

## MODELO NUMÉRICO MICROMECHANICO PARA SCAFFOLD DE HIDROXIAPATITA COM CULTURA CELULAR

E. G. F. Mercuri<sup>1</sup>, A. L. Daniel<sup>1</sup>, R. D. Machado<sup>1</sup>, M. B. Hecke<sup>1</sup>

<sup>1</sup> PPGMNE, Programa de Pós Graduação de Métodos Numéricos em Engenharia, Universidade Federal do Paraná (emiliomercuri@gmail.com)

**Abstract.** *Nowadays scaffolds and hydroxyapatite biomaterials have been widely used in the biomedical field. The biomechanical engineering is continuously improving methods and materials to analyze and optimize such porous media. The purpose of this article is to implement some methodology discussed in the literature to compare the results of micromechanical with normal mechanical finite elements simulations. The strength and stiffness of the material have been predicted beyond statistical correlations with porosity or empirical structure-property relationships, as to resolve the material-immanent microstructures governing the overall mechanical behavior. A homogenization procedure in the context of the continuum micromechanics provides the macroscopic mechanical properties based in the microstructure and composition of the material. In this work the representative volume element of the porous polycrystals consists of hydroxyapatite needles and spherical pores. Other authors tested the micromechanical model with experimental sets on the basis of biomaterial-independent elastic and strength properties of hydroxyapatite. A two-dimension example programmed in MATLAB is depicted in this work simulating a bone scaffold with bone cells. We recognize the potential of micromechanical modeling in improving biomaterial design, through optimization of key parameters such as porosities or geometries of microstructures, in order to reach desired values for biomaterial stiffness or strength.*

**Keywords:** *Bone remodeling, Hydroxyapatite Biomaterials, Micromechanics, Eshelby Tensor*

### 1. INTRODUÇÃO

A reconstrução e reparo de tecido ósseo fraturado é um processo complexo que demanda um longo período de tempo e muitas vezes reduz a funcionalidade da estrutura do osso. Uma intervenção possível que facilita a regeneração é a adoção de *scaffolds* para preencher os defeitos e conferir suporte às cargas naturais do tecido. O sucesso do implante de hidroxiapatita depende diretamente de propriedades como um grau de porosidade adequada que permita transporte de massa e difusão, ser feito de um material biodegradável, possibilite a adesão e proliferação celular e seja biocompatível.

A escolha dos parâmetros do projeto de um *scaffold* pode ser determinada por métodos experimentais, que elevam os custos pela natureza dos procedimentos, ou por métodos com-

putacionais, que proporcionam um melhor entendimento do comportamento desses implantes [25].

O objetivo deste estudo é o desenvolvimento de um modelo computacional representativo do comportamento mecânico de um *scaffold* de hidroxiapatita com cultura de células ósseas (osteoclastos e osteoblastos). O estudo trata da simulação de um carregamento distribuído na superfície de um *scaffold* e a distribuição de tensões e deformações em uma seção transversal do mesmo com o enfoque da micromecânica do contínuo e de modelos de populações ósseas.

A atividade biológica das populações celulares dentro da microescala (aproximadamente  $15\mu m$  [6]) pode alterar as concentrações de hidroxiapatita. A energia de deformação é um estímulo ao remodelamento ósseo [26], os osteoclastos sentem essa deformação e removem a matriz óssea, enquanto que os osteoblastos repõem essa matriz num processo conhecido como homeostase óssea. A evolução das populações de osteoclastos e osteoblastos é dada por um sistema de equações diferenciais ordinárias acopladas, as mesmas foram resolvidas utilizando o método de *runge-kutta* de quarta ordem.

O artigo está estruturado em quatro seções. A primeira seção faz uma introdução a micromecânica do contínuo e apresenta toda a formulação dos tensores responsáveis pela conversão entre as escalas e caracterização da microescala. Na sequência, a segunda seção nos mostra em detalhe a formulação das equações das populações celulares baseada nos modelos clássicos da ecologia aplicada. Em seguida é apresentada a seção de resultados e discussão e, por fim, a conclusão apresentando uma análise do trabalho e sugestões para trabalhos futuros. A formulação apresentada neste documento tem como objetivo dar continuidade aos modelos matemáticos do remodelamento ósseo desenvolvidos no Grupo de Bioengenharia da UFPR.

## 2. FUNDAMENTOS DA MICROMECAÂNICA DO CONTÍNUO

A micromecânica do contínuo pode ser caracterizada por três elementos principais: (i) *Representação*, que é a identificação das diferentes fases dentro de um Elemento de Volume Representativo (EVR) e sua caracterização mecânica. Uma fase no sentido da micromecânica do contínuo não é necessariamente uma característica reconhecível em uma imagem microscópica (como um ósteon ou uma lamela no caso do tecido ósseo), mas um domínio dentro do EVR que pode ser identificado em certa escala, com propriedades físicas constantes (ex. rigidez); (ii) *Localização*, que estabelece uma relação entre o estado de deformação constante prescrito na fronteira do EVR e o estado de deformação nas fases individuais (homogêneas) que compõem o EVR, além de definir a interação entre as fases; (iii) *Homogeneização*, que é basicamente calcular as médias das propriedades dentro do EVR. A Homogeneização define as propriedades físicas (como a rigidez) no EVR como função das propriedades das fases, das frações de volume e da sua morfologia [12]. Esta seção apresenta elementos básicos da micromecânica do contínuo para um material frágil, com comportamento elástico linear e apenas uma etapa de homogeneização.

## 2.1. Elementos básicos da modelagem micro-macro

Inicialmente, por motivos ilustrativos, vamos considerar o caso simples da elasticidade linear. Nesse contexto, as propriedades mecânicas de um material microheterogêneo são caracterizadas pelo tensor de elasticidade  $\mathbb{C}$  variável espacialmente. A caracterização da resposta macroscópica efetiva (homogeneizada) do material pode ser obtida através da relação das médias:

$$\langle \boldsymbol{\sigma} \rangle_{\Omega} = \mathbb{C}^* : \langle \boldsymbol{\varepsilon} \rangle_{\Omega} \quad (1)$$

usando a convenção

$$\langle \cdot \rangle_{\Omega} \equiv \frac{1}{|\Omega|} \int_{\Omega} \cdot d\Omega \quad (2)$$

e sendo  $\boldsymbol{\sigma}$  e  $\boldsymbol{\varepsilon}$  os tensores de tensão e deformação que estatisticamente representam o Elemento de Volume Representativo (EVR) do volume  $|\Omega|$ . A quantidade,  $\mathbb{C}^*$ , é conhecida como uma propriedade efetiva e é o tensor constitutivo. É enfatizado aqui que a quantidade efetiva  $\mathbb{C}^*$  não é uma propriedade material, mas relações entre médias, uma propriedade “aparente”. Entretanto, para ser consistente com a literatura, iremos nos referir a  $\mathbb{C}^*$  como uma propriedade efetiva do material [35].

## 2.2. A condição de Hill

Um critério micro/macro aceito na literatura usado para o cálculo das propriedades efetivas é a condição de Hill:

$$\langle \boldsymbol{\sigma} : \boldsymbol{\varepsilon} \rangle_{\Omega} = \langle \boldsymbol{\sigma} \rangle_{\Omega} : \langle \boldsymbol{\varepsilon} \rangle_{\Omega} \quad (3)$$

A condição de Hill [13] dita os requerimentos básicos para o tamanho do EVR. Para um corpo heterogêneo com fronteiras bem delimitadas, na ausência de forças de corpo, duas importantes leis físicas são invocadas pela condição de Hill. Elas são:

(1) deslocamentos puramente lineares, escritos como:

$$\boldsymbol{u}|_{\partial\Omega} = \boldsymbol{\mathcal{E}} \cdot \boldsymbol{x} \Rightarrow \langle \boldsymbol{\varepsilon} \rangle_{\Omega} = \boldsymbol{\mathcal{E}} \quad (4)$$

(2) trações puras, escritas da seguinte forma:

$$\boldsymbol{t}|_{\partial\Omega} = \boldsymbol{\mathcal{T}} \cdot \boldsymbol{n} \Rightarrow \langle \boldsymbol{\sigma} \rangle_{\Omega} = \boldsymbol{\mathcal{T}} \quad (5)$$

sendo  $\boldsymbol{\mathcal{E}}$  e  $\boldsymbol{\mathcal{T}}$  os tensores de deformação constante e tensão constante, respectivamente. A condição a ser satisfeita é que a amostra deve ser grande o suficiente para ter relativamente pequenas flutuações das variáveis na sua fronteira comparando com o seu tamanho e que a amostra seja pequena o suficiente comparando com a estrutura macroscópica.

