finalmente,  $Z$  representa la masa ósea de acuerdo con una tasa de recambio óseo, con las constantes  $k_1$  y  $k_2$  siendo la tasa de reabsorción y formación ósea respectivamente, por célula osteoprogenitora al día [11]. Sin embargo, esta suposición no es suficiente tomando en cuenta que nos encontramos en la descripción de un proceso con dinámica espacio-temporal. En cuanto a la resolución temporal del modelo descrito por Svetlana V. Komarova et. al. [11], toman en cuenta que el proceso de remodelación ósea es un fenómeno de dinámica temporal, el cual nos dará pauta para conocer las condiciones de comportamiento de evolución temporal del modelo. Los parámetros  $k_1$  y  $k_2$  tendrían un significado de tal modo que la densidad de masa ósea disminuye o avanza con dinámica de acuerdo con los efectos netos de la reabsorción ( $C(t) > \bar{C}$ ) y la formación ( $B(t) > \bar{B}$ ). Los parámetros  $k_1(t)$  y  $k_2(t)$ , como parámetros dependientes del tiempo, satisfacen  $k_1(t) = rR$ , y  $k_2(t) = r$  siendo  $R$ :

$$R = \frac{\int \max(0, C(t) - \bar{C})}{\int \max(0, B(t) - \bar{B})} \quad (4)$$

donde, es el período de los ciclos de  $C(t)$  y  $B(t)$ , y  $r$  es determinada por la amplitud de las oscilaciones en cuanto a la evolución temporal de la densidad de masa ósea. El valor de  $R$  está bien definido, siempre y cuando  $B(t) \neq \bar{B}$ .

### 3 | PROCESO DE DISEÑO MATEMÁTICO Y FABRICACIÓN ASISTIDA POR IMPRESIÓN 3D (MDP-3DPAM)

El estudio de las ecuaciones diferenciales se centra en la obtención de soluciones a partir de algunos métodos numéricos de ciertos tipos de ecuaciones y sistemas diferenciales, sin embargo, el obtener información cualitativa sobre los diferentes tipos de comportamientos o estados en las soluciones del sistema es vital para conocer el comportamiento del sistema de ecuaciones diferenciales. Es decir, averiguar qué tan estable o inestable es el sistema. A este análisis se le conoce como análisis de estabilidad lineal para sistemas de ecuaciones diferenciales parciales el cual es realizado en la etapa de modelado matemático y sirve como base para dar paso a la etapa del método numérico.

El método numérico empleado para resolver el modelo extendido Komarova – Swift-Hohenberg, ecuaciones 1, 2 y 3, es el método pseudoespectral implícito descrito en [22] y esto se extiende al espacio 3D. El dominio espacial (discretizado por una malla de  $N_x \times N_y \times N_z$  nodos) de esta ecuación es periódico en todas las direcciones ( $x$ ,  $y$ ,  $z$ ). Este método basado en tales transformadas discretas brinda una precisión óptima en el sentido de que la tasa de convergencia para soluciones adecuadamente uniformes es más rápida que cualquier potencia de la malla de  $N_x \times N_y \times N_z$  nodos [21].

La metodología para crear un archivo de diseño asistido por computadora (CAD) para

un material polimérico con una distribución de tamaño de poro controlada se muestra en la Figura 1. La infografía muestra el proceso para desarrollar materiales con microestructura controlada. Partiendo de la solución numérica del patrón 3D obtenida del algoritmo del modelo extendido dado por las ecuaciones (1-3), el cual fue implementado en lenguaje de programación Python. La solución numérica en 3D es graficada la iso-superficie de mínimo valor en formato de archivo .pkl. Posteriormente se exporta para obtener un archivo con extensión .obj. Este archivo es rediseñado y puede traducirse a la extensión de lenguaje triangular estándar (.stl). En esta etapa, el tamaño de los poros se controla tanto como se desee.

