Jackeline Couto Alvarenga

**Curvas de referência dos parâmetros ósseos obtidos por tomografia
computadorizada quantitativa periférica de alta resolução
(HR-pQCT) em mulheres saudáveis de 20 a 85 anos de idade**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências

Programa de Ciências Médicas

Área de concentração: Distúrbios Genéticos de
Desenvolvimento e Metabolismo

Orientadora: Profa. Dra. Rosa Maria Rodrigues Pereira

São Paulo

2015

Jackeline Couto Alvarenga

**Curvas de referência dos parâmetros ósseos obtidos por tomografia
computadorizada quantitativa periférica de alta resolução
(HR-pQCT) em mulheres saudáveis de 20 a 85 anos de idade**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências

Programa de Ciências Médicas

Área de concentração: Distúrbios Genéticos de
Desenvolvimento e Metabolismo

Orientadora: Profa. Dra. Rosa Maria Rodrigues Pereira

São Paulo

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Alvarenga, Jackeline Couto

Curvas de referência dos parâmetros ósseos obtidos por tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução (HR-pQCT) em mulheres saudáveis de 20 a 85 anos de idade / Jackeline Couto Alvarenga. -- São Paulo, 2015.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Ciências Médicas. Área de Concentração: Distúrbios Genéticos de Desenvolvimento e Metabolismo
Orientadora: Rosa Maria Rodrigues Pereira.

Descritores: 1.Densidade óssea 2.Valores de referência 3.Distribuição por idade 4.Parâmetros 5.Tomografia 6.Rádio 7.Porosidade 8.Resistência à tração 9.Saúde da mulher 10.Envelhecimento

USP/FM/DBD-149/15

DEDICATÓRIA

A Deus, pela dádiva da vida, e por iluminar meu caminho durante toda a caminhada.

Ao meu saudoso avô Manoel pelo exemplo de coragem e amor, e por sempre ter me mostrado os verdadeiros valores da vida.

Com muito carinho, dedico a minha mãe Luiza, pela compreensão, apoio e incentivo para minha formação acadêmica sem medir esforços.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Rosa Maria Rodrigues Pereira pela oportunidade de realizar um sonho, pela presença nos momentos em que precisei, pelo empenho dedicado a execução deste trabalho e por toda contribuição no meu aprendizado.

À Profa. Dra. Eloísa Silva Dutra de Oliveira Bonfá, pela aprovação do projeto e disponibilidade de todo o Departamento de Reumatologia.

À Liliam Takayama e Valéria Caparbo por toda a ajuda e principalmente pelo carinho e amizade.

À Alessandra Bonfá por contribuir na triagem das voluntárias, e pelo companheirismo e amizade.

Aos membros da banca examinadora de qualificação, Profs. Drs. Charles Heldan, Cristiano Zerbini, Ricardo Fuller pelas valiosas considerações.

À Claudia Benetti e Eurimar Rogério do Laboratório de Metabolismo Ósseo, pela amizade e ajuda na realização deste trabalho.

Às secretárias do departamento de Reumatologia, especialmente Claudia e Mayra; e às secretárias da Pós-Graduação do ICHC Ciências Médicas, Angélica e Rose, por toda atenção e informações dadas que me ajudaram nos caminhos do trabalho.

Ao Dr. Rogerio Ruscitto pelo auxílio com a análise estatística.

Aos meus colegas da Reumatologia, em especial a Tatiana Vasconcelos, pelas trocas de experiência e pela amizade.

A minha madrinha e amiga Meire Paterlini, que colaborou diretamente com minha carreira profissional e me apoiou durante o primeiro ano em São Paulo.

À amiga Cristina Esteves que se mostrou mais que uma amiga, e foi muito importante para a realização desse trabalho.

A minha família, em especial minha mãe Luiza, minha avó Neide, meu padrinho José Antônio e minha tia Simone por sempre me apoiarem.

Ao meu saudoso pai Luiz Carlos, que apesar de termos vivido longe um do outro, fez parte da minha vida e de alguma forma contribuiu para que hoje eu estivesse aqui e me tornasse a pessoa que sou.

Às voluntárias desta pesquisa que colaboraram na elaboração desta dissertação, sem as quais não seria possível realizá-la.

A CAPES, pelo auxílio de bolsa.

Agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a elaboração desta dissertação e que cometi a indelicadeza de não mencionar nominalmente.