### 2.2.1 Os limites de Hill-Reuss-Voigt

As aproximações clássicas das respostas micromecânicas, antes do advento dos microprocessadores e da computação, foram desenvolvidas com o intuito de estimar os limites das respostas efetivas dos materiais. Na literatura, [35], alguns autores separaram o campo

de deformações dentro de uma amostra numa média volumétrica somada a uma flutuação em torno da média  $\varepsilon = \langle \varepsilon \rangle_\Omega + \tilde{\varepsilon}$ , temos então que:

$$\begin{aligned}
0 &\leq \int_{\Omega} \tilde{\varepsilon} : \mathbb{C} : \tilde{\varepsilon} d\Omega = \int_{\Omega} \left( \varepsilon : \mathbb{C} : \varepsilon - 2\langle \varepsilon \rangle_\Omega : \mathbb{C} : \varepsilon + \langle \varepsilon \rangle_\Omega : \mathbb{C} : \langle \varepsilon \rangle_\Omega \right) d\Omega \\
&= \left( \langle \varepsilon \rangle_\Omega : \mathbb{C}^* : \langle \varepsilon \rangle_\Omega - 2\langle \varepsilon \rangle_\Omega : \mathbb{C}^* : \langle \varepsilon \rangle_\Omega + \langle \varepsilon \rangle_\Omega : \langle \mathbb{C} \rangle_\Omega : \langle \varepsilon \rangle_\Omega \right) \\
&= \langle \varepsilon \rangle_\Omega : (\langle \mathbb{C} \rangle_\Omega - \mathbb{C}^*) : \langle \varepsilon \rangle_\Omega
\end{aligned} \tag{6}$$

No caso complementar, de maneira similar,  $\sigma = \langle \sigma \rangle_\Omega + \tilde{\sigma}$ , e com a seguinte suposição:

$$\underbrace{\langle \sigma : \mathbb{C}^{-1} : \sigma \rangle_\Omega}_{\text{micro energia}} = \underbrace{\langle \sigma \rangle_\Omega : \mathbb{C}^{*-1} : \langle \sigma \rangle_\Omega}_{\text{macro energia}} \quad \text{sendo} \quad \langle \varepsilon \rangle_\Omega = \mathbb{C}^{*-1} : \langle \sigma \rangle_\Omega \tag{7}$$

temos que:

$$\begin{aligned}
0 &\leq \int_{\Omega} \tilde{\sigma} : \mathbb{C}^{-1} : \tilde{\sigma} d\Omega \\
&= \int_{\Omega} \left( \sigma : \mathbb{C}^{-1} : \sigma - 2\langle \sigma \rangle_\Omega : \mathbb{C}^{-1} : \sigma + \langle \sigma \rangle_\Omega : \mathbb{C}^{-1} : \langle \sigma \rangle_\Omega \right) d\Omega \\
&= \left( \langle \sigma \rangle_\Omega : \mathbb{C}^{*-1} : \langle \sigma \rangle_\Omega - 2\langle \sigma \rangle_\Omega : \mathbb{C}^{*-1} : \langle \sigma \rangle_\Omega + \langle \sigma \rangle_\Omega : \langle \mathbb{C}^{-1} \rangle_\Omega : \langle \sigma \rangle_\Omega \right) \\
&= \langle \sigma \rangle_\Omega : (\langle \mathbb{C}^{-1} \rangle_\Omega - \mathbb{C}^{*-1}) : \langle \sigma \rangle_\Omega
\end{aligned} \tag{8}$$

Invocando a condição de Hill, que nesse caso é independente do tipo de carregamento, pode-se escrever:

$$\underbrace{\langle \mathbb{C}^{-1} \rangle_\Omega^{-1}}_{\text{Reuss}} \leq \mathbb{C}^* \leq \underbrace{\langle \mathbb{C} \rangle_\Omega}_{\text{Voigt}} \tag{9}$$

é interessante enfatizar que essa desigualdade nos mostra que os autovalores dos tensores  $\mathbb{C}^* - \langle \mathbb{C}^{-1} \rangle_\Omega^{-1}$  e  $\langle \mathbb{C} \rangle_\Omega - \mathbb{C}^*$  são não negativos. O resultado prático da análise é que os limites das propriedades efetivas são realmente obtidos [35]. Esses limites são normalmente chamados de limites de Hill-Reuss-Voigt, por razões históricas. Voigt [33] assumiu que o campo de deformações em uma amostra de um material com agregado policristalino, era uniforme (constante), sob carregamento exterior de deformações uniformes. Se o campo de deformações constante de Voigt for considerado dentro do EVR,  $\varepsilon = \varepsilon^0$ , então  $\langle \sigma \rangle_\Omega = \langle \mathbb{C} : \varepsilon \rangle_\Omega = \langle \mathbb{C} \rangle_\Omega : \varepsilon^0$ , o que implica que  $\mathbb{C}^* = \langle \mathbb{C} \rangle_\Omega$ . A suposição dual foi feita por Reuss [23], que aproximou o campo de tensões de um material com agregado policristalino como uniforme (constante),  $\sigma = \sigma^0$ , chegando na relação  $\langle \varepsilon \rangle_\Omega = \langle \mathbb{C}^{-1} : \sigma \rangle_\Omega = \langle \mathbb{C}^{-1} \rangle_\Omega : \sigma^0$ , e  $\mathbb{C}^* = \langle \mathbb{C}^{-1} \rangle_\Omega^{-1}$ . A igualdade na Equação (9) é obtida se as suposições de Reuss e Voigt são válidas, respectivamente.

### 2.3. Elemento de Volume Representativo e as propriedades das fases

Na micromecânica do contínuo [14, 30, 34], o material como um todo é entendido como macro-homogêneo, porém na sua estrutura interna é entendido como micro-heterogêneo, nos elementos de volume representativos (EVR). Em geral, a microestrutura do EVR é tão

complicada que não pode ser descrita completamente. Entretanto, são escolhidos subdomínios quase homogêneos com grandezas físicas conhecidas (frações de volume ou propriedades constitutivas). Os subdomínios são conhecidos como as fases do material. A ideia central da micromecânica do contínuo no estudo de deformações em sólidos é que o observador deve escolher um elemento de volume representativo, que contenha características físicas e constitutivas de uma determinada escala do material. O comprimento característico do EVR (comprimento das heterogeneidades dentro do EVR, Figura (1)) deve ser considerado grande quando comparado às dimensões das heterogeneidades dentro do EVR, o comprimento  $d$ , e suficientemente pequeno comparado ao comprimento característico da geometria ou do carregamento da estrutura na qual está definido o EVR, o comprimento  $\mathcal{L}$ . Matematicamente, essa separação de escalas pode ser escrita como  $d \ll \ell \ll \mathcal{L}$ . A ideia que permeia a micromecânica do contínuo é que é possível separar um material heterogêneo (dentro de um EVR) em fases com propriedades constitutivas diferentes. As fases  $r = 1, \dots, N_r$  possuem certas propriedades

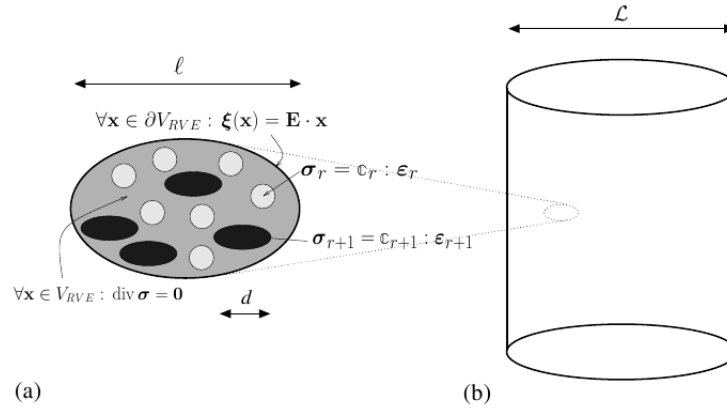


Figura 1. EVR e macro-escala

- (a) Carregamento de um elemento de volume representativo, construído de  $r$  fases, cada uma com rigidez  $\mathbb{C}_r$  e propriedades de resistência  $\mathfrak{f}(\boldsymbol{\sigma}, A^g, A^p) = 0$ , de acordo com a micromecânica do contínuo: Os deslocamentos  $\boldsymbol{\xi}$ , relacionados com a deformação constante (homogeneizada)  $\mathbf{E}$ , são impostas na fronteira do EVR; (b) a estrutura constituída do material definido no EVR. Fonte: [6].

físicas como as frações de volume  $f_r$ , as propriedades constitutivas elásticas e os respectivos limites de resistência. Cada fase pode ser entendida como um meio elástico caracterizado por um tensor de rigidez de quarta ordem  $\mathbb{C}_r$ , que relaciona o tensor de deformações de segunda ordem  $\boldsymbol{\varepsilon}_r$  com o tensor de tensões de segunda ordem  $\boldsymbol{\sigma}_r$ . Os tensores são avaliados em valores médios no meio microscópico.

$$\boldsymbol{\sigma}_r = \mathbb{C}_r : \boldsymbol{\varepsilon}_r \quad (10)$$

Com relação à resistência das fases, um critério de falha pode ser associado com a fronteira do domínio elástico  $\mathfrak{f}(\boldsymbol{\sigma}) < 0$ ,

$$\mathfrak{f}(\boldsymbol{\sigma}) = 0 \quad (11)$$

definido no espaço das microtensões  $\boldsymbol{\sigma}(\mathbf{x})$ , sendo  $\mathbf{x}$  o vetor posição para locais dentro ou no limite do EVR. Além disso, o arranjo espacial das fases deve ser especificado. Existem dois casos particulares de interesse: (i) uma ou várias inclusões (fases) com diferentes formatos incorporadas na matriz, ou fase contígua, (como em um material compósito reforçado), ou (ii) contato mútuo entre todas as fases desordenadas (como em um policristal).