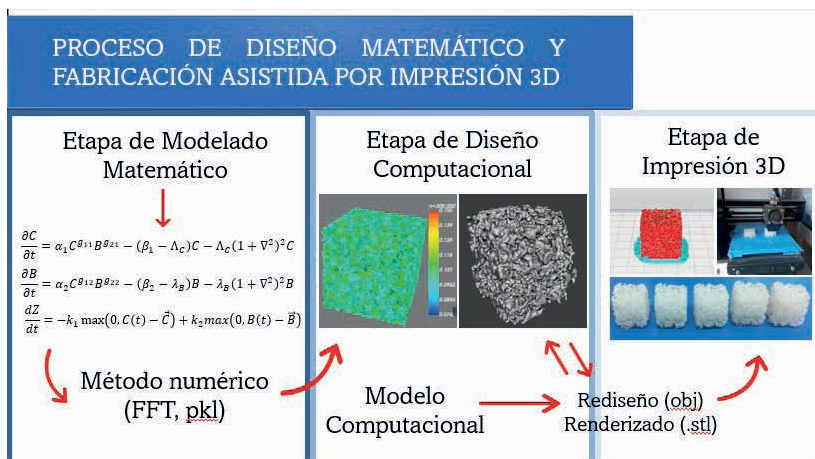


Figura 1-. Diagrama de flujo de trabajo del proceso de diseño matemático y fabricación asistida por impresión 3D (MDP-3DPAM) para generar materiales porosos impresos en 3D con microestructura controlada.

Los modelos 3D se pueden exportar a cualquier impresora generador de código de software para el paso final de procesamiento que también permite controlar el tamaño y los parámetros de impresión. La extrusión de diferentes polímeros permite la creación de estructuras sólidas que poseen propiedades mecánicas complejas y una distribución controlada del tamaño de los poros. El proceso de impresión 3D que usa modelos matemáticos para diseñar el patrón [21] es un método completamente nuevo para diseñar y crear nuevos materiales avanzados.

## 4 | RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Soluciones numéricas del modelo matemático en 2D.

Para los parámetros iniciales del modelo, se utilizó como estimación inicial lo ya propuesto por Komarova, que son datos experimentales obtenidos del análisis histomorfométrico de secciones óseas [11]. De esto se estimó que el inicio de la reabsorción

ósea en el hueso trabecular da lugar a la diferenciación de 10 a 20 osteoclastos que reabsorben hueso a un ritmo de  $10 \mu\text{m}/\text{día}$ .

En una misma localización, la erosión máxima se alcanza en un rango de 9 a 14 días. Más tarde, unos 2000 osteoblastos llegan a la base de la cavidad y construyen hueso a un ritmo de  $1 \mu\text{m}/\text{día}$ , de manera que, de tres a cinco meses después de iniciarse el ciclo, el hueso vuelve a un estado quiescente (estado estacionario).

$\beta_1 = 0.2 \text{ día}^{-1}$ $\beta_2 = 0.02 \text{ día}^{-1}$	Constantes de velocidad de eliminación de células
$g_{21} = -0.5$ $g_{12} = 1.0$ $g_{22} = 0$	Valores iniciales de $g_{ij}$
$\alpha_1 = 3 \text{ células día}^{-1}$ $\alpha_2 = 4 \text{ células día}^{-1}$	Constantes de velocidad de formación de células óseas
$k_1 = 0.24\% \text{ cell}^{-1} \text{ día}^{-1}$ $k_2 = 0.0017\% \text{ cell}^{-1} \text{ día}^{-1}$	Tasa de reabsorción y formación ósea por célula osteoprogenitora al día

Tabla 1. Resumen de parámetros usados en el modelo.

Con estos parámetros y para la condición  $Z(0) = -k_1(t)\bar{C} + k_2(t)\bar{B}$  (funciones) se llevó a cabo la simulación del modelo temporal de Komarova et. al. [11] utilizando el método numérico de Euler mejorado y diferencia finita en un arreglo cuadrado compuesto por una malla de  $100 \times 100$  variando los parámetros de control  $g_{ij}$  y  $\lambda$  de acuerdo con los valores obtenidos del análisis de estabilidad lineal a 1,000,000 de iteraciones en un paso de tiempo  $dt=1 \times 10^{-6}$ .

La solución numérica del modelo se obtuvo mediante la simulación computacional implementada en el software Phyton y sus librerías (pickle, Larray, pylab, Lgraphicarray, etc.), la programación del modelo fue elaborada en base al sistema de ecuaciones diferenciales parciales no lineales. Los resultados obtenidos de dicha solución numérica que muestran diferentes dinámicas de remodelación ósea presentes en el modelo con respecto a los cambios en la distribución de los osteoclastos y los osteoblastos se muestran a continuación.