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

RESUMO

ABSTRACT

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS	8
3	MÉTODOS	10
	3.1 Participantes	11
	3.2 Coleta de dados	11
	3.3 Avaliação do rádio e da tíbia distal por HR-pQCT	12
	3.4 Análise por Elemento Finito	16
	3.5 Análise estatística	17
4	RESULTADOS	19
	4.1 Características das participantes.....	20
	4.2 Avaliação do rádio distal por HR-pQCT	21
	4.3 Avaliação da tíbia por HR-pQCT	27
5	DISCUSSÃO	40
6	CONCLUSÕES	45
7	ANEXOS	47
8	REFERÊNCIAS	53
	APÊNDICES	

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

C.VM	Estresse cortical
Ct.BMD	Densidade mineral óssea cortical
Ct.Po	Porosidade cortical
Ct.Po.Dm	Diâmetro dos poros da cortical
Ct.Th	Espessura cortical
DXA	Densitometria óssea por dupla emissão de raios X
F.ult	Estimativa da carga máxima suportada
FE	Elemento finito
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HAS	Hipertensão arterial
HR-pQCT	Tomografia Computadorizada Quantitativa periférica de Alta Resolução
IMC	Índice de massa corporal
IQR	Intervalo interquartil
OMS	Organização Mundial da Saúde
OP	Osteoporose
S	Rigidez do tecido
Tb.1/N.SD	Heterogeneidade das trabéculas
Tb.BMD	Densidade mineral óssea trabecular
Tb.N	Número de trabéculas
Tb.Sp	Separação trabecular
Tb.Th	Espessura trabecular
Tb.VM	Estresse trabecular

Tt.BMD	Densidade mineral óssea total
vBMD	Densidade mineral óssea volumétrica

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características demográficas e antropométricas, fatores de risco para a osteoporose e auto relato sobre o uso de medicamentos em 450 mulheres saudáveis, distribuídas por faixa etária	23
Tabela 2	Análises de regressão linear múltipla da densidade volumétrica, estrutura óssea, porosidade cortical e elemento finito obtidas por HR-pQCT no rádio distal em 450 mulheres saudáveis, distribuídas por faixa etária.....	24
Tabela 3	Parâmetros de densidade volumétrica, estrutura óssea, porosidade cortical e elemento finito obtidos por HR-pQCT no rádio distal de 450 mulheres saudáveis de 20 a 85 anos de idade, expressos em mediana e intervalo interquartil.....	25
Tabela 4	Correlação de Pearson entre o parâmetro de rigidez estimado por análise de elemento finito com os parâmetros de densidade volumétrica, estrutura óssea, porosidade cortical e outros parâmetros de elemento finito obtidos por HR-pQCT no rádio distal de 450 mulheres saudáveis	26
Tabela 5	Análises de regressão linear múltipla da densidade volumétrica, estrutura óssea, porosidade cortical e elemento finito obtidas por HR-pQCT na região da tíbia em 450 mulheres saudáveis, distribuídas por faixa etária	28
Tabela 6	Parâmetros de densidade volumétrica, estrutura óssea, porosidade cortical e elemento finito obtidos por HR-pQCT na região da tíbia de 450 mulheres saudáveis de 20 a 85 anos de idade, expressos em mediana e intervalo interquartil	29

Tabela 7	Correlação de Pearson entre o parâmetro de rigidez estimado por análise de elemento finito com os parâmetros de densidade volumétrica, estrutura óssea, porosidade cortical e outros parâmetros de elemento finito obtidos por HR-pQCT na região da tíbia em 450 mulheres saudáveis.....	30
----------	--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Planos padronizados de início e término da tomografia	13
Figura 2	Imagens em 3D do rádio distal e da tíbia para cada década analisada	15
Figura 3	Imagem seccional do antebraço, com o contorno do periósteo do rádio em destaque	16
Figura 4	Técnica de conversão voxel, representado por diferentes tonalidades de cinza	16
Figura 5	Fluxograma de participantes	20
Figura 6	Curvas de normalidade segundo a idade, peso e altura dos parâmetros de densidade mineral óssea volumétrica	31
Figura 7	Curvas de normalidade segundo a idade, peso e altura dos parâmetros de estrutura óssea	33
Figura 8	Curvas de normalidade segundo a idade, peso e altura dos parâmetros de porosidade cortical e elemento finito	36
Figura 9	Representação de imagens HR-pQCT por faixa etária, de acordo com o grau de movimento	39

RESUMO

Alvarenga JC. *Curvas de referência dos parâmetros ósseos obtidos por tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução (HR-pQCT) em mulheres saudáveis de 20 a 85 anos de idade* [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2015.

