

AVALIAÇÃO DE OSTEOPENIA E OSTEOPOROSE POR MICROTOMOGRAFIA 3D.

REINALDO CESAR¹; ROLLO, J. M. D. A.¹; BOFFA, R. S.¹; FACHINE, L.T.¹; BELLANI, C. F.¹; LEIVAS, T. P.²

Universidade de São Paulo¹,
Programa de Pós-graduação em Engenharia Mecânica / Materiais - EESC, São Carlos, Brasil¹.
Hospital das Clínicas, São Paulo, Brasil².
rcesa@sc.usp.br¹, tfase@sc.usp.br¹

Abstract: A osteoporose é definida pelo Instituto Nacional de Saúde (NIH) como uma desordem esquelética, caracterizada pelo comprometimento da resistência óssea. A avaliação de ossos trabeculares por meio da microtomografia tridimensional computadorizada (μ CT) de raios-X permite verificar a relação da quantidade e qualidade óssea, o que contribui na determinação do risco de fraturas associadas e no tratamento da osteoporose. Os avanços dessa técnica já possibilitam uma melhor análise da qualidade óssea em função da microarquitetura em regiões anatômicas humanas como mãos e pés, quando comparada com a técnica de densitometria óssea por DEXA (Dual Energy X-ray Absorptiometry). Neste estudo, foram avaliadas vértebras humanas da região T12 extraídas de cadáveres, pré-selecionadas pela técnica de ultrassonometria de calcâneo. A análise de μ CT possibilita identificar microfraturas, determinar e relacionar padrões de alterações morfológicas da microarquitetura óssea de vértebras humanas normais, osteopênicas e osteoporóticas em função da perda de massa óssea.

Palavras-chave: Osteoporose; Vértebra; Osso trabecular; Microarquitetura; Microtomografia.

Introdução

Osteoporose é uma doença osteometabólica, e ocorre principalmente em mulheres em período da menopausa, geralmente acima dos 50 anos de idade, atribuídos ao decréscimo dos níveis de estrógeno^{[1][2]}. Pode ser observada por uma série de fatores: perda de massa óssea, alterações morfológicas, deterioração da microarquitetura, afinamento de trabéculas, aumento da porosidade, perda de conectividade, redução do número de trabéculas, deterioração do formato placa para o formato haste, e desequilíbrio na taxa de reabsorção e neoformação óssea^{[2][3][4]}. A osteoporose causa fragilidade e aumento do risco de fraturas, com pequeno ou nenhum trauma, principalmente em ossos trabeculares de regiões como quadril e vértebras^{[5][6]}, associados a uma maior morbidade e mortalidade. Observam-se na figura 1 mudanças entre um osso trabecular saudável e osteoporótico extraído da crista íliaca humana.

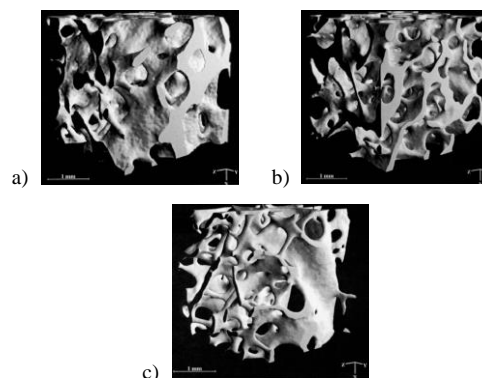


Figura 1: Microarquitetura tridimensional de osso trabecular extraído da crista íliaca humana: (a) 32 anos de idade (normal); (b) 59 anos de idade (osteopênico); (c) 80 anos de idade (osteoporótico).

O risco de fraturas em cada indivíduo dependem da quantidade e qualidade óssea^[2], associados a resistência mecânica, remodelamento ósseo (turnover), densidade mineral óssea (BMD) e microarquitetura. Embora a quantidade de osso (densidade) esta correlacionado com a resistência^{[7][8]}, a qualidade permanece inexplicável. Portanto a densidade óssea é ainda o principal determinante da resistência mecânica e risco de fraturas^[9]. Os diagnósticos clínicos que utilizam apenas densitometria (padrão ouro) não são satisfatórios em prever o risco de osteoporose^{[10][11]}, pois a medida de BMD é calculado em área (g/cm^2) pelo DXA para diagnosticar a osteoporose vertebral. Outra técnica utilizada é ultrassonometria de calcâneo, a qual fornece uma medida clínica chamada índice de rigidez, expressa em score-T. Um score-T acima de -1.0 é considerado normal, entre -1 e -2.5 reflete osteopênia e abaixo de -2.5 osteoporose^{[3][12][13]}. No entanto, estes métodos não descrevem a influencia da qualidade do osso trabecular em função da microarquitetura tridimensional, acúmulo de microfraturas e mineralização^[14].