**Caso 1:** Donde  $g_{11} = -1.0$ ,  $\frac{\lambda_C}{\lambda_B} = 1.9$  y  $\lambda_B = 1.0$ .



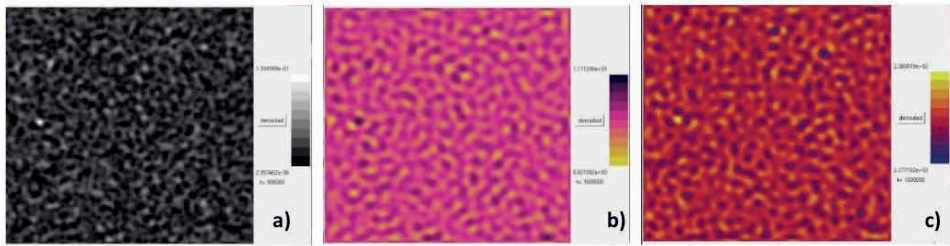


Figura 2- **a)** Representa la densidad de biomasa ósea de la inestabilidad de tipo Turing, **b)** Representa la densidad poblacional de osteoclastos de la inestabilidad de tipo Turing, **c)** Representa la densidad poblacional de osteoblastos de la inestabilidad de tipo Turing.

**Caso 2:** Donde  $g_{11} = 0.5$ ,  $\frac{\lambda_C}{\lambda_B} = 1.8$  y  $\lambda_B = 1.0$ .

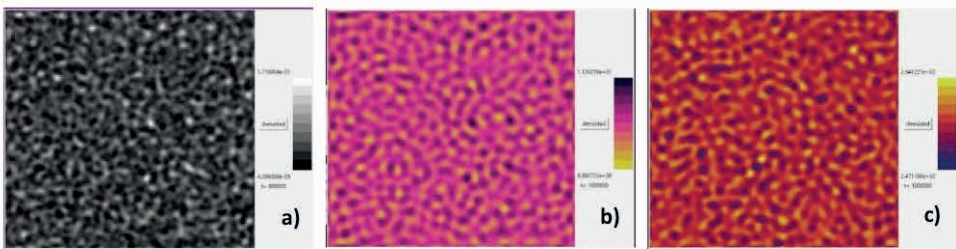


Figura 3- **a)** Representa la densidad de biomasa ósea de la inestabilidad de tipo Hopf, **b)** Representa la densidad poblacional de osteoclastos de la inestabilidad de tipo Hopf, **c)** Representa la densidad poblacional de osteoblastos de la inestabilidad de tipo Hopf.

El requisito de estabilidad de un estado estacionario impone ciertas limitaciones de los valores que puede tomar cada parámetro. Para la regulación autocrina de los osteoblastos, existe una solución estable con el comportamiento dinámico de un solo ciclo de remodelación cuando  $g_{22}$  es inferior a 0,9. Dado que el IGF es un conocido regulador autocrino positivo de los osteoblastos, para los cálculos se asume que  $g_{22}$  debe ser positivo pero pequeño. Un solo ciclo de remodelación es una solución estable para un amplio rango de valores positivos para la regulación paracrina derivada de los osteoclastos  $g_{12}$ , reflejando el hecho de que la activación de los osteoclastos conduce a un aumento de la formación de osteoblastos. La regulación paracrina  $g_{21}$  derivada de los osteoblastos se limita a valores negativos o positivos muy pequeños, lo que indica que el efecto neto de los factores producidos por los osteoblastos debe ser inhibitorio o neutro para formación de osteoclasto. En este sentido, los osteoblastos producen dos reguladores de osteoclastos opuestos, RANKL y OPG. El modelo sugiere que los efectos del RANKL no predominan.

De los resultados obtenidos podemos ver que, sorprendentemente, los cambios en los factores locales autocrinos y paracrinos pueden determinar el tipo de remodelación ósea resultante. El factor autocrino  $g_{11}$  de los osteoclastos tiene la capacidad de cambiar el sistema entre modos de comportamiento dinámico. Una de las ventajas que tiene el haber

integrado los términos biarmonicos al modelo establecido por Komarova es que dichos parámetros corresponden a un panorama biológico, mostrando una interacción celular, entre las células cercanas a su entorno y a largo alcance.