INTRODUÇÃO: O osso é um tecido dinâmico e a formação e reabsorção óssea são processos contínuos que promovem alterações durante toda a vida do organismo. O objetivo deste estudo transversal é estabelecer valores normais relacionadas com a idade, peso e altura, obtidos pela tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução (HR-pQCT) quanto à densidade mineral óssea volumétrica, microarquitetura, porosidade cortical e resistência óssea estimada por análise de elemento finito no rádio distal e na tíbia de uma população miscigenada de mulheres com idade entre 20 a 85 anos. **MÉTODOS:** Curvas de referências da densidade volumétrica (total, trabecular e cortical), estrutura óssea, porosidade cortical e parâmetros de elementos finitos no rádio distal e na tíbia foram calculados em 450 mulheres saudáveis, incluindo mais de 50 indivíduos para cada década. Modelos de regressão linear foram desenvolvidos para prever os valores das curvas normais medidos de acordo com a idade, peso e altura. **RESULTADOS:** Todos os parâmetros de densidade e estrutura mostraram curvas lineares decrescentes com o envelhecimento em ambos sítios periféricos, exceto para a densidade cortical (Ct.BMD) e espessura cortical (Ct.Th) na tíbia, que apresentaram um padrão de declínio diferente na curva. O parâmetro porosidade cortical (Ct.Po) manteve um platô nas primeiras décadas de vida, seguida de um aumento da porosidade nas décadas seguintes, enquanto que o diâmetro dos poros da cortical (Ct.Po.Dm) mostrou uma curva linear crescente em ambas as regiões analisadas. Os parâmetros de resistência óssea apresentaram curvas lineares, com exceção da rigidez (S) e carga máxima estimada (F.ult) no rádio distal e estresse cortical (C.VM) na tíbia, que apresentavam diferentes curvas de declínio. Foram encontradas correlações significativas da rigidez com todos os parâmetros analisados ($p < 0,001$), exceto

com o parâmetro diâmetro dos poros da cortical (Ct.Po.Dm) na tíbia.

CONCLUSÕES: Este trabalho estabeleceu um conjunto de dados de referência para os parâmetros obtidos por HR-pQCT, com base em uma população normal miscigenada, que serão úteis para a interpretação dos dados clínicos de pacientes na prática clínica e em futuros estudos.

Descritores: Densidade óssea; Valores de referência; Distribuição por idade; Parâmetros; Tomografia; Rádio; Porosidade; Resistência à tração; Saúde da mulher; Envelhecimento

ABSTRACT

Alvarenga JC. *Reference curves of bone parameters obtained by high resolution peripheral quantitative computed tomography (HR-pQCT) in healthy women from 20 to 85 years old* [Dissertation]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2015.

INTRODUCTION: Bone is a dynamic tissue, and its formation and resorption are continuous processes that promote changes throughout the life of the organism. The aim of this cross-sectional study is to establish normal values related to age, weight and height using high-resolution peripheral quantitative computed tomography (HR-pQCT) regarding volumetric bone mineral density (vBMD), microarchitecture, cortical porosity and estimated bone strength at the distal radius and tibia from a miscegenated population of women aged 20 to 85 years. METHODS: Reference curves of vBMD (total, trabecular and cortical), bone structure, cortical porosity and finite element parameters at the distal radius and tibia were calculated in 450 healthy women, including more than 50 subjects from each decade within the age range. Linear regression models were developed to predict the values of the normal curves measured according to age, weight and height. RESULTS: All parameters of vBMD and structure showed decreasing linear curves with aging in both peripheral sites, except for compact bone density (Ct.BMD) and cortical thickness (Ct.Th) at the tibia, which had a different declining curve pattern. The cortical porosity parameter (Ct.Po) maintained a plateau in the first decades followed by an increase in porosity, whereas the cortical pore diameter (Ct.Po.Dm) showed an increasing linear curve in both regions analyzed. Parameters of bone strength presented decreasing linear curves, except for stiffness (S) and estimated failure load (F.ult) at the distal radius and cortical stress (C.VM) at the tibia, which presented with different declining curve. Significant correlations of stiffness with the remaining parameters were found ($p < 0.001$), except with the cortical pore diameter (Ct.Po.Dm) at the tibia. CONCLUSION: This study established a set of reference data for parameters obtained by HR-pQCT, based on a miscegenated

normal population, which will be useful for interpreting clinical data from patients in clinical practice and in future studies.