## 2.4. Homogeneização

O objetivo principal da micromecânica do contínuo é estimar as propriedades mecânicas (elásticas e limites de resistência) de um material definido no EVR (sendo o meio macrohomogêneo, mas microheterogêneo) a partir das propriedades das fases. Este procedimento é conhecido como homogeneização ou uma etapa de homogeneização. Para tal, deformações homogêneas (macroscópicas)  $\mathbf{E}$  são impostas no EVR, em termos dos deslocamentos na sua fronteira  $\partial V$ :

$$\forall \mathbf{x} \in \partial V : \boldsymbol{\xi}(\mathbf{x}) = \mathbf{E} \cdot \mathbf{x} \quad (12)$$

Como uma consequência, as resultantes microdeformações  $\boldsymbol{\varepsilon}(\mathbf{x})$  compatíveis cinematicamente no EVR com volume  $V_{EVR}$  completam a condição da média:

$$\mathbf{E} = \langle \boldsymbol{\varepsilon} \rangle = \frac{1}{V_{EVR}} \int_{V_{EVR}} \boldsymbol{\varepsilon} dV = \sum_r f_r \boldsymbol{\varepsilon}_r \quad (13)$$

relacionando a micro com a macrodeformação. Analogamente, as tensões (macroscópicas) homogeneizadas  $\boldsymbol{\Sigma}$  são definidas como média espacial, dentro do EVR, das microtensões  $\boldsymbol{\sigma}(\mathbf{x})$

$$\boldsymbol{\Sigma} = \langle \boldsymbol{\sigma} \rangle = \frac{1}{V_{EVR}} \int_{V_{EVR}} \boldsymbol{\sigma} dV = \sum_r f_r \boldsymbol{\sigma}_r \quad (14)$$

As tensões e deformações (macroscópicas) homogeneizadas,  $\boldsymbol{\Sigma}$  e  $\mathbf{E}$ , são relacionadas pelo tensor de rigidez (macroscópico) homogeneizado,

$$\boldsymbol{\Sigma} = \mathbb{C} : \mathbf{E} \quad (15)$$

que precisa ser relacionado com as constantes de rigidez  $\mathbb{C}_r$ , os formatos, e o arranjo espacial das fases. Essa equação é baseada na relação linear entre as deformações (macroscópicas) homogeneizadas  $\mathbf{E}$  e a deformação (microscópica) média  $\boldsymbol{\varepsilon}_r$ , resultante do princípio de superposição válido para a elasticidade linear. Essa relação é expressa em termos do tensor de concentração de quarta ordem  $\mathbb{A}_r$  de cada uma das fases  $r$ .

$$\boldsymbol{\varepsilon}_r = \mathbb{A}_r : \mathbf{E} \quad (16)$$

Substituindo a Equação 16 na Equação 10 e fazendo a média para todas as fases de acordo com a Equação 14, chega-se a:

$$\boldsymbol{\Sigma} = \sum_r f_r \mathbb{C}_r : \mathbb{A}_r : \mathbf{E} \quad (17)$$

Das Equações 17 e 15 podemos identificar a relação procurada entre os tensores de rigidez das fases  $\mathbb{C}_r$  e a rigidez homogeneizada global  $\mathbb{C}$  do EVR,

$$\mathbb{C} = \sum_r f_r \mathbb{C}_r : \mathbb{A}_r \quad (18)$$

Os tensores de concentração  $\mathbb{A}_r$  podem ser adequadamente estimados através do problema de matriz-inclusão de [5], de acordo com [34, 3].

$$\mathbb{A}_r^{est} = [\mathbb{I} + \mathbb{P}_r^0 : (\mathbb{C}_r - \mathbb{C}^0)]^{-1} : \left\{ \sum_s f_s [\mathbb{I} + \mathbb{P}_s^0 : (\mathbb{C}_s - \mathbb{C}^0)]^{-1} \right\}^{-1} \quad (19)$$

sendo que  $\mathbb{I}$ ,  $I_{ijkl} = 1/2(\delta_{ik}\delta_{jl} + \delta_{il}\delta_{kj})$ , é o tensor unidade de quarta ordem,  $\delta_{ij}$  (Delta de Kronecker) são as componentes do tensor unitário de segunda ordem, e o tensor de Hill de quarta ordem  $\mathbb{P}_r^0$  representa o formato da fase  $r$ , considerada como uma inclusão elipsoidal incorporada na matriz fictícia de rigidez  $\mathbb{C}^0$ . Para matrizes isotrópicas (que serão consideradas nesse trabalho),  $\mathbb{P}_r^0$  é escrito através do tensor de Eshelby [5].

$$\mathbb{S}_r^{esh,0} = \mathbb{P}_r^0 : \mathbb{C}^0 \quad (20)$$

Substituindo a Equação 19 na Equação 18 chega-se à estimativa procurada par ao tensor de rigidez (macroscópico) homogeneizado,  $\mathbb{C}^{est}$ , como

$$\mathbb{C}^{est} = \sum_r f_r \mathbb{C}_r : [\mathbb{I} + \mathbb{P}_r^0 : (\mathbb{C}_r - \mathbb{C}^0)]^{-1} : \left\{ \sum_s f_s [\mathbb{I} + \mathbb{P}_s^0 : (\mathbb{C}_s - \mathbb{C}^0)]^{-1} \right\}^{-1} \quad (21)$$

A escolha do tensor de rigidez  $\mathbb{C}^0$  determina qual o tipo de interação entre as fases é considerado. Para  $\mathbb{C}^0$  coincidindo com um dos tensores de rigidez de uma das fases (Esquema de Mori-Tanaka) [1], um material compósito é representado (matriz contígua com inclusões); para  $\mathbb{C}^0 = \mathbb{C}^{est}$  (Esquema Auto-Consistente, um arranjo disperso de fases é considerado (típico de policristais)). Assim como as deformações médias das fases  $\varepsilon_r$  são relevantes para o critério de falha de um material frágil, resultando na falha global do EVR, relação de concentração 16 permite a translação do critério de falha frágil da fase mais fraca  $r = w$  para um critério de falha de um material frágil macroscópico (homogeneizado).

$$\begin{aligned} f_w(\boldsymbol{\sigma}) &= 0 = f_w(\mathbb{C}_w : \boldsymbol{\varepsilon}_w) = f_w(\mathbb{C}_w : \mathbb{A}_w : \mathbf{E}) = \\ &= f_w(\mathbb{C}_w : \mathbb{C}^{-1} : \boldsymbol{\Sigma}) = \mathfrak{F}(\boldsymbol{\Sigma}) \end{aligned} \quad (22)$$

## 2.5. Atividades Biológicas na microescala

Assume-se um EVR constituído de  $n_r$  fases,  $r = 1, \dots, n_r$ , exibindo comportamento elástico com dano (mecânico) e capacidade de perda e ganho de rigidez por atividades biológicas.

O processo de perda e reparação óssea é um processo interno que ocorre na estrutura dos ossos e sofre influência de estímulos mecânicos e biológicos. De acordo com a teoria da termodinâmica esse processo está bem definido para o caso isotérmico se forem conhecidos o tensor de deformações  $\boldsymbol{\varepsilon}$  (variável observável) e um conjunto de  $N$  variáveis internas escalares  $\{\alpha^1, \alpha^2, \alpha^3, \dots, \alpha^N\}$ . As variáveis internas podem ser relacionadas a fenômenos mecânicos ou biológicos [11, 10, 32, 21].

As variáveis internas que serão utilizadas no trabalho, chamadas de  $\{\alpha^p\}^i$ , serão utilizadas para descrever o processo de perda de rigidez (microfissuração, perda óssea), enquanto outras, chamadas de  $\{\alpha^g\}^j$  serão utilizadas para descrever o processo de ganho de rigidez (formação, ganho ósseo). No estudo em questão iremos considerar duas variáveis internas biológicas.

$$\alpha^b = \alpha^g - \alpha^p \quad (23)$$

Os índices  $p$  e  $g$  representam as variáveis internas biológicas de perda e ganho de rigidez.

A seguinte lei constitutiva é proposta:

$$\boldsymbol{\sigma}_r = (1 - \alpha_r^p + \alpha_r^g) \mathbb{C}_r : \boldsymbol{\varepsilon}_r \quad (24)$$

Na Equação 24,  $\boldsymbol{\sigma}_r$  e  $\boldsymbol{\varepsilon}_r$  são os tensores de tensão e deformação (linearizados) homogeneizados na fase  $r$  através do tensor de elasticidade  $\mathbb{C}_r$ ;  $\alpha_r^p$  e  $\alpha_r^g$  são as variáveis internas da fase  $r$ .

As variáveis internas  $\alpha_r^g$  e  $\alpha_r^p$  são afetadas pelas mudanças no volume ósseo por relações lineares para redução ou perda e ganho de volume ósseo de acordo com relações lineares.

## 2.6. Caracterização dos Scaffolds

A pesquisa para a determinação de materiais candidatos que possam ser usados para a fabricação de *scaffolds* têm focado principalmente em biomateriais à base de hidroxiapatita (HA). O uso de HA em *scaffolds* leva à um material implantado de excelente biocompatibilidade que apresenta grande semelhança com a estrutura, composição e propriedades mecânicas do tecido ósseo. O uso de HA pode ser na forma pura, em compósitos, com cerâmicas, metais ou inclusões de polímeros [6].