En cuanto a los patrones que representan la densidad de biomasa ósea con la inestabilidad de tipo Turing y la inestabilidad de tipo Hopf (ver Figura 2 – 3) obtenidas tomando los parámetros de control respectivos, muestra una distribución con máximos de densidad ósea [ver Figura 2 – 3 a), zonas blancas]; los cuales pueden ser atribuidos a zonas de hueso trabecular donde se encuentra el tejido óseo, y mínimos de densidad ósea [ver Figura 2 – 3 a), zonas negras] atribuidos a las zonas porosas presentes en el hueso trabecular (ausencia de tejido óseo).

De estos resultados se pretende analizar los cambios de los patrones espacio-temporales que podrían surgir a partir de la modificación de parámetros de control claves en el proceso de remodelación ósea. Estos cambios tienen repercusiones biológicas en cuanto a la formación de diferentes tipologías e incluso patologías debidas a cuestiones bioquímicas y también dinámicas del proceso.

### Solución numérica del modelo matemático en 3D.

Respecto a la simulación 3D del modelo, nuevamente se utilizó el método numérico de discretización de laplaciano para la parte espacial y el método de Euler para la parte temporal mencionados anteriormente. Los valores de la tasa de reabsorción y formación ósea por densidad celular osteoprogenitora al día  $k_1(\vec{r}, t)$  y  $k_2(\vec{r}, t)$  respectivamente con  $\vec{r}=(x_j, y_j, z_k)$  para todo  $1 \leq j, k \leq 100$  para la solución de la densidad de biomasa ósea, son tomados como parámetros con evolución espacio-temporal para el cálculo de la microestructura tridimensional de densidad de tejido óseo.

Las soluciones numéricas del patrón en 3D fueron obtenidas haciendo uso de la metodología descrita en la sección 3.

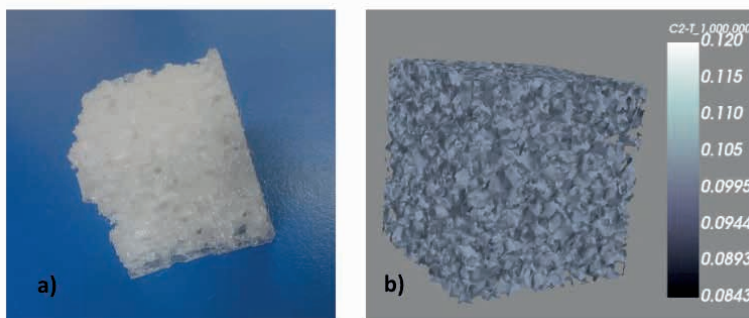


Figura 4-. **a)** Impresión en 3D del caso 1 a 1,000,000 de iteraciones en PLA (ácido poliláctico), bajo inestabilidad de tipo Turing, donde  $g_{11} = -1.0$ ,  $\frac{\Delta_C}{\lambda_B} = 1.9$  y  $\lambda_B = 1.0$ , **b)** Solución numérica visualizada en Mayavi.

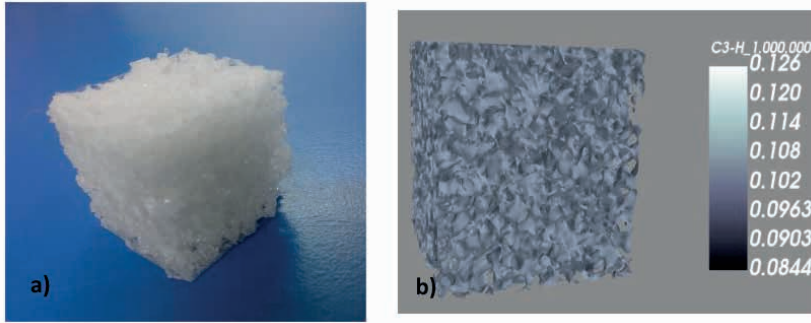


Figura 5-. **a)** Impresión en 3D del caso 2 a 1,000,000 de iteraciones en PLA (ácido poliláctico), bajo inestabilidad de tipo Hopf, donde  $g_{11} = 0.5$ ,  $\frac{\lambda_C}{\lambda_B} = 1.8$  y  $\lambda_B = 1.0$ , **b)** Solución numérica visualizada en Mayavi.