O tecido ósseo esta em continua transformação e adaptação. As atividades celulares são separadas em três tipos: modelagem, reparação e atividade de remodelação^[15]. O remodelamento ósseo ocorre no osso cortical e trabecular^{[16][17]}. O osso trabecular é considerado um material compósito, viscoelástico, heterogêneo, ortotrópico e anisotrópico^{[18][19]}, formado por uma matriz óssea, classificada em diferentes formas de organização e composição: de natureza orgânica

(60%), essencialmente colágeno tipo I, inorgânico (30%), constituído por cristais de hidroxiapatita e água (10%)^[20], dentro de uma complexa macro e microarquitetura^{[21][22]}, proporcionando rigidez com um certo grau de elasticidade (Equação 1). Estudos das propriedades materiais do osso, em que os efeitos da geometria são avaliados, sugere que a rigidez é a característica mais afetada da componente mineral e microarquitetura^[23].

$$R = \frac{\sqrt{E}}{\rho} \phi \quad (1)$$

onde, E é o módulo de Young', ρ é a densidade do osso e ϕ é o fator de forma. A análise de imagem por μ CT possibilita a avaliação de dimensões específicas da microarquitetura (2D e 3D)^{[24][25]} de parâmetros histomorfométricos, relacionados com idade, sexo, densidade mineral e doenças^{[26][27]}. A resolução espacial da μ CT pode chegar até 0.5 μ m, o que é suficiente para medição de estruturas de trabéculas de ratos que tem espessura no tamanho de 50 a 30 milímetros^[28] e trabéculas de humanos.

Materiais e Métodos

Foram selecionadas seis vértebras T12 (cadáveres) no intervalo de 12 horas pós-óbito e divididos em três grupo: normais, osteopênicos e osteoporóticos, por meio da técnica ultrassonometria de calcâneo (Aquilies Insight - GE MEDICAL SYSTEMS LUNAR®). Extraíu-se axialmente uma amostra cilíndrica (10x20)mm de cada corpo vertebral através de broca trefina, retirou-se a medula óssea por processo de lavagem com soro fisiológico 0,9% e congelado em -20°C, para posterior análise no μ CT 1172 (SKYSCAN®, Kontich - Belgium)^[29]. A reconstrução das imagens teve resolução de (1632x1556) pixels, com tamanho de pixel de 8.88 μ m, e volume de dados correspondente a uma matriz tridimensional de (1632x1632x1556) pixel. Os procedimentos foram aprovados pelo protocolo de pesquisa n° 408/11 do Comitê de Ética da Escola de Medicina, Universidade de São Paulo / Brasil.

Resultados

Análise de Ultrassonometria

O dados encontrados na pré-seleção dos grupos foram definidos a partir da caracterização morfométrica de cadáveres e separados por meio do escore-T, representado na tabela 1.

Tabela 1: Classificação das amostras por ultrassonometria do calcâneo

Grupos	Sexo	Etnia	Idade (anos)	Altura (m)	Peso (Kg)	Escore-T
Normal 1	M	Branca	47	1,76	52,6	-0.667

Normal 2	M	Branca	75	1,72	59,0	-0.933
Osteopênico 1	M	Branca	93	1,59	51,0	-2.500
Osteopênico 2	F	Branca	75	1,51	39,5	-2.333
Osteoporótico 1	F	Branca	89	1,51	35,2	-2.900
Osteoporótico 2	F	Branca	91	1,40	37,0	-2.967

Os valores da tabela 1 indicam uma referência do estado clínico de cada indivíduo do momento do pós-óbito, utilizado para separar e correlacionar os grupos em uma posterior análise na μ CT.

Microtomografia

Com base nos parâmetros histomorfométricos 3D^[30] obtidos da reconstrução de fatias tomográficas gerada pelos softwares CTAn (Figura 2) e do modelo sólido pelo CTVox (Figura 3-5), foi possível analisar a microarquitetura do trabecular de vértebras humanas das amostras dos grupos normais, osteopênicos e osteoporóticos.