Descriptors: Bone density; Reference values; Age distribution; Parameters; Tomography; Radio; Porosity; Tensile Strength; Women's health; Aging

1. INTRODUÇÃO

O osso é um tecido dinâmico e sua formação e reabsorção são processos contínuos durante toda a vida do organismo. Durante o crescimento, a reabsorção e a formação promovem mudanças no tamanho e na forma dos ossos, ocorre o processo denominado remodelação óssea (Delaisse, 2014). A remodelação ou *turnover* ósseo representa o processo de reabsorção realizada pelos osteoclastos, seguida pelo processo de formação óssea realizada pelos osteoblastos.

Para que haja a integridade do tecido ósseo é necessário que haja um equilíbrio entre a formação e a reabsorção existindo, desta forma, um equilíbrio entre a atividade dinâmica osteoblasto / osteoclasto. Dentro do processo de crescimento do esqueleto podemos considerar duas fases distintas. A primeira, denominada modelação óssea ou etapa de crescimento, onde a atividade osteoblástica é mais intensa. O pico de massa óssea é alcançado nessa fase, na adolescência ou logo após os 20 anos.

A segunda, denominada fase de remodelação, que permanecerá por toda a vida e que requer um equilíbrio entre a fase de formação e reabsorção dando, como resultado, uma renovação da microarquitetura óssea.

Após atingir o pico de massa óssea, um platô é mantido por algum tempo, e a perda óssea relacionada com a idade ocorre em torno de 0,5% a 1,0% ao ano. A perda óssea se acelera com a menopausa (1,0% a 2,0% ao ano), esta fase acelerada dura entre cinco e 10 anos (Sheth et al., 2008). Passada a fase de perda óssea acelerada típica da menopausa, tem início uma fase de perda mais lenta relacionada à idade, caracterizada por uma baixa remodelação. O osteoblasto trabalha de forma lenta e não consegue preencher eficazmente as lacunas produzidas pelo osteoclasto (Kanis, 2002).

A osteoporose é definida como uma desordem esquelética caracterizada pelo comprometimento da resistência óssea, predispondo a um aumento do risco de fraturas. As fraturas por fragilidade óssea ocorrem tipicamente na coluna, punho e quadril, embora possam atingir qualquer osso do esqueleto (Sornay-Rendu et al., 2009). A probabilidade de fratura é influenciada também pela qualidade óssea, caracterizada por diferenças na morfologia, tais como tamanho e forma do osso; número, espessura e conectividade de trabéculas; espessura e porosidade cortical (Patsch et al., 2011).

A medição da densidade mineral óssea desses locais por dupla emissão de raios X (DXA) é atualmente o método mais aceitável para o diagnóstico clínico e avaliação do risco de fratura (Kaji et al., 2006). No entanto este risco é maior que o predito pelas variações da densidade mineral óssea (vanStaa et al., 2002). De fato, os dados epidemiológicos indicam que metade das fraturas acidentais ocorre em mulheres cujos valores da densidade mineral óssea por área estão acima do limite para o diagnóstico da osteoporose de acordo com os critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS) (Stone et al., 2003). Além disso, DXA não faz distinção entre os compartimentos cortical e trabecular.

Desse modo, a análise histomorfométrica passou a ser necessária para complementar a avaliação do osso, quantificando o processo de formação e reabsorção óssea (Frost, 1983), permitindo caracterizar a qualidade óssea. A histomorfometria analisa de maneira quantitativa os componentes da morfologia óssea e pode expressar a quantidade de tecido ósseo, além de fornecer dados acerca da sua microarquitetura e da conectividade da malha trabecular (Merz e Schenk, 1970). Mas esse é um exame invasivo, demorado, podendo demorar até um mês para a fixação do osso, oneroso, e só pode ser

realizado a partir de amostras. Para fazer o seguimento de pacientes, em um estudo longitudinal também fica mais difícil.

Assim, tem havido grande interesse no desenvolvimento de novos métodos de imagem capaz de medir a microestrutura do osso, que poderiam então ser utilizados para obter a densidade mineral óssea volumétrica, e a medida microestrutural (Liu et al., 2010a). Dessa forma surge um novo método de captação de dados densitométricos e morfológicos em três dimensões de alta qualidade *in vivo*: a Tomografia Computadorizada Quantitativa periférica de Alta Resolução (em inglês, HR-pQCT).