Analizando los resultados en 3D de dichos casos que representan tejido óseo sano de la inestabilidad de tipo Turing y la inestabilidad de tipo Hopf muestran una distribución con máximos normalizados de densidad ósea que van desde una zona donde existe una gran concentración de tejido óseo (100 por ciento) hasta zonas donde existe baja o nula concentración del tejido óseo.

### Procesamiento de andamios.

Se procesaron 12 probetas con dimensiones de 25×25×25 mm tomando como base estructural las soluciones numéricas mostradas en las Figuras 4 – 5. Para cada caso fueron procesados 6 andamios, 3 de ellos bajo su posición original y los tres restantes con la posición rotada 90° hacía la derecha desde su posición original, esto con el fin de observar que la dirección de impresión no afecta a la estructura. Se utilizó una impresora 3D Select Mini V2 Monoprice para la obtención de los andamios, la temperatura de extrusión fue de 210° a una velocidad de 50 mm/s.

Para la realización de las pruebas mecánicas se sometieron las 12 probetas a ensayos de resistencia a la compresión con el equipo compresivo Universal Testing Machine CMSUTM-10 las cuales fueron determinadas mediante el software Smart Test, el equipo está configurado para soportar una fuerza máxima de 10 kN, con una pendiente de la rampa con valor de 3.00 mm/min, con condiciones de temperatura con valor de 25 grados Centígrados. Los parámetros obtenidos del Módulo de Young, el límite de compresión y el límite de carga soportado por cada andamio se muestran en la Tabla 2.

Muestra	Límite de compresión (MPa)	Límite de carga (N)	Módulo de Young (MPa)
Andamio 1.1-O	16.6	10302.71	35.5472
Andamio 1.2-O	14.3	9081.51	32.18004
Andamio 1.3-O	15.1	9287.61	35.2187
Andamio 1.1-R	15.2	9328.31	29.1946
Andamio 1.2-R	7.98	4966.0	23.9159
Andamio 1.3-R	14.8	9225.51	33.1993
Andamio 2.1-O	14.9	9251.41	36.1476
Andamio 2.2-O	14.8	9251.81	39.9011
Andamio 2.3-O	14.8	9270.81	32.2069
Andamio 2.1-R	15.0	9279.11	28.6996
Andamio 2.2-R	14.9	9215.11	39.1864
Andamio 2.3-R	14.9	9266.41	36.6226

Tabla 2-. Resultados de las pruebas de resistencia a la compresión de andamios basados en PLA.

Las propiedades estructurales del hueso trabecular se determinan habitualmente mediante ensayos de compresión, tracción o flexión. Con los resultados obtenidos en estos distintos ensayos se ha observado que el hueso trabecular, de la misma manera que el cortical, presenta una mayor resistencia ante la carga de compresión que ante cualquier otro tipo [26]. La resistencia en ensayos de compresión tiende a variar entre 1,5 y 9,3 MPa en función de la región del esqueleto.

Considerando los resultados podemos observar que el promedio de la resistencia en los ensayos de compresión de los andamios se encuentra en un intervalo de 7.9 a 16.6 MPa. Por otro lado, el módulo de Young obtenido de las pruebas de resistencia a la compresión se encuentra en un rango desde 23 a 39 MPa. De acuerdo con lo reportado en la literatura, el módulo de Young para un hueso trabecular puede estar entre 10 a 500 MPa, estas relaciones varían según los distintos tipos de hueso trabecular debido a las variaciones en la región anatómica, la edad y las enfermedades que alteran la arquitectura trabecular.

Estos resultados se encuentran en un rango superior si los comparamos al establecido, sin embargo, este comportamiento puede ser atribuido a las propiedades mecánicas del PLA, lo cual es conveniente debido a que el PLA es un material que tiene propiedades de biodegradación en el cuerpo humano [29], brindándole mayor soporte durante el proceso de reabsorción y formación de hueso nuevo durante el proceso de remodelación ósea que sucede en el material.

Los materiales termoplásticos o polímeros lineales suelen presentar una dualidad

de comportamiento ya que su respuesta de deformación frente a la aplicación de un estado tensional está constituida por dos componentes; una elástica la cual está relacionada con su naturaleza de sólido elástico y una viscosa, ligada a su naturaleza de líquido viscoso. Es por ello por lo que se considera que el comportamiento de estos materiales es de tipo “viscoelástico”, término que engloba ambas componentes en la respuesta del material [27]. Esta dualidad de comportamiento conlleva un cambio importante en el comportamiento mecánico, ya que sus propiedades mecánicas varían con el tiempo.