Diversas formas de produção de *scaffolds* à base de HA poroso podem ser encontradas na literatura. Alguns exemplos: mistura de HA triturado com 10% de solução de peróxido de hidrogênio em molde; HA, água e butiral polivinílico; HA precipitado que foi compactado e estampado em diferentes temperaturas; mistura aquosa de HA aplicado à um processo de moldagem. [6].

## 2.7. A micromecânica de biomateriais a base de hidroxiapatita

Segundo [6] os biomateriais a base de hidroxiapatita podem ser descritos como um meio poroso de policristais contendo hidroxiapatita e poros vazios. A hidroxiapatita está presente em formato cilíndrico (tipo agulhas) com rigidez  $\mathbb{C}_{HA}$  e fração de volume  $(1 - \phi)$ , orientadas em todas as direções. Já os poros podem ser caracterizados como esferas vazias de rigidez zero e fração de volume  $\phi$  (porosidade), como mostra a Figura 2.

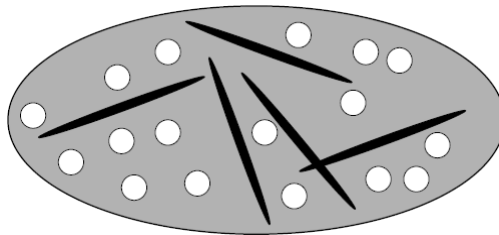


Figura 2. Elemento de volume representativo da matriz porosa do biomaterial

## 2.8. Relações Constitutivas da microescala

No sistema de coordenadas de referência  $(\mathbf{e}_1, \mathbf{e}_2, \mathbf{e}_3)$ , o vetor de orientação da “agulha” de hidroxiapatita  $\mathbf{N} = \mathbf{e}_r$  é dado pelos ângulos de Euler  $\vartheta$  e  $\phi$  como mostra a Figura



3. Utilizando a Equação 21 com  $\mathbb{C}^0 = \mathbb{C}^{est} = \mathbb{C}_{poly}$  (esquema auto-consistente) e para um número infinito de fases sólidas relacionadas com as direções  $\underline{N} = \underline{e}_r(\vartheta, \phi)$ , que possuem distribuição uniforme no espaço ( $\vartheta \in [0, 2\pi]$ ;  $\phi \in [0, \pi]$ ), podemos escrever a rigidez homogeneizada para o biomaterial poroso de hidroxiapatita como:

$$\mathbb{C}_{poly} = (1 - \phi) \mathbb{C}_{HA} : \left\langle \left[ \mathbb{I} + \mathbb{P}_{cyl}^{poly} : (\mathbb{C}_{HA} - \mathbb{C}_{poly}) \right]^{-1} \right\rangle : \left\{ (1 - \phi) \left\langle \left[ \mathbb{I} + \mathbb{P}_{cyl}^{poly} : (\mathbb{C}_{HA} - \mathbb{C}_{poly}) \right]^{-1} \right\rangle + \phi (\mathbb{I} - \mathbb{P}_{sph}^{poly} : \mathbb{C}_{poly})^{-1} \right\}^{-1} \quad (25)$$

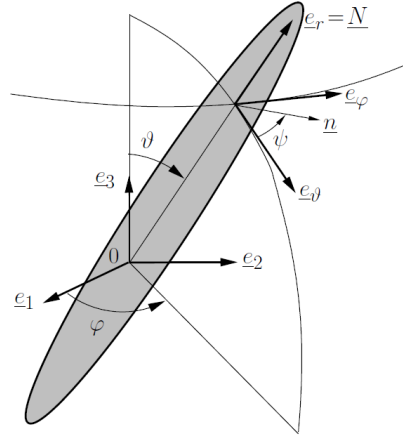


Figura 3. Inclusões elipsoidais de Hidroxiapatita. Fonte: [6].

A média angular da Equação 25 é dada por:

$$\left\langle \left[ \mathbb{I} + \mathbb{P}_{cyl}^{poly} : (\mathbb{C}_{HA} - \mathbb{C}_{poly}) \right]^{-1} \right\rangle = \int_{\varphi=0}^{2\pi} \int_{\vartheta=0}^{\pi} \left[ \mathbb{I} + \mathbb{P}_{cyl}^{poly}(\varphi, \vartheta) : (\mathbb{C}_{HA} - \mathbb{C}_{poly}) \right]^{-1} \frac{\sin(\vartheta) d\vartheta d\varphi}{4\pi} \quad (26)$$

sendo  $\mathbb{P}_{sph}^{poly}$  e  $\mathbb{P}_{cyl}^{poly}$  os tensores de Hill de quarta ordem para inclusões esféricas e cilíndricas, respectivamente, em uma matriz isotrópica com rigidez  $\mathbb{C}_{poly} = 3k_{poly}\mathbb{J} + 2\mu_{poly}\mathbb{K}$ ,  $\mathbb{J}$ ,  $J_{ijkl} = 1/3\delta_{ij}\delta_{kl}$ , é a parte volumétrica do tensor identidade de quarta-ordem  $\mathbb{I}$ , e  $\mathbb{K} = \mathbb{I} - \mathbb{J}$  é a parte desviatória. Os tensores de Hill são relacionados com os tensores de Eshelby via Equação 20. O tensor de Eshelby  $\mathbb{S}_{sph}^{esh}$  correspondente a inclusões esféricas (poros) é escrito como:

$$\mathbb{S}_{sph}^{esh} = \frac{3k_{poly}}{3k_{poly} + 4\mu_{poly}} \mathbb{J} + \frac{6(k_{poly} + 2\mu_{poly})}{5(3k_{poly} + 4\mu_{poly})} \mathbb{K} \quad (27)$$

Na base  $(\underline{e}_\varphi, \underline{e}_\vartheta, \underline{e}_r)$  ( $\varphi = 1, \vartheta = 2, r = 3$ ) para as inclusões elipsoidais, as componentes não zero do tensor de Eshelby  $\mathbb{S}_{cyl}^{esh}$  correspondentes às inclusões cilíndricas são descritas a seguir:

$$\begin{aligned}
S_{cyl,1111}^{esh} &= S_{cyl,2222}^{esh} = \frac{5 - 4\nu_{poly}}{8(1 - \nu_{poly})} \\
S_{cyl,1122}^{esh} &= S_{cyl,2211}^{esh} = \frac{-1 + 4\nu_{poly}}{8(1 - \nu_{poly})} \\
S_{cyl,1133}^{esh} &= S_{cyl,3311}^{esh} = \frac{\nu_{poly}}{2(1 - \nu_{poly})} \\
S_{cyl,2323}^{esh} &= S_{cyl,3232}^{esh} = S_{cyl,3223}^{esh} = S_{cyl,2332}^{esh} = \\
&= S_{cyl,3131}^{esh} = S_{cyl,1313}^{esh} = S_{cyl,1331}^{esh} = S_{cyl,3113}^{esh} = \frac{1}{4} \\
S_{cyl,1212}^{esh} &= S_{cyl,2121}^{esh} = S_{cyl,2112}^{esh} = S_{cyl,1221}^{esh} = \frac{3 - 4\nu_{poly}}{8(1 - \nu_{poly})}
\end{aligned} \tag{28}$$

e o Coeficiente de Poisson para o policristal,

$$\nu_{poly} = \frac{3k_{poly} + 2\mu_{poly}}{6k_{poly} + 2\mu_{poly}} \tag{29}$$

### 3. INTERAÇÕES CELULARES NO REMODELAMENTO ÓSSEO

O tecido ósseo é um sistema dinâmico capaz de adaptar sua geometria e propriedades mecânicas em resposta a estímulos físicos. Esse processo de adaptação, conhecido como remodelamento, requer a atividade sincronizada de pelo menos três tipos celulares: osteoblastos, osteoclastos e osteócitos - responsáveis pela formação de tecido, reabsorção e reconhecimento de estímulos, respectivamente [24].

O remodelamento é descrito como um ciclo composto por três etapas, como mostrado na Figura 4: (i) diferenciação de monócitos em osteoclastos, iniciando o processo de reabsorção que dura em torno de três semanas [9]. Em seguida os osteoclastos sinalizam a transição (ii) que consiste da ativação de osteoblastos e o começo da deposição do tecido, se prolongando por pelo menos três meses [20]. E por fim, a formação do tecido é gradualmente interrompida até ser finalizado (iii).

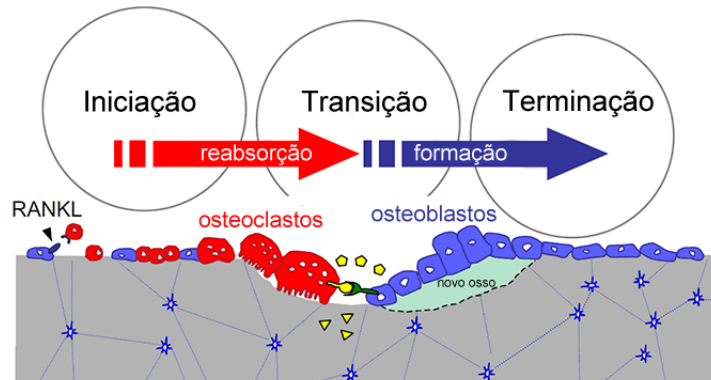


Figura 4. Estapas do Remodelamento. [20]

O tamanho populacional de osteoblastos e osteoclastos depende da concentração de duas moléculas sinalizadoras produzidas por osteoblastos conhecidas como RANKL (ligante do receptor RANK) e osteoprotegerina (OPG). O RANKL promove a proliferação de osteoclastos e a reabsorção de tecido, enquanto o OPG atua como um falso receptor para RANKL, diminuindo sua concentração efetiva e consequentemente a diferenciação de osteoclastos [20].