O uso da HR-pQCT para avaliação tridimensional (3D) da estrutura óssea foi introduzido por Feldkamp et al. (1989). Desde então, esta tecnologia se tornou o padrão-ouro para avaliar a arquitetura 3D do osso trabecular. Este aparelho permite a medição *in vivo* do rádio distal e da tíbia em humanos, para estimar a densidade mineral óssea volumétrica e a estrutura óssea trabecular e cortical (Macneil e Boyd, 2007) podendo predizer melhor o risco de fraturas na osteoporose (Vico et al., 2008; Boutroy et al., 2008).

Os parâmetros obtidos com este equipamento incluem: número de trabéculas, separação de trabéculas, espessura trabecular, relação do volume ósseo e volume total, porosidade cortical, espessura cortical, entre outros. Estes parâmetros em 3D ajudam a avaliar a macro e micro estrutura óssea (Taylor et al., 1997), e a biomecânica, não detectados pela densitometria e até mesmo pela histomorfometria óssea (esta última devido a uma quantidade limitada de tecido). Ressalta-se ainda, que o exame de histomorfometria envolve um processo de preparação do material bastante trabalhoso (Cohen et

al., 2010), demorado (aproximadamente 1 mês) e operador dependente, contrastando com a rapidez e precisão da HR-pQCT.

A investigação da porosidade cortical também é um aspecto importante para a compreensão biológica de processos biomecânicos que ocorrem dentro do esqueleto. A porosidade do osso cortical é suscetível à doença, medicação, e alterações metabólicas. O osso cortical tem a maior parte das cargas axiais do rádio e da tíbia distal, e a distribuição de carga foi determinada ser um fator importante na previsão de fratura por resistência óssea (Boutroy et al., 2008). Ambas as propriedades geométricas e microarquitetura bruta do osso cortical são modificadas por meio de processos fisiológicos distintos (remodelação óssea) e, conseqüentemente, representam alvos exclusivos para a intervenção farmacológica (Burghardt et al., 2010a). Recentemente, estudos relataram que a microarquitetura do osso cortical no rádio distal e na tíbia mudam drasticamente com a idade e, em particular, com o início da menopausa (Nishiyama et al., 2010).

Após a aquisição dos dados-padrão da microarquitetura, é possível a adição de um *script* (roteiro para computador) específico para análise por elemento finito, o qual permite que sejam estimadas propriedades funcionais dos ossos a partir de dados coletados de maneira estática (Fuller et al., 2014).

A análise das propriedades funcionais por elemento finito compreende um teste virtual de resistência, ou seja, o computador estima e analisa o comportamento do osso quando esse é submetido a uma força de compressão.

Para a análise do FE, duas propriedades mecânicas do osso em estudo precisam ser estimadas: a primeira delas é o *Módulo de Young*, uma medida da capacidade de um material retornar ao seu formato original depois da

retirada de uma força de estresse, indicando a elasticidade do tecido. A segunda delas é uma medida do *Efeito de Poisson*, que é a tendência de um material ficar mais fino no momento em que é esticado em um dado eixo. Um material ao ser tracionado aumenta sua dimensão no eixo da tração e diminui de tamanho nos outros dois eixos. A elasticidade do material tenderá a trazê-lo para a forma original (ShyamSundar et al., 2012).

O uso da HR-pQCT em tecidos biológicos gerou uma enorme gama de possibilidades para a pesquisa científica, o que pode ser observado pelo aumento exponencial do número de publicações que fazem o uso da tecnologia nos últimos anos. A avaliação funcional com o método do FE ampliou ainda mais o número de aplicações da técnica. Desde sua primeira utilização para avaliação óssea, essa tem sido a principal aplicação da HR-pQCT. Estudos indicam que pode ser avaliado o perfil da microarquitetura óssea ao longo da vida, risco de fraturas (Liu et al., 2010b; Stein et al., 2010), mineralização e evolução de doenças ósseas como a osteoporose (Boutroy et al., 2008). Também pode ser avaliado o efeito de fármacos e dietas na absorção, reabsorção e morfologia ósseas (Hansen et al., 2013; Rizzoli et al., 2012; Macdonald et al., 2011a).