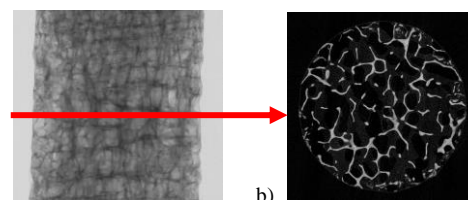


Figura 2: (a) Imagem de reconstrução tomográfica (3D) de amostra de osso trabecular; (b) Uma camada tomográfica (2D).

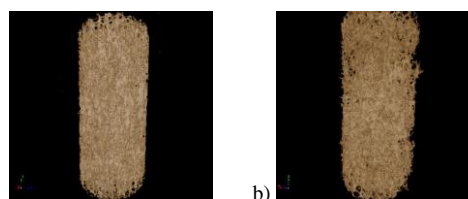


Figura 3: Modelo sólido 3D (grupo normal): a) Amostra 1; b) Amostra 2.

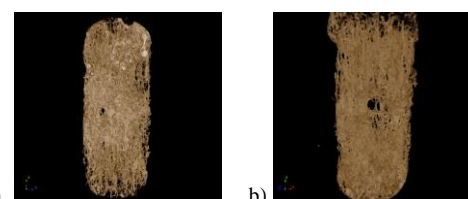


Figura 4: Modelo sólido 3D (grupo osteopênico): a) Amostra 1; b) Amostra 2

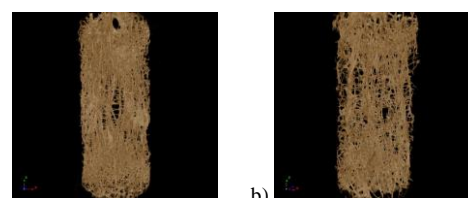


Figura 5: Modelo sólido 3D (grupo osteoporótico): a) Amostra 1; b) Amostra 2.

A Figura 3 (grupo normal) tem um maior numero de trabéculas no formato placas, volume ósseo, conectividade e baixa erosão. Figura 4 (grupo osteopênico), apresenta uma redução no numero de

trabéculas no formato placa, volume ósseo, conectividade, aumento de hastes e defeitos na estrutura óssea. Na Figura 5 (grupo osteoporótico), as trabéculas são formadas predominantemente por hastes, afinamento, baixa conectividade, degradação da estrutura trabecular e aumento da porosidade. Os principais parâmetros da microarquitetura trabecular gerados pela análise 3D estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2: Parâmetros histomorfométrico 3D de cada amostra

Abreviação	N1	N2	On1	On 2	Or1	Or2
BV (mm ³)	141.761	222.160	85.979	157.798	79.102	66.794
BV/TV (%)	7.196	12.398	4.946	6.840	4.214	3.112
Tb.Th (mm)	0.117	0.146	0.131	0.145	0.115	0.122
Tb.Sp (mm)	0.964	0.651	1.362	1.094	1.201	1.356
Tb.N	0.614	0.847	0.377	0.473	0.366	0.254
SMI	1.347	1.910	1.491	2.350	1.777	1.983
DA	0.386	0.371	0.191	0.055	0.410	0.234
Autovalor 1	5.451	3.389	6.730	6.694	5.251	7.854
Autovalor 2	6.338	3.587	7.735	6.933	5.962	8.413
Autovalor 3	8.884	5.388	8.324	7.087	8.902	10.252
Conn.Dn (1/mm ³)	10.893	15.285	5.111	18.578	3.878	3.256
Po tot (%)	92.904	87.611	95.054	93.160	95.785	96.888
BMD (g/cm ³)	0.968	0.902	0.900	0.766	0.808	0.779
BMD SD (g/cm ³)	0.001	0.001	0.002	0.002	0.002	0.002

N1 = Normal 1, N2 = Normal 2, On1 = Osteopênico 1, On2 = Osteopênico 2, Or1 = Osteoporótico, Or2 = Osteoporótico 2, BMD α = 0.05,

onde, BV é o volume ósseo, TV é o volume da amostra, BV/TV é a porcentagem de volume ósseo, BS é a superfície óssea, Tb.Th é a espessura trabecular, Tb.Sp é a separação trabecular, Tb.N é o número de trabéculas, SMI é o índice de modelo estrutural, DA é o grau de anisotropia, Conn.Dn é a densidade de conectividade, Po (tot) é a porosidade total, BMD é a densidade mineral óssea, BMD SD é o desvio padrão.