O balanço da síntese de RANKL e OPG é função do contexto e dos sinais que essas células recebem. Por exemplo, a regulação do cálcio plasmático pelo paratormônio (PTH) é dada por sua capacidade de inibir a expressão de OPG e induzir a de RANKL em osteoblastos, assim, aumentando reabsorção de cálcio nos ossos por osteoclastos [28]. De fato, qualquer agente pró-reabsorção e antirreabsorção, como interleucinas, fatores de crescimento locais ou hormônios sistêmicos, estimulam a concentração de OPG e RANKL, que por sua vez controlam o tamanho da população de osteoblastos e osteoclastos [2].

### 3.1. Modelos matemáticos para as interações celulares

A discussão dessa seção é baseada no artigo de Lemaire [17]. O autor apresenta um sistema de equações diferenciais ordinárias que modelam as interações celulares. A estrutura lógica do modelo está explicada na Figura 5.

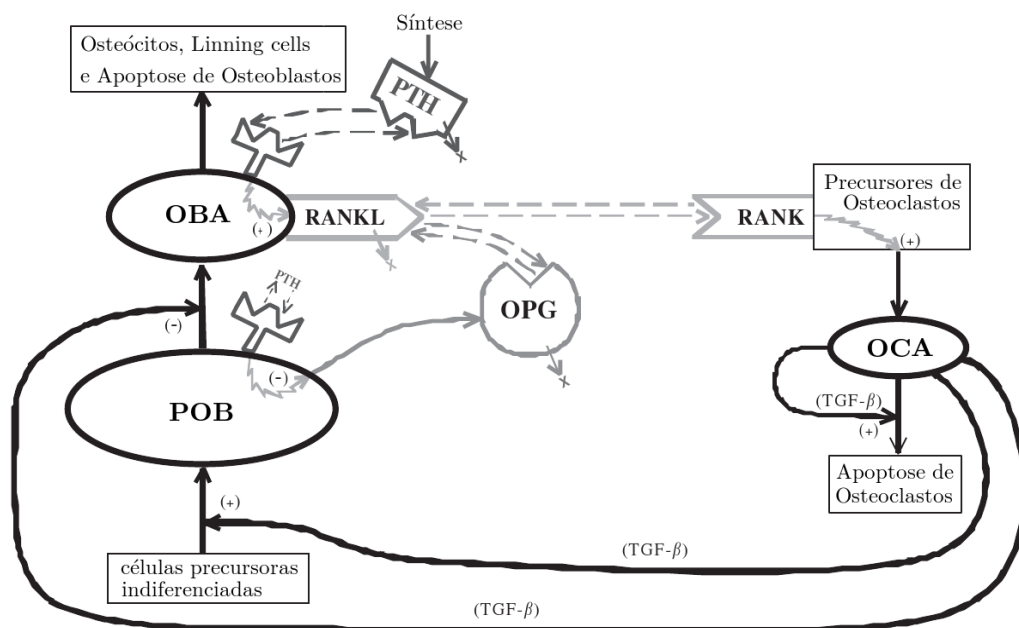


Figura 5. Estrutura do Modelo de Lemaire

Legenda: Diagrama representando a estrutura básica do modelo. Os desenhos ovais representam o compartimento de células ósseas. As linhas sólidas representam os fluxos dos elementos representados. As linhas sólidas com sinais (+) ou (-) representam uma ação estimuladora ou inibidora, respectivamente. As linhas em zig-zag representam a sinalização celular indicando um aumento ou diminuição da produção do agente indicado. As pequenas flechas apontando a um "X" indicam um fluxo de eliminação. As linhas duplas pontilhadas representam a ligação do receptor com o ligante. Os retângulos representam as células que não estão incluídas no modelo.

A diferenciação de osteoblastos, osteoclastos e osteócitos são processos complexos com inúmeras etapas e fatores envolvidos. No modelo foram considerados sete grupos celulares que representam as etapas temporais do BMU. A linhagem osteoblástica é composta por quatro grupos que incluem as células precursoras indiferenciadas, os osteoblastos precursors

(OBP) e osteoblastos ativos (OBA) e um estágio final com osteócitos (não efetivos), *Linning cells* (células de revestimento) e osteoblastos apoptóticos. A osteoclástica consiste de precursores inativos, osteoclastos ativos e apoptóticos. A quantidade de progenitores de osteoblastos e osteoclastos é considerada ilimitada no modelo.

Os receptores de PTH estão expressos em grande parte da superfície dos osteoblastos [7, 31]. Níveis quase constantes de PTH no sangue, através da ligação com esses receptores, estimulam a produção de RANKL e inibem a produção de OPG por osteoblastos [2, 31, 8, 18], o que causa um aumento no número de Osteoclastos ativos. Efeitos diretos de PTH nos osteoblastos tem sido observado experimentalmente [15, 7, 4]. No modelo, os efeitos da sinalização osteoblasto-osteoclasto por indução do PTH, são controladas apenas através do eixo de comunicação celular: RANK-RANKL-OPG.

No modelo da Figura 5, as interações celulares são mediadas por ativação de receptores celulares. Os diferentes tipos celulares representados no modelo respondem à ativação dos seus receptores produzindo novas moléculas, diferenciando-se ou morrendo.

Sem considerar as interações com osteoblastos, a reação química da ligação do PTH com o seu receptor é representado como na Reação 30.



sendo  $p_P$  e  $d_P$  abreviações para fluxos de produção e destruição de PTH, respectivamente.  $P_r \cdot P$  é o complexo formado pelo PTH e seu receptor. Aplicando a lei da conservação da massa na Reação 30 pode-se chegar nas Equações Diferenciais 31 e 32 [16], sendo que Lemaire ainda incluiu nas equações o efeito das duas ligações que o PTH pode fazer com os osteoblastos, como é mostrado no Figura 5.

$$\frac{dP}{dt} = S_p + I_p + (k_6 P_r \cdot P - k_5 (R_T^P - P_r \cdot P) P (B + R) - k_P P) \quad (31)$$

$$\frac{dP_r \cdot P}{dt} = k_5 (R_T^P - P_r \cdot P) - k_6 P_r \cdot P \quad (32)$$

A soma  $S_p + I_p$  é o total de produção de PTH e  $k_P$  é uma taxa de degradação do PTH de primeira ordem.  $S_p$  representa a taxa de síntese basal do PTH (suposta para ser fixa), e  $I_p$  é a taxa externa de administração de PTH. Dependendo do tipo de administração, o paratormônio pode ser constante ou dependente do tempo.  $R_T^P$  é o número de receptores de PTH por célula, com valor constante.  $B$  e  $R$  são as respectivas concentrações de OBAs e POBs. A Reação de ligação 30 entra em equilíbrio muito mais rapidamente do que o tempo de mudanças consideráveis das populações de células do modelo. Esse é também o caso de todas as outras reações de ligação do modelo. Consequentemente, apenas os estados permanentes desses eventos moleculares realmente alteram a dinâmica celular do modelo. No equilíbrio, a proporção de receptores de PTH ocupados é dado por  $\pi_P = P_r \cdot P / R_T^P = P / (P + P^S)$ , sendo  $P^S = k_6 / k_5$ , portanto a concentração de PTH é  $P = (S_p + I_p) / k_P = P^0 + \bar{P}$ , sendo  $P^0 = S_p / k_P$  e  $\bar{P} = I_p / k_P$ . Pode-se aproximar a relação da proporção de receptores de PTH ocupados, para  $P^0 \ll P^S$ , como mostra a Equação 33.

$$\pi_P = \frac{P}{P + P^s} \approx \frac{\bar{P} + P^0}{\bar{P} + P^s} \quad (33)$$

A definição das reações de ligação de OPG ( $O$ ) com RANKL ( $L$ ) e RANKL com RANK ( $K$ ) seguem o mesmo raciocínio da formulação do PTH e podem ser encontradas com mais detalhe em [17]. Lemaire leva em consideração que a produção de RANKL e OPG é diferenciada. A síntese dessas proteínas ainda não é muito bem entendida [2, 19], mas alguns dados experimentais apontam que o RANKL é essencialmente produzido por osteoblastos ativos enquanto o OPG é secretado pelos osteoblastos imaturos[17]. A equação de concentração de OPG pode ser descrita como:

$$O = \frac{K_0^P}{k_0 \pi_p} R + \frac{I_0}{k_0} \quad (34)$$

sendo  $K_0^P$  a taxa mínima de produção de OPG por célula,  $\pi_p$  a proporção de receptores de PTH ocupados da Equação 33,  $I_0$  a taxa de administração externa de OPG e  $k_0$  a taxa de produção de OPG.

Para a proteína RANKL:

$$L = \frac{K_L^P \pi_p B}{1 + k_3 K/k_4 + k_1 O/k_2} \left( 1 + \frac{I_L}{r_L} \right) \quad (35)$$

onde a concentração de RANKL que os osteoblastos podem produzir é governada pelo valor de  $K_L^P \pi_p B$ . Os valores  $k_1$  e  $k_2$  são constantes de associação e desassociação de *RANKL* e *OPG*,  $k_3$  e  $k_4$  para RANKL e RANK.