Por enquanto, a HR-pQCT constitui uma ferramenta restrita à pesquisa, mas, visto o que ela tem sido capaz de avaliar, a perspectiva é de que em pouco tempo se tornará uma importante ferramenta clínica. Grupos de pesquisadores do mundo todo tem trabalhado para encontrar novas maneiras de aproveitar todo o seu potencial. Também é necessário que sejam determinados os padrões de normalidade para diferentes populações. Já há alguns trabalhos que utilizam grupos controle para descrever as diferenças

relacionadas à idade e ao gênero (Burt et al., 2014; Nicks et al., 2012; Macdonald et al., 2011b; Burghardt et al., 2010b; Dalzell et al., 2009; Khosla et al., 2006), mas não há um estudo extenso nesse sentido para caracterizar a estrutura do osso em diferentes faixas etárias, em uma população miscigenada como a do Brasil. Por isso este estudo foi desenvolvido para a determinação de curvas de referência dos parâmetros ósseos de densidade e estrutura obtidos através da HR-pQCT e da análise funcional com o método do elemento finito em uma amostra com 450 mulheres saudáveis dos 20 aos 85 anos de idade.

2. OBJETIVOS

1. Obter as curvas de referência em indivíduos saudáveis do sexo feminino, de diferentes faixas etárias, dos seguintes parâmetros ósseos obtidos por HR-pQCT na região do rádio distal e da tíbia:

Densidade volumétrica trabecular e cortical

Estrutura óssea trabecular e cortical

Porosidade cortical

Rigidez e elasticidade (obtidos por análise de FE)

2. Correlacionar o parâmetro de resistência óssea (rigidez), com as demais variáveis de densidade e estrutura obtidos por HR-pQCT.

3. MÉTODOS

3.1 Participantes

Mulheres saudáveis (20 a 85 anos) funcionárias da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo ou do Hospital das Clínicas da FMUSP foram convidadas a participar do estudo. Para recrutar mais participantes nos grupos de maior idade (> 70 anos), foi utilizada publicidade com panfletos que convidavam mulheres para participar do estudo (familiares e amigos daqueles que já tinham participado).

Os critérios de exclusão foram doenças ósteo-metabólicas (ex.: raquitismo, hipoparatiroidismo, etc.), fratura traumática prévia, doenças crônicas (diabetes mellitus, insuficiência renal ou hepática, hipertireoidismo ou hipotireoidismo, má-absorção), uso de qualquer medicamento que interfira com o metabolismo ósseo (bisfosfonatos, teriparatida, glicocorticoides, etc.), tabagismo e etilismo (considerado significativo se ≥ 3 U / dia).

As mulheres incluídas responderam a um questionário padronizado e fizeram HR-pQCT. Todas as participantes que aceitaram fazer parte do estudo leram, concordaram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq).

3.2 Coleta de dados

Dados demográficos e antropométricos foram obtidos por questionário padronizado ou exame físico incluindo raça, idade, altura e peso. A raça foi definida com base em consulta autodeclarada de segunda geração de antepassados, uma abordagem utilizada anteriormente para a população brasileira (Fuchs et al., 2002). Indivíduos que relataram ter quatro avós

caucasianos foram classificados como brancos. Indivíduos com ancestrais africanos e caucasianos (raça misturada) foram classificados como não caucasianos. Quando a informação racial em relação aos avós não estava disponível, a raça de um indivíduo foi determinada pela raça de seus pais. Os descendentes de outras raças não foram incluídos.

Idade da menarca e menopausa em anos, histórico pessoal de fratura (fratura anterior por fragilidade, determinada em indivíduos que sofreram uma queda da própria altura ou menos), história familiar de osteoporose. Dados clínicos incluindo presença de comorbidades como hipertensão arterial. Uso de medicamentos tais como anti-hipertensivos, antidepressivos, suplementação de cálcio, vitamina D, terapia de reposição hormonal e anticoncepcional oral. Uso de fator de proteção solar, tabagismo atual, etilismo social. Ingestão diária de cálcio (alimentos), sendo que, para determinar a ingestão de cálcio, os participantes foram questionados se bebiam leite e se comiam queijo e iogurte diariamente. Para um copo de leite foi considerado 246 mg, iogurte 240 mg, e para uma fatia de queijo branco 209 mg. E prática de atividade física (mínimo de três vezes por semana, durante os últimos seis meses) (Bhalla, 2010).