A Tabela 2 apresenta alguns dos principais parâmetros histomorfométricos obtidos pelo programa CTAn (CT-Analyser). BV é o volume ósseo binarizado na região do volume de interesse (VOI), calculado utilizando tetraedros construídos da superfície triangularizada, com valores menores para os osteoporóticos. O índice de TV é determinado pela contagem dos voxels do tecido ósseo no interior do volume de interesse (VOI). BV/TV é a razão do volume ósseo dentro do VOI, utilizado para caracterizar a quantidade de massa óssea da estrutura e representar o teor mineral da amostra, sendo que neste caso é mais baixo para o grupo osteoporótico.

Tb.Th é calculado utilizando esferas cujo diâmetro deve preencher a estrutura trabecular. Há uma tendência para valores mais elevados para os normais e osteopênicos. Tb.Sp usa o mesmo princípio calculado Tb.Th, nesse caso os osteopênicos e osteoporóticos tem maiores valores. Tb.N é o inverso da distância entre o eixo médio das trabéculas, sendo respectivamente baixo para osteopênicos e osteoporóticos. O SMI indica a prevalência de hastes e placas na estrutura 3D do osso trabecular, o que envolve uma medição da convexidade

da superfície. Estes parâmetros são importantes para conhecer a degradação do osso trabecular, que é caracterizado pela transição da arquitetura do tipo placa para haste, onde uma estrutura com somente placas ou hastes terão valores de SMI 0 e 3 respectivamente, com valores mais elevados para os osteopênicos e osteoporóticos. DA é baseado na intersecção do comprimento significativo (MIL) de trabéculas em certo número de poros, isto é, medida da tendência de uma dada simetria para estrutura. O DA do VOI é a relação entre os autovalores máximo e mínimo, onde DA=1 significa completa anisotropia e DA=0 significa completa isotropia. Pode se observar que o indivíduo osteoporótico 1 tende a ser anisotrópico enquanto o osteopênico 2 tende a ser isotrópico.

Os autovalores define os raios da direção principal da estrutura. Na Tabela 3, o autovalor 3 é significativamente maior que 1 e 2, indicando uma tendência para simetria transversalmente isotrópica (uma direção preferencial de carregamento pela gravidade), observado estatisticamente pelo teste t (Tabela. 3), e avaliou a semelhança estatística ou diferenças dos autovalores. Para diferenças médias, o autovalor 1 e 2 estão bem correlacionados, enquanto 1 e 3, 2 e 3 não estão bem correlacionados, porque o autovalor 3 tem diferença comparada com 1 e 2.

Tabela 3: Correlação estatística das diferenças dos autovalores

	Autovalores	Autovalores	Autovalores
	1 e 2	1 e 3	2 e 3
Média das diferenças	0,600	2,240	1,640
SD	0,330	1,210	1,090
Valor de p	0,007	0,006	0,014

onde N = 5; α = 0.05; p = 0.01 muito significativo; p<0.001 extremamente significativo.

Conn.Dn é definido como o número máximo de múltiplas conexões interligadas na estrutura. O grupo osteoporótico apresenta redução significativa da densidade de conectividade. Po é o volume de poros no interior de cada objeto 3D, discreto como a porcentagem total de poros dentro do VOI. De acordo com os resultados acima, a porosidade total é maior para o grupo osteoporótico. A BMD média foi calculada para cada caso e teve valores menores para o grupo osteoporótico, como já esperado.

Para compreender a integridade óssea, o comportamento mecânico e a resistência a fratura, foram correlacionadas variáveis morfológicas da microarquitetura dos ossos trabeculares entre os grupos, empregando o software Origin e aplicando um fit linear, para os parâmetros de espessura e separação trabecular, fração do volume, conectividade e porosidades, como demonstrado na Figura 6a-c, no entanto, não são estatisticamente representativos pelo baixo número de amostras em função dos parâmetros analisados.

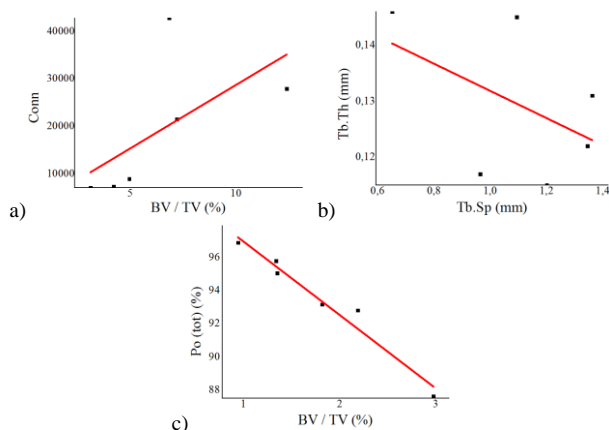


Figura 6: Correlação dos parâmetros morfológicos: (a) BV/TV x Conn.Dn; (b) Tb.Sp x Tb.Th; (c) BV/TV x Po (tot).