Cuando un material plástico se somete a una tensión constante, se produce una elongación inicial inmediata, esto debido a la respuesta de sólido elástico y, además, se produce una elongación creciente relacionada con la componente de líquido viscoso del material. Cuanto mayor es el valor de la tensión aplicada, mayor es la elongación inicial elástica, y más rápido es el crecimiento de la elongación con el tiempo debido a la componente viscosa, este tipo de comportamiento se logra visualizar en las gráficas resultantes de los ensayos de compresión realizados a los andamios, comportamiento que se puede relacionar con la estructura del andamio obtenida de las soluciones numéricas del modelo matemático más que con el material, pues, realizando una comparación con los datos reportados por Fernández–Cervantes [18] (ver Figura 6), los cuales fueron reproducidos bajo las mismas condiciones que las soluciones numéricas propias, se logra observar una evidente mejora en la deformación que soportan los andamios al ser sometidos al ensayo de compresión, demostrando así que, el modelo matemático con una extensión de términos biarmónicos es eficiente en cuanto a la creación de andamios para la regeneración ósea.

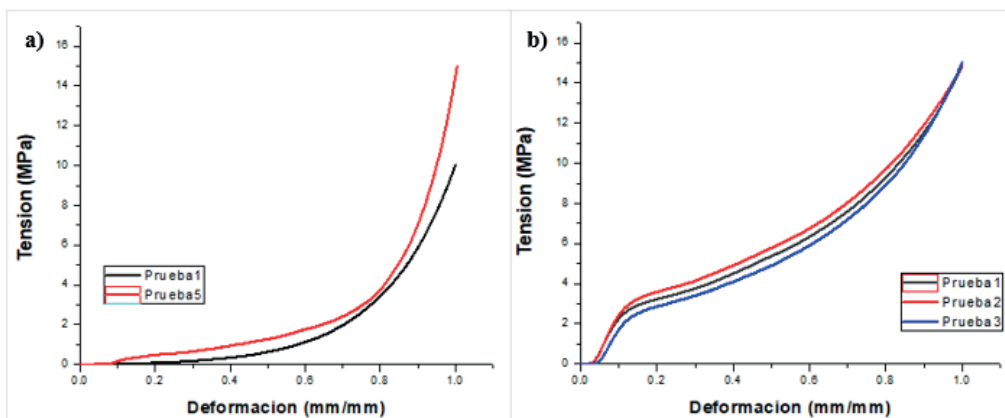


Figura 6- a) Gráfica de prueba de tensión-deformación, en color rojo, andamio basado en PLA con morfología de tejido óseo del caso 2 con inestabilidad de tipo Hopf, en color negro, andamio basado en PLA con morfología de tejido óseo de la solución numérica reportada por Fernández-Cervantes en [18] con inestabilidad de tipo Hopf, b) Gráfica tensión-deformación de andamios basados en PLA con morfología de tejido óseo del caso 1 con inestabilidad de tipo Turing.

## 5 | CONCLUSIONES

Se presenta un modelo matemático que examina las funciones cooperativas de la regulación autocrina y paracrina en el control de la remodelación ósea. El modelo matemático se basa en la suposición de que los efectores locales producidos por los osteoclastos y los osteoblastos regulan las tasas de formación de estos mismos, encontrando así que, el modelo predice diferentes modos de comportamiento los cuales se asemejan a la dinámica de la remodelación ósea de tejido trabecular.

El sistema es más sensible a la regulación autocrina de los osteoclastos, lo que refleja el hecho de que los osteoclastos reabsorben el hueso como pequeños equipos de células muy activas, que se reclutan rápidamente y luego se eliminan. Contrario a eso, los osteoblastos son mucho menos activos y los cambios en el número de osteoblastos se producen con mayor lentitud; en consecuencia, se necesitan muchos más osteoblastos en un mismo lugar de remodelación ósea.