3.3 Avaliação do rádio e da tíbia distal por HR-pQCT

Os parâmetros de estrutura óssea foram medidos na tíbia esquerda e no antebraço não dominante usando HR-pQCT (XtremeCT, Scanco Medical, Suíça) com um protocolo padrão de medição *in vivo* (60 kVp, 95 mA). Primeiramente, o braço ou a perna do participante foi imobilizado em um suporte anatômico de fibra de carbono fornecido pelo fabricante. A região de interesse foi definida usando uma radiografia convencional realizada pelo

próprio equipamento, para determinar os planos padronizados de início e término da tomografia (Figura 1). A medição inclui 110 fatias, correspondendo a uma dimensão de 9,02 milímetros para a extremidade distal, partindo de 9,5 mm proximal à linha de referência no rádio distal e 22,5 mm proximal à linha de referência na tíbia, com uma resolução de 82 μM (tamanho do voxel). Todos os exames foram adquiridos por uma biomédica treinada usando um posicionamento padrão, a fim de minimizar a influência de erros de posicionamento nos resultados morfológicos (Boyd, 2008). Ela também analisou cuidadosamente cada medição para verificar a presença de artefatos de movimento, e no caso de artefatos de movimento significativos (manchas, por exemplo), realizou um segundo exame. O controle de qualidade foi monitorado diariamente utilizando um *Phanton* de calibração diária fornecida pelo fabricante.

Figura 1 - Planos padronizados representando a linha de referência (linha sólida de cima) e região digitalizada – início e término do exame (linhas tracejadas a baixo) na extremidade distal do rádio (A) e da tíbia (B)

Todas as imagens HR-pQCT foram classificadas por artefatos de movimento de acordo com uma escala de 0 (nenhum movimento) a 4 (movimento significativo, descontinuidades na camada cortical) (Paggiosi et al., 2014; Macdonald et al., 2011b). Para este estudo, os testes que foram classificados como 4 em nossa escala de movimento foram excluídos, e repetidos. Representações de imagens 3D do rádio distal e da tíbia para cada

década são apresentadas na Figura 2. Finalizada a aquisição das imagens, é necessário determinar os contornos do osso, isto é, o perímetro externo da cortical óssea, para o sistema reconhecer o volume total do tecido e poder realizar as análises. O software possui um método semi-automatizado para que seja feito o contorno das demais imagens (Figura 3). A aquisição das imagens leva cerca de três minutos, e a dose efetiva de radiação do exame por HR-pQCT é inferior a 5 μSv por medida (XtremeCT Revision 5.05, 2005). Alguns estudos estimam que seja em torno de 3 μSv (Krug et al., 2010).

Além da análise morfológica padrão, nós também usamos um software de segmentação automática para determinar a porosidade cortical (Ct.Po). É necessário determinar a divisão entre os dois principais compartimentos do osso: o trabecular e o cortical, para que se obtenham dados isolados de cada um deles. Esse é um processo complexo, porque esta fronteira nem sempre é bem definida. O processo padrão dessa segmentação é automatizado e poderoso para identificação do osso cortical, especialmente quando o córtex é fino, e descobriu-se recentemente que têm alta reprodutibilidade (coeficiente de variação <1,5%) (Burghardt et al., 2010a).

Figura 2 - Imagens em 3D do rádio distal e da tíbia para cada década analisada

Figura 3 - Imagem seccional do antebraço, com o contorno do periósteo do rádio em destaque

3.4 Análise por Elemento Finito

O software emprega a chamada “técnica de conversão voxel” (Figura 4) para criar modelos de elemento finito (Software do Elemento Finito, v1.13, SCANCO Medical AG, Suíça, Janeiro de 2009, Manual do Fabricante).

FONTE: Fuller H, 2014.

Figura 4 - Técnica de conversão voxel. Cada um dos cubos a direita é um voxel com uma elasticidade específica, representado por diferentes tonalidades de cinza

Nessa técnica, as informações vetoriais obtidas no modelo são convertidas em blocos, chamados voxels, os quais se apresentam de forma e tamanho idênticos. Os voxels têm o formato de cubos e são a menor unidade que compõe a imagem do material analisado. A análise padrão do FE compreende um teste virtual de resistência, ou seja, o computador estima e

analisa o comportamento do tecido ósseo quando esse é submetido a uma força compressiva ao longo do seu maior eixo (Fuller et al., 2014).