Na Figura 6a, o gráfico entre a fração de volume ósseo pela conectividade é diretamente proporcional. As Figuras 6.b-c mostram uma correlação inversamente proporcional entre espessura pela separação trabecular e porcentagem óssea pela porosidade total, respectivamente.

Conclusão

Os grupos osteopênicos e osteoporóticos apresentam uma tendência de redução de espessura, conectividade trabecular, densidade e resistência óssea, aumento da porosidade e degradação óssea. Pode se observar no caso específico da osteopenia (Fig. 3.2.5b), a formação de algumas regiões de placas decorrentes de microfraturas. Os parâmetros apresentados explicam a maior tendência do grupo osteoporótico ao risco de fratura.

Concluiu-se para este estudo, que a qualidade óssea em função do binômio da composição e microarquitura são dependentes de fatores como: fração de volume ou densidade óssea, heterogeneidade, orientação e organização das trabéculas (anisotropia), conectividade e porosidade, podendo estes contribuir na análise do comportamento mecânicos da estrutura trabecular e correlacionar com o risco de fratura associado a osteoporose.

Agradecimentos

Esta pesquisa contou com o apoio da CAPES, CNPq e FAPESP (protocolo n. 2010/51698-0). Os autores gostariam de agradecer ao Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas de São Paulo e a Escola de Engenharia de São Carlos pela parceria, e a todos os envolvidos na coleta e análise de amostras.

Referencias

[1] Boonen, S., 2007. Bone remodeling, bone loss and bone fragility in old age, In C. Roux (Ed), *The Living Skeleton*. Rueil-Malmaison: Wolters Kluwer Health

[2] (NIH) National Institutes of Health (2013). National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases. Consensus statement – osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. Available at <www.nih.gov/medlineplus/osteoporosis.html>. Accessed in april.

[3] (NOF) National Osteoporosis Foundation (2013). Physicians's guide to prevention and treatment of osteoporosis. Available at <<http://www.nof.org/physguide/diagnosis.htm>> Accessed in april.

[4] Bousson, V.; Peyrin, F.; Bergot, C., 2004. Cortical bone in the human femoral neck: three-dimensional appearance and porosity using synchrotron radiation, *Journal of Bone and Mineral Research* 19, p794.

[5] Adams, M. A., Pollintine, P., Tobias, J. H., Wakley G. K., Dolan, P., 2006. Intervertebral Disc Degeneration can predispose to anterior vertebral fractures in the thoracolumbar spine, *Journal of Bone and Mineral Research* 21, p. 1409.

[6] Fechtenbaum, J., Cropet, C., Kolta, S., Horlait, S., Orcel, P., Roux, C., 2005. The severity of vertebral fractures and health-related quality of life in osteoporotic postmenopausal women, *Osteoporosis International* 16, p. 2175.

[7] Pothuau, L.; Rietbergen, B. V.; Mosekilde. L.; Beuf, O.; Levits, P.; Benhamou, C. L.; Majumdar, S., 2002. Combination of topological parameters and bone volume fraction better predicts the mechanical properties of trabecular bone, *Journal of Biomechanics* 35, p. 1091.

[8] Ettinger, M. P., 2003. Aging bone and osteoporosis: strategies for preventing fractures in the elderly, *Archives of Internal Medicine* 163, p. 2237.

[9] Helgason, B.; Perilli, E., Schileo, E., Taddei, F., Brynjólfsson, S.; Viceconti, M., 2008. Mathematical relationships between bone density and mechanical properties: A literature review, *Clinical Biomechanics* 23, p. 135.

[10] Dempster, D. W., 2003. Bone microarchitecture and strength, *Osteoporosis International* 14, p. S54.

[11] Karunanithi, R., Ganesasa, S., Panicker, T., Korath, M., Jagadeesan, K., 2007. Assessment of bone mineral density by DXA and the trabecular microarchitecture of calcaneum by texture analysis in pre and post menopausal women in the evaluation of osteoporosis, *Journal of Medical Physics* 32, p. 161.