Del procesamiento de los andamios se comprobó que la técnica de proceso de diseño matemático y fabricación asistida por impresión 3D (MDP-3DPAM) permite la reproducción exitosa de piezas con morfología de tejido óseo. Los andamios obtenidos son comparados con el tejido óseo trabecular humano sano, en donde en ambos casos existen trabéculas interconectadas. Los resultados de las propiedades mecánicas mostraron una similitud con respecto a las propiedades mecánicas del hueso trabecular humano, así mismo, se observa que cuando los andamios están sometidos a una deformación constante con el paso del tiempo, estos dan lugar a un fenómeno ligado a viscoelasticidad.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos al Laboratorio Nacional de Supercómputo del Sureste de México perteneciente a la red de laboratorios nacionales CONAHCYT, por los recursos computacionales, el apoyo y la asistencia técnica en el proyecto con número: 202201034C, al Laboratorio de impresión 3D de la FCFM por los recursos brindados en este proyecto y a la Vicerrectoría de Estudios de Posgrado de la BUAP, ID del proyecto: 00011. Modelado, diseño y simulación computacional de materiales avanzados con enfoque de sostenibilidad y formación pre universitaria, desarrollo tecnológico e innovación.

## REFERENCIAS

- [1] MORRISON, J. I. **Editing our way to regeneration.** Cell Tissue Res., 7356(3): 533-537, 2014.
- [2] ROSA, V. **What and where are the stem cells for Dentistry?** Singapore Dent J., 34(1): 13-18, 2013.
- [3] JOON PARK, R.S. LAKES. **Biomaterials, An introduction.** Estados Unidos: Springer. 2007.

- [4] ARTICO, M., FERRANTE, L., PASTORE, F. S., RAMUNDO, E. O., CANTARELLI, D., SCOPELLITI, D. & IANNETTI, G. **Bone autografting of the calvaria and craniofacial skeleton: historical background, surgical results in a series of 15 patients, and review of the literature.** *Surgical Neurology*, 60(1), 71–9, 2003.
- [5] UEDA, M. (2011). **Applied Tissue Engineering.** (D. Minoru, Ed.). InTech. <http://doi.org/10.5772/2630>
- [6] CHEN, Q., ZHU, C. & THOUAS, G. A. (2012). **Progress and challenges in biomaterials used for bone tissue engineering: bioactive glasses and elastomeric composites.** *Progress in Biomaterials*, 1(1), 2. <http://doi.org/10.1186/2194-0517-1-2>
- [7] VINCENT LEMAIRE, FRANK L.TOBIN, LARRY D. GRELLER, CAROLYN R. CHO, LARRY J. SUVA. **Modeling the interactions between osteoblast and osteoclast activities in bone remodeling.** *Journal of Theoretical Biology*, v. 229, p. 293 – 309,2004.
- [8] ADAM MOROZ, MARTIN C. CRANE, GEOFF SMITH, DAVIS IAN WIMPENNY. **Phenomenological modelo f bone remodeling cycle containing osteocyte regulation loop.** *ByoSystems*, v. 84, p. 183 – 190, 2006.
- [9] MARTIN H. KROLL. **Parathyroid Hormone Temporal Effects on Bone Formation and Resorption.** *Bulletin of Mathematical Biology*, v. 62, p. 163 – 187, 2000.
- [10] KOICHI MATSUO, NAKO IRIE. **Osteoclast – osteoblast communication.** *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 473, p. 201 – 209, 2008.
- [11] SVETLANA V. KOMAROVA, ROBERT J. SMITH, S. JEFFREY DIXON, STEPHEN M. SIMS, LINDI M. WAHL. **Mathematical model predicts a critical role for osteoclast autocrine regulation in the control of bone remodeling.** *Bone* v. 33, p. 206 – 215, 2003.
- [12] BRUCE P AYATI, CLAIRE M EDWARDS, GLENN F WEBB, JOHN P WIKSWO. **A mathematical model of bone remodeling dynamics for normal bone cell populations and myeloma bone disease.** *Biology Direct*, v. 5, n. 28, 2010.
- [13] PETER PIVONKA, JAN ZIMAK, DAVID W. SMITH, BRUCE S. GARDINER, COLIN R. DUNSTAN, NATALIE A. SIMS, T. JOHN MARTIN, GREGORY R. MUNDY. **Model structure and control of bone remodeling: A theoretical study.** *Bone* v. 43, p. 249 – 263, 2008.
- [14] MURRAY, J. D. **Mathematical biology: I. An introduction.** Vol. 17. Springer Science & Business Media, 2007. ISBN: 978-0-387-22437-4.
- [15] D. EBERLY. (2011). **Tissue Engineering for tissue and organ regeneration.** Croacia: InTech.
- [16] SONG LI, NICOLAS L'H., JENNIFER E. (2011). **Stem cell and tissue engineering.** Reino Unido: World Scienti\_c.
- [17] FRANCO-REYES, R. **Modelación de patrones de vegetación mediante el modelo de Hardenberg – Lefever.** Tesis para obtener el grado de Licenciatura en Física Aplicada. Facultad de Ciencias Físico Matemáticas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.