As equações que governam a evolução do número de células também são equações diferenciais. Cada compartimento de células é alimentado com um fluxo de entrada de novas células que terminaram seu estágio de diferenciação e é esvaziado com um fluxo de saída de células que sofreram apoptose.

A linhagem celular dos osteoblastos é alimentada por uma grande população de progenitores indiferenciados que expressam um receptor específico de TGF- $\beta$ . Uma vez ativado, esse receptor induz diferenciação dos progenitores em pré-osteoblastos. No modelo de Lemaire se assume que a concentração de TGF- $\beta$  é proporcional ao tamanho populacional de osteoclastos ativos. A resposta dos osteoblastos frente a concentração de TGF- $\beta$  é representada por uma relação de proporção  $\pi_C$ , função do fator de ocupação do seu receptor:

$$D_R \pi_C = D_R \frac{C + C^0}{C + C^S} \quad (36)$$

$D_R$  é um fator de proporcionalidade.  $C$  é a concentração de osteoclastos ativos,  $C^S$  corresponde ao coeficiente de dissociação da ligação do TGF- $\beta$  ao seu ligante e  $C^0$  representa a concentração basal de osteoclastos ativos no sistema. Adota-se  $C^0 = f_0 C^S$ , sendo  $f_0$  uma proporção fixa.

O Fluxo de saída do compartimento dos POB's é também um fluxo de entrada para o compartimento dos OBA's. Nesse momento, o ligante do TGF- $\beta$  atua inibindo a diferenciação dos POB's resultando numa resposta celular inversamente proporcional à ocupação do receptor de TGF- $\beta$ ,  $\pi_C$ .

$$\frac{D_B}{\pi_C} R = D_B \frac{C + C^S}{C + C^0} R \quad (37)$$

onde  $D_B$  é um fator de proporcionalidade,  $d_B$  é definido pela relação  $D_B = f_0 d_B$ , sendo  $f_0$  uma proporção fixa. A taxa de diferenciação dos POB's depende da concentração de POB's no seu compartimento.

Apoptose é o mais frequente estágio final da vida de um OBA. Entretanto, alguns OBA's vão se tornar "lining cells", ou osteócitos. A taxa que os OBA's entram em apoptose é um processo de degradação de primeira ordem representado por  $k_B B$ .

A ligação RANK-RANKL promove a diferenciação dos pré-osteoclastos em osteoclastos ativos. A diferenciação é proporcional à taxa de ocupação do RANK. Essa taxa é denotada por  $\pi_L$ , e é igual a  $K \cdot L/K$  no estudo do autor. O fluxo dos precursores entrando no compartimento dos OCA's é dado pela expressão 38.

$$D_C \frac{K \cdot L}{K} \quad (38)$$

sendo  $D_C$  a taxa de diferenciação de pré-osteoclastos.

O fator de crescimento TGF- $\beta$  induz a apoptose de osteoclastos por se ligar a receptores na superfície da célula [27]. Esse fenômeno pode ser representado por uma expressão similar à Equação 37.

$$D_A \pi_C C = D_A \frac{C + C^0}{C + C^S} C \quad (39)$$

sendo  $D_A$  uma constante de proporcionalidade.

Apesar do avanço significativo que o modelo de Lemaire trouxe à literatura, alguns pontos ainda não foram completados. Pivonka e colegas [22] elaboraram diversos complementos para esse modelo, por exemplo, uma nova equação diferencial que descrevesse a variação do volume ósseo. A equação (43) correlaciona a diferença no tamanho das populações de osteoblastos e osteoclastos e determinado valor de constantes, que representam a taxa de formação e reabsorção ósseo, para determinar a variação do volume.

Após Pivonka, Scheiner e colegas [26] seguiram os mesmos passos e inseriram novas funções que permitem alterar a sensibilidade do sistema para sinais mecânicos como a energia da deformação. A principal influência da energia de deformação está na proliferação de osteoblastos e na produção de RANKL.

As equações principais do modelo de Lemaire estão descritas abaixo, são as equações das interações entre as populações de células, acrescentadas de uma equação que indique o volume ósseo e funções para sensibilidade à energia de deformação.

$$\frac{dR}{dt} = D_R \pi_C + P_R R \Pi_\epsilon - \frac{D_R}{\pi_C} R \quad (40)$$

$$\frac{dB}{dt} = \frac{D_B}{\pi_C} R - k_B B \quad (41)$$

$$\frac{dC}{dt} = D_C \pi_L - D_A \pi_C C \quad (42)$$

$$\frac{dVO}{dt} = k_{form} B - k_{res} C \quad (43)$$

sendo

$$D_B = f_0 d_B, \quad \pi_C = \frac{C + f_0 C^S}{C + C^S} \quad e \quad \pi_L = \frac{K \cdot L}{K} \quad (44)$$

$P_R$  é uma constante que indica a proliferação de osteoblastos conforme a variação da energia de deformação  $\Pi_\varepsilon$ , avaliada como:

$$\Pi_\varepsilon = \Pi_{\varepsilon_{st}} \left( 1 + \lambda \left( \frac{w_{\varepsilon_{bm}}}{w_{\varepsilon_{bm_{st}}}} - 1 \right) \right) \quad (45)$$

onde  $\Pi_{\varepsilon_{st}}$  é o valor no equilíbrio de  $\Pi_\varepsilon$ ,  $w_{\varepsilon_{bm}}$  o valor da energia de deformação e  $w_{\varepsilon_{bm_{st}}}$  seu valor no equilíbrio. O parâmetro  $\lambda$  é uma constante de ajuste e possui valor igual a zero quando  $w_{\varepsilon_{bm}} \leq w_{\varepsilon_{bm_{st}}}$ .

A última modificação é dada pela função que determina a variação de RANKL como função da energia de deformação:

$$P_{RANKL_{\varepsilon_{bm}}} = \kappa \left( 1 - \frac{w_{\varepsilon_{bm}}}{w_{\varepsilon_{bm_{st}}}} \right) \quad (46)$$

sendo  $\kappa$  uma constante de ajuste cujo valor é zero para  $w_{\varepsilon_{bm}} \geq w_{\varepsilon_{bm_{st}}}$ . A função  $P_{RANKL_{\varepsilon_{bm}}}$  é um termo adicional na equação da concentração de RANKL (eq. 35).

$K \cdot L$  é avaliada no equilíbrio, pois as reações de ligação são muito mais rápidas do que o resto das interações do modelo, portanto a expressão 47 fica:

$$\frac{K \cdot L}{K} = \frac{k_3}{k_4} \frac{K_L^P \pi_P B}{1 + \frac{k_3 K}{k_4} + \frac{k_1}{k_2 k_0} \left( \frac{K_0^P R}{\pi_P} + I_0 \right)} \left( 1 + \frac{I_L}{r_L} \right) \quad (47)$$

Tabela dos parâmetros do modelo:

Tabela 1. Tabela de símbolos utilizados no modelo de Lemaire [17]

Símbolo	Descrição
$C^s$	Valor de C para se atingir metade da taxa de diferenciação
$D_A$	Taxa de apoptose de osteoclastos por TGF- $\beta$
$d_B$	Taxa de diferenciação de Osteoblastos responsivos
$D_C$	Taxa de diferenciação de Osteoblastos precursores
$D_R$	Taxa de diferenciação de Osteoblastos indiferenciados
$f_0$	Proporção fixa
$I_L$	Taxa de administração de RANKL
$I_O$	Taxa de administração de OPG
$I_P$	Taxa de administração de PTH
$K$	Concentração fixa de RANK
$k_1$	Taxa de ligação de OPG-RANKL
$k_2$	Taxa de desassociação de OPG-RANKL
$k_3$	Taxa de ligação de RANK-RANKL
$k_4$	Taxa de desassociação de RANK-RANKL
$k_5$	Taxa de ligação de PTH
$k_6$	Taxa de desassociação de PTH
$k_B$	Taxa de eliminação de osteoblastos ativos
$K_L^P$	Número máximo de ligantes RANKL na superfície de cada célula
$k_0$	Taxa de eliminação OPG
$K_0^p$	Taxa de produção mínima de OPG por célula
$k_P$	Taxa de eliminação de PTH
$r_L$	Taxa de produção de RANKL e eliminação
$S_P$	Taxa de síntese de PTH sistêmico
$k_{form}$	Taxa de formação óssea por osteoblasto
$k_{res}$	Taxa de reabsorção óssea por osteoclasto
$w_{\varepsilon_{bm}}$	Energia de deformação
$w_{\varepsilon_{bm,st}}$	Energia de deformação no equilíbrio
$P_R$	Taxa de proliferação de osteoblastos responsivos
$\kappa$	Constante de proporcionalidade para $\Pi_\varepsilon$
$\lambda$	Constante de proporcionalidade para $P_{RANKL}$

#### 4. SIMULAÇÃO E RESULTADOS

Para validação do modelo proposto neste artigo, foi analisado mecânica-biologicamente um *scaffold* de hidroxiapatita bioativo (com cultura de células *in vitro*). A seção transversal retangular de um biomaterial que possui dimensões 11 x 35 mm, de espessura 10 mm, foi submetida a um carregamento externo de 5 MPa, ilustrada a Figura 6.

Nesse estudo, considerou-se a análise de um modelo bidimensional em Estado Plano de Deformações. Foi gerada uma malha de elementos triangulares de seis nós e seis pontos de gauss (Figura 7), contendo dois graus de liberdade por nó (translação nas direções x e y).