-
- [12] WHO - World Health Organization Study Group 2010. Available at <http://www.who.int/chp/topics/Osteoporosis>. Accessed in 2013.
- [13] Hans, D., Downs Jr, R. W., Duboeuf, F., Greenspan, S., Jankowski, L. G., Kiebzak, G. M., Petak, S. M., 2006. Skeletal sites for osteoporosis diagnosis: the 2005 ISCD official positions, *Journal of Clinical Densitometry* 9, p. 15.
- [14] Stauber, M., Muller, R., 2006. Age-related changes in trabecular bone microstructures: global and local morphometry, *Osteoporosis International* 17, p. 616.
- [15] Athanasiou, K. A., Zhu, C. F., Lanctor, D. R., Agrawal, G. M., Wang, X., 2000. Fundamentals of biomechanics in tissue engineering of bone, *Tissue Engineering* 6, p. 361.
- [16] Arruda, E. R., Parizotto, N. A., Rollo, J. M. D. A., 2008. Avaliação da biocompatibilidade de uma vitrocerâmica sob influência da radiação laser, 21th Congresso de Engenharia Biomédica. Salvador, Brasil, p. 13.
- [17] Allen, M. R., Burr, D. B., 2011. Bisphosphonate effects on bone turnover, microdamage, and mechanical properties: What we think we know and what we know that we don't know, *Bone* 49, p. 56.
- [18] Doblare, M.; Garcia, J. M.; Gómez, M. J., 2004. Modeling bone tissue fracture and healing: a review, *Engineering Fracture Mechanics* 71, p. 1809.
- [19] Cauley, J. A., Blackwell, T., Zmuda, J. M., Fullman, R. L., Ensrud, K. E., Stone, K. L., Barrett-Connor, E., Orwoll, E. S., 2010. Correlates of trabecular and cortical volumetric bone mineral density at the femoral neck and lumbar spine: The osteoporotic fractures in men study (MrOS), *Journal of Bone and Mineral Research* 25, p.1958.
- [20] Kutz, M., 2002. *Standard handbook of biomedical engineering and design*, McGraw-Hill p. 7,10 and 11.
- [21] Chappard, D., Baslé, M. F., Legrand, E., Audran, M., 2011. New laboratory tools in the assessment of bone quality, *Osteoporosis International* 22, p. 2225.
- [22] Peterson, D. R.; Bronzino, J. D., 2008. *Biomechanics: Principles and Applications*. London: Taylor & Francis.
- [23] Currey, J. D., (2003). Role of collagen and other organics in the mechanical properties of bone, *Osteoporosis International* 14, p. 29.
- [24] Beckmann, E. C., 2006. CT scanning the early days, *British Journal of Radiology* 79, p. 5.
- [25] Filler, A., 2009. The history, development and impact of computed imaging in neurological diagnosis and neurosurgery: CT, MRI, and DTI, *Nature Proceedings* 7, p. 1756.
- [26] Hulme, P. A., Boyd, S. K., Ferguson, S. J., 2007. Regional variation in vertebral bone morphology and its contribution to vertebral fracture strength, *Bone* 41, p. 946.
- [27] Bouxsein, M. L., Melton, L. J., Riggs, B. L., Muller, J., Atkinson, E. J., Oberg, A. L., Robb, R. A., Camp, J. J., Rouleau, P. A., McCollough, C. H., Khosla, S., 2006. Age- and sex-specific differences in the factor of risk for vertebral fracture: a population-based study using QCT, *Journal of Bone and Mineral Research* 21, p.1475.
- [28] Martin-Barbosa, E.; Amblad, D.; Nuzzo, S.; Elmoutaouakkil, A.; Vico, L.; Peyrin, F., (2003). Excised bone structures in mice: imaging at three-dimensional synchrotron radiation micro CT. *Radiology*;229:921– 928.
- [29] <http://www.skyscan.be/home.htm>.
- [30] Dempster, D. W., Compston, J. E., Drezner, M. K., Glorieux, F. H., Kanis, J. A., Malluche, H., Meunier, P. J., Ott, S. M., Recker, R. R., Prift, A. M., 2012. Standardized nomenclature, symbols, and units for bone histomorphometry: a 2012 update of the report of the ASBMR histomorphometry nomenclature committee, *Journal of Bone and Mineral Research* 28, p. 2.
-