- [18] I. FERNÁNDEZ-CERVANTES, M. A. MORALES, R. AGUSTÍN-SERRANO, M. CARDENAS-GARCÍA, P. V. PÉREZ-LUNA, B. L. ARROYO-REYES, et al. **Polylactic acid/sodium alginate/hydroxyapatite composite scaffolds with trabecular tissue morphology designed by a bone remodeling model using 3D printing**. *Journal of Materials Science*, v. 54, n. 13, 2019.
- [19] A.M. TURING, “**The chemical basis of morphogenesis**”, *Philos. Trans. Roy. Soc.*, Vol. 237, pp. 37-72, (1952).
- [20] Z. WANG, S. LI Y S. RUAN. “**Travelling wave fronts in reaction-diffusion systems with spatio-temporal delays**”, *J. Differential Equations*, Vol. 222, pp. 185-232, (2006).
- [21] MARCO A. MORALES, SINUHÉ RUIZ-SALGADO, RICARDO AGUSTÍN-SERRANO, BENITO ZENTENO-MATEO, JOSÉ I. RODRÍGUEZ-MORA. **Design and mathematical modeling of polymeric phases to obtains controlled microporosity by materials by 3D printing**. *Advanced Material Letters*, v. 12, n. 11, 2021.
- [22] WALDERICH, B., SINGH, A. P., MAHALWAR, P. AND NÜSSLEIN-VOLHARD, C. **Homotypic cell competition regulates proliferation and tiling of zebrafish pigment cells during colour pattern formation**. *Nature Communication*, 1038/11462, 2016. DOI: 10.1038/ncomms11462.
- [23] MAHALWAR P., SINGH A.P., FADEEV A., NÜSSLEIN-VOLHARD C, IRION U. **Heterotypic interactions regulate cell shape and density during color pattern formation in zebrafish**. *Biology Open*, v. 5, pg. 1680-1690, 2016. DOI: 10.1242/bio.022251.
- [24] M. C. CROSS, P. C. HOHENBERG, **Pattern formation outside of equilibrium**, *Rev. Mod. Phys.* 65, (1993), pp. 851-1112.
- [25] F. MARTÍNEZ-AGUSTÍN, S. RUIZ-SALGADO, B. ZENTENO-MATEO, E. RUBIO, M.A. MORALES. **3D pattern formation from coupled Cahn-Hilliard and Swift-Hohenberg equations: Morphological phases transitions of polymers, block and diblock copolymers**. *Computational Materials Science*, v. 210, Julio 2022, 111431. DOI: 10.1016/j.commatsci.2022.111431.
- [26] GUEDE, D.; GONZÁLEZ, P. Y CAEIRO, J.R. **Biomecánica y hueso (I): Conceptos básicos y ensayos mecánicos clásicos**. *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral*, vol.5, n.1, pp.43-50, 2003. ISSN 2173-2345. <http://dx.doi.org/10.4321/S1889-836X2013000100008>.
- [27] BALART-GIMENO, R., QUILES-CARRILLO, L. et. al. **Viscoelasticidad. Comportamiento mecánico de materiales plásticos a largo plazo**. Departamento de Ingeniería Mecánica y de Materiales (DIMM).
- [28] WU D., SPANOU A., DIEZ-ESCUADERO A., PERSSON C. **3D-printed PLA/HA composite structures as synthetic trabecular bone: A feasibility study using fused deposition modeling**. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, vol. 103, 103608, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2019.103608>.
- [29] M. S. SINGHVI; S. S. ZINJARDE, AND D. V. GOKHALE. “**Polylactic acid: Synthesis and biomedical applications**”, *Journal of Applied Microbiology*, vol. 127, n.º 6, pp. 1612–1626. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/jam.14290>