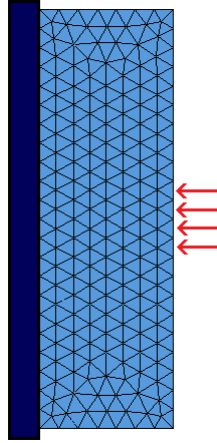


Figura 6. Malha de Elementos Finitos do modelo com a aplicação de uma carga distribuída em alguns nós do contorno.

O cálculo das micro-tensões e micro-deformações seguiu a teoria apresentada nas seções anteriores. A implementação do algoritmo foi feita no software Matlab.

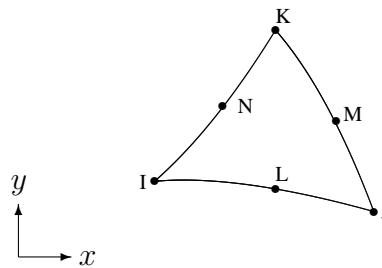


Figura 7. Elemento triangular quadrático de seis nós

A geometria simulada nos exemplos a seguir foi baseada nas dimensões do *Scaffold* DW250 ilustrado na Figura 8. A tabela a seguir ilustra os parâmetros utilizados na modelagem multiescala. O EVR possui duas fases: Hidroxiapatita e Poros (vazios), imersos numa matriz.

Tabela 2. Tabela de parâmetros da multiescala [6]

Fase	Hidroxiapatita	Vazios	Matriz
$f_r$	0.91	0.09	-
$E_r$	114 GPa	0	93 GPa
$\nu_r$	0.27	0	0.265

As condições iniciais para as Equações do modelo de Lemaire (40, 41, 42 e 43) são respectivamente 0.000773437668539 pM, 0.000728339570195 pM, 0.000912752881887 pM, 0.95 % e representam respectivamente as populações iniciais de pré-osteoblastos, osteoblastos, osteoclastos e volume ósseo. A unidade [pM] é uma unidade de concentração molar e significa *pico Molar*,  $1\text{pM} = 10^{-12}\text{mol/L} = 10^{-12}\text{mol/dm}^3 = 10^{-9}\text{mol/m}^3$ . Esse sistema de equações acopladas é resolvido utilizando o método de *runge-kutta* de quarta ordem para o tempo de 1 dia.

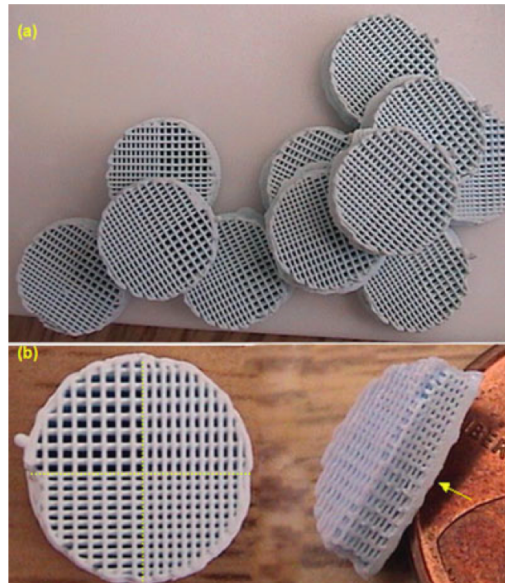


Figura 8. Foto de *Scaffold*. Micrografias ópticas de (a) vários *Scaffolds* de HA *pat-terned* com variação de tamanho dos poros (b) vistas de topo e de corte transversal de um *Scaffold* de HA DW250 ilustrando quatro arranjos diferentes de poros [29].

A malha deformada (em azul) e indeformada (em verde) podem ser visualizadas na Figura 9, a malha deformada está com um fator de aumento de mais de 8 mil vezes.

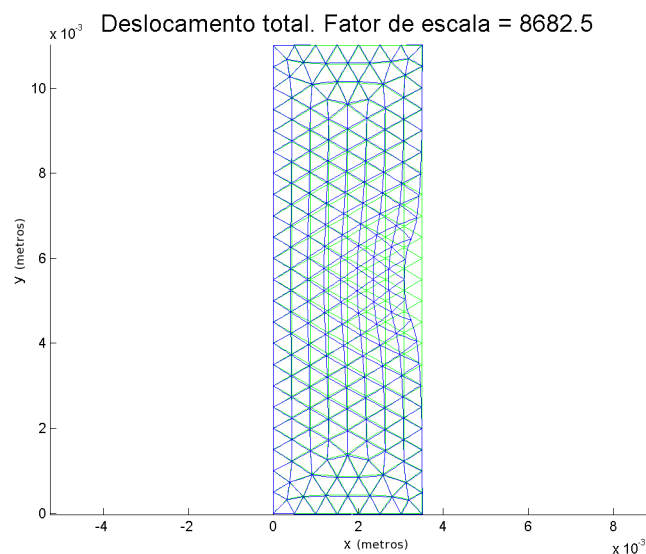


Figura 9. Malha deformada e indeformada.

Foram utilizados 354 elementos e 767 nós na malha de elementos finitos.

#### 4.1. Comparação dos resultados

A seguir será mostrada uma comparação entre os resultados clássicos da mecânica do contínuo e os resultados utilizando a abordagem da micromecânica do contínuo com o

remodelamento. A distribuição das tensões nas direções x e y são ilustrados nas Figuras 10 e 11.

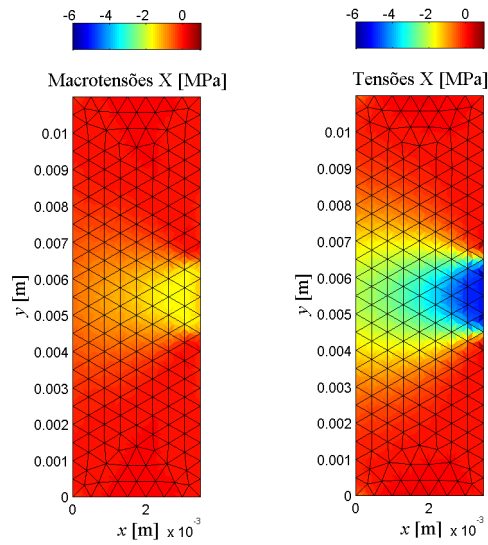


Figura 10. Comparação da distribuição de tensões na direção X.

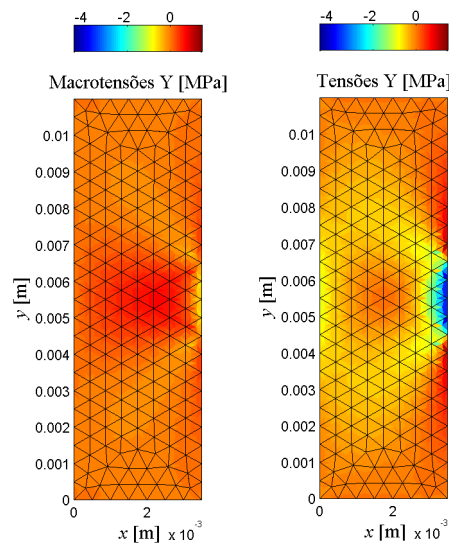


Figura 11. Comparação da distribuição de tensões na direção Y.

A Figura 12 mostra a evolução temporal das populações de células (POB, OBA e OCA) e do volume ósseo. O volume ósseo reduziu de 0.95% para 0.885% devido a uma mudança na energia de deformação da microescala 30 MPa em relação à energia de deformação de equilíbrio 40 MPa .

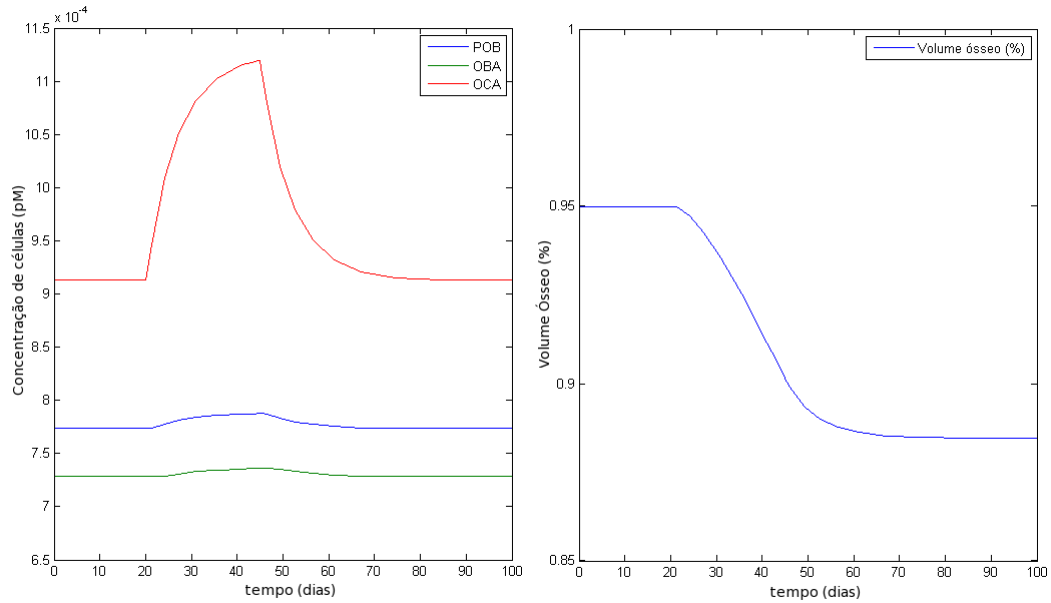


Figura 12. Evolução das populações de células e volume ósseo.

## 5. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os estudo de *Scaffolds* e do fenômeno de remodelamento ósseo são assuntos de natureza multidisciplinar e estão numa área de fronteira relativamente nova na literatura. Trata-se, portanto, com um tema bastante complexo e esse trabalho está em fase de desenvolvimento.

A análise dos resultados mostra que a distribuição de tensões nas direções X e Y se mostrou bastante diferente quando inserimos o modelo multiescala com as diferentes fases e com a população de células ósseas. Quando se utiliza o modelo micromecânico percebe-se que o nível da tensão diminuiu por dois motivos: a. houve remodelamento negativo (redução da rigidez na microescala por atividade osteoblástica) e b. o processo de homogeneização privilegiou a rigidez dos espaços vazios (poros), pois a porosidade considerada foi relativamente alta.

Sob o ponto de vista biológico o modelo descreveu bem o fenômeno de *coupling*, ou o acoplamento entre a cadeia de reações bioquímicas entre os osteoclastos e osteoblastos. O gráfico da Figura 12 mostrou bem essa variação e a interdependência que cada população em relação às outras.

Como sugestão de trabalhos futuros deve-se incluir outros exemplos com diferentes porosidades o que permitirá entender a influência de  $\phi$  acoplada ao remodelamento. O estímulo para o remodelamento também é um fator a ser considerado, existem trabalhos que consideram o dano um estímulo importante que poderá ser incluído no modelo.

## Agradecimentos

Os autores do trabalho agradecem a Capes e ao CNPQ pelas bolsas concedidas aos autores (professores e alunos de mestrado e doutorado) que desenvolveram o trabalho.

## Referências

- [1] Average stress in matrix and average elastic energy of materials with misfitting inclusions. *Acta Metallurgica*, 21(5):571 – 574, 1973.
- [2] J. E. Aubin and E. Bonnelye. Osteoprotegerin and its ligand: a new paradigm for regulation of osteoclastogenesis and bone resorption. *Medscape Womens Health*, 5 (2), 2000.
- [3] Y. Benveniste. A new approach to the application of mori-tanaka’s theory in composite materials. *Mechanics of Materials*, 6(2):147 – 157, 1987.
- [4] P. Du and Y. Ye. Endogenous parathyroid hormone-related peptide enhances proliferation and inhibits differentiation in the osteoblast-like cell line ros 17/2. *Bone*, 26 (5):429–436, 2000.
- [5] J. D. Eshelby. The determination of the elastic field of an ellipsoidal inclusion, and related problems. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences*, 241(1226):376–396, 1957.
- [6] A. Fritsch. *Multiscale Explanation of Elasticity and Strength of Bone and Bone Replacement Materials Made of Hydroxyapatite, Glass-Ceramics, or Titanium: A Continuum Micromechanics Approach*. PhD thesis, TU Wien, Vienna, Austria, 2009.
- [7] A. Fujimori and S. L. Cheng. Interactions of pth and pthrp with the pth/pthrp receptor and with downstream signaling pathways: exceptions that provide the rules [editorial; comment]. *J. Bone Mineral Res.*, 14 (2):173–177, 1991.
- [8] D. L. Halladay and R. R. Miles. Identification of signal transduction pathways and promoter sequences that mediate parathyroid hormone 1-38 inhibition of osteoprotegerin gene expression. *J. Cell Biochem.*, 84 (1):1–11, 2001.
- [9] S. Harada and G. Rodan. Control of osteoblast function and regulation of bone mass. *Nature*, 75:349–355, 2002.
- [10] M. B. Hecke, L. M. R. Carvalho, and J. A. O. Simões. A bone remodeling constitutive model using mathematical programming. internacional conference on engineering optimization. In *Internacional Conference on Engineering Optimization. Anais do congresso*, Rio de Janeiro, 2008.
- [11] M. B. Hecke, F. V. Tormena, L. A. Farani, L. M. R. Carvalho, R.D. MACHADO, and J. A. Simões. A damage-remodeling bone models derived from thermodynamics pseudo-potentials. Aveiro, 2007. Relatório Interno de Pesquisa, Universidade de Aveiro.
- [12] Christian Hellmich, Franz-Josef Ulm, and Luc Dormieux. Can the diverse elastic properties of trabecular and cortical bone be attributed to only a few tissue-independent phase properties and their interactions? *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 2:219–238, 2004. 10.1007/s10237-004-0040-0.

- [13] R Hill. The elastic behaviour of a crystalline aggregate. *Proceedings of the Physical Society. Section A*, 65(5):349, 1952.
- [14] R. Hill. Elastic properties of reinforced solids: Some theoretical principles. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 11(5):357 – 372, 1963.
- [15] Y. Isogai and T. Akatsu. Parathyroid hormone regulates osteoblast differentiation positively or negatively depending on the differentiation stages. *J. Bone Mineral Res.*, 11 (10):1384–1393, 1996.
- [16] D. A. Lauffenburger and J. J. Linderman. *Receptors: Models for Binding, Trafficking, and Signaling*. Oxford University Press, New York; Toronto, 1996.
- [17] Vincent Lemaire, Frank L. Tobina, Larry D. Grellera, Carolyn R. Choa, and Larry J. Suva. Modeling the interactions between osteoblast and osteoclast activities in bone remodeling. *jtb*, 229:293–309, 2004.
- [18] Y. Ma and R. L. Cain. Catabolic effects of continuous human pth 1 to 38 in vivo is associated with sustained stimulation of rankl and inhibition of osteoprotegerin and gene-associated bone formation. *Endocrinology*, 142 (9):4047–4054, 2001.
- [19] S. C. Manolagas. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr. Rev.*, 21 (2):115–137, 2000.
- [20] K. Matsuo and N. Irie. Osteoclast-osteoblast communication. *Arch Biochem Bioph*, 201–209:476, 2008.
- [21] E. G. F. Mercuri. Modelo computacional para descrever o remodelamento ósseo no movimento ortodôntico usando potenciais termodinâmicos generalizados e otimização. 2009. Master thesis.
- [22] P. Pivonka, J. Zimak, D. W. Smith, B. S. Gardiner, C. R. Dunstan, N. A. Sims, T. J. Martin, and G.R. Mundy. Model structure and control of bone remodeling: A theoretical study. *Bone*, 43:249–263, 2008.
- [23] A. Reuss. Berechnung der Fließgrenze von Mischkristallen auf Grund der Plastizitätsbedingung für Einkristalle. *ZAMM - Journal of Applied Mathematics and Mechanics / Zeitschrift für Angewandte Mathematik und Mechanik (Z. angew. Math. Mech.)*, 9:49–58, 1929.
- [24] A.G Robling, A.B Castillo, and C.H Turner. Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling. *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 8:455–498, 2006.
- [25] J. A. Sanz-Herrera, J. M. García-Azar, and M. Doblaré. On scaffold designing for bone regeneration: A computational multiscale approach. *Acta Biomaterialia*, 5:219–229, 2009.

- [26] S. Scheiner, P. Pivonka, C. Hellmich, and D. W. Smith. Mechanobiological regulation of bone remodeling – Theoretical development of a coupled systems biology-micromechanical approach. *ArXiv e-prints*, January 2012.
- [27] P. M. Siegel and J. Massague. Cytostatic and apoptotic actions of tgf-beta in homeostasis and cancer. *Nat. Rev. Cancer*, 3 (11):807–821, 2003.
- [28] G. Silvestrini, P. Ballanti, F. Patacchioli, M. Leopizzi, N. Gualtieri, P. Monnazi, E. Tremante, D. Sardella, and E. Bonucci. Detection of osteoprotegerin (opg) and its ligand (rankl) mrna protein in femur and tibia of the rat. *J Mol Hist*, 35:59–67, 2005.
- [29] J. L. Simon, S. Michna, Rekow E. D. Lewis, J. A., V. P. Thompson, Yampolsky A. Smay, J. E., J. R. Parsons, and J. L. Ricci. In vivo bone response to 3d periodic hydroxyapatite scaffolds assembled by direct ink writing. *J. Biomed. Mater. Res.*, 83A:747–758, 2007.
- [30] P. Suquet, editor. *Continuum micromechanics*. Springer-Verlag New York, Inc., New York, NY, USA, 1997.
- [31] S. L. Teitelbaum. Bone resorption by osteoclasts. *Science*, 289 (5484):1504–1508, 2000.
- [32] F. V. Tormena. *Um Modelo de remodelamento ósseo utilizando potenciais termodinâmicos generalizados*. PhD thesis, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil, 2009.
- [33] W. Voigt. Ueber die Beziehung zwischen den beiden Elasticitätsconstanten isotroper Kerper. *Annalen der Physik (Ann. Phys.)*, 274:573–587, 1889.
- [34] Andre Zaoui. Continuum micromechanics: Survey. *Journal of Engineering Mechanics*, 128(8):808–816, 2002.
- [35] T. I. Zohdi and P. Wriggers. *An Introduction to Computational Micromechanics*. 2008.