3.5 Análise estatística

Os dados descritivos foram expressos por média e desvio padrão, mediana e intervalo interquartil (IQR) ou porcentagem. As variáveis consideradas neste estudo foram analisadas pelo teste Kolmogorov-Smirnov em relação à distribuição normal para cada faixa etária, e revelaram uma curva normal ou Gaussiana, onde a média refere-se ao centro da distribuição e o desvio padrão ao espalhamento (ou achatamento) da curva. Para calcular as curvas de normalidade, vários modelos de regressão linear foram desenvolvidos para prever a medida da densidade volumétrica óssea, estrutura óssea, porosidade cortical e os parâmetros de elementos finitos na extremidade distal do rádio e da tíbia, em função da idade, peso e altura. Deste modo, vinte e oito curvas, uma para cada variável de interesse do estudo foram obtidas para a população feminina. Os resultados foram ilustrados com uso de gráficos de dispersão com os respectivos intervalos de normalidade (P 2,5% e P 97,5%) e os testes foram realizados com um nível de significância de 2,5%. Para avaliar a correlação entre a rigidez (stiffness) obtida por análise de elemento finito com os outros parâmetros obtidos por HR-pQCT, foram utilizadas correlações de Pearson. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

Aprovação pela Comissão de Ética

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq do Hospital das Clínicas (protocolo de pesquisa 9883) e todos os participantes leram, concordaram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

4. RESULTADOS

4.1 Características das Participantes

Quinhentas e quarenta e oito mulheres foram selecionadas. Trinta e nove indivíduos foram excluídos do estudo pela triagem telefônica, por apresentarem algum dos critérios de exclusão. Após o questionário, foram excluídas vinte e sete que apresentavam diabetes mellitus, vinte e nove fumantes e três que faziam uso de alendronato.

Figura 5 - Fluxograma de participantes

A amostra final incluiu 450 mulheres, sendo 78,7% caucasianos e 21,3% não caucasianos. As características demográficas e antropométricas, fatores de risco para osteoporose, comorbidades e dados de uso de medicamento estão apresentados na **Tabela 1**. O histórico de fraturas incluiu fraturas de

rádio, ulna, punho, tornozelo, tíbia e fíbula, todas após sofrer algum trauma. Não foram consideradas fraturas de dedo; e não participaram desse estudo mulheres com fraturas vertebrais ou fraturas por fragilidade óssea. A única comorbidade apresentada por algumas participantes foi a hipertensão arterial, algumas fazendo uso de anti-hipertensivo. Os resultados mostram também que mais de 50% das mulheres nas faixas de 20-29 e 30-39 fazem uso de anticoncepcional oral. Foram consideradas as participantes que tinham hábito de etilismo social. A ingestão de cálcio não ultrapassou 600 mg por dia em nenhuma das faixas etárias, e a prática de atividades físicas não ultrapassou 50% de participantes em nenhuma faixa, ou seja, uma grande maioria não apresentava uma prática regular de atividades físicas.

4.2 Avaliação do rádio distal por HR-pQCT

Vários modelos de regressão linear foram desenvolvidos para prever a densidade volumétrica, estrutura óssea, porosidade cortical e parâmetros de elemento finito obtidos por HR-pQCT em função da idade, peso e altura na extremidade distal do rádio. Estas curvas são ilustradas usando gráficos de dispersão (Figuras 6, 7, 8 - Rádio). Exceto para porosidade cortical, rigidez e carga máxima estimada, todos os outros apresentaram curvas lineares (Figuras 6, 7, 8 - Rádio).

A idade e a altura apresentaram um efeito linear negativo em Tt.BMD, Tb.BMD, Ct.BMD, Ct.Th, Tb.VM e C.VM, e o peso teve um efeito positivo em todos os parâmetros, exceto Tb.Sp e Tb.1 /N.SD (Tabela 2). A mediana e o

intervalo interquartil de todos os parâmetros do rádio distal são demonstrados na Tabela 3.

A correlação de Pearson (r) entre o parâmetro de rigidez obtido por análise de elemento finito e todas as variáveis medidas por HR-pQCT no rádio distal são apresentados na Tabela 4. Houve correlação positiva moderada entre rigidez e Tt.BMD (r : 0,638, $p < 0,001$), Tb.BMD (r : 0,644, $p < 0,001$), Tb.Th (r : 0,616, $p < 0,001$) e Ct.Th (r : 0,619, $p < 0,001$). Por outro lado, foi encontrada uma correlação negativa fraca entre a rigidez e Tb.Sp (r : -0,312, $p < 0,001$) e com Ct.Po (r : -0,162, $p < 0,015$).

Tabela 1 - Características demográficas e antropométricas, fatores de risco para a osteoporose e auto relato sobre o uso de medicamentos em 450 mulheres saudáveis, distribuídas por faixa etária

Variáveis	20-29 (n=90)	30-39 (n=69)	40-49 (n=70)	50-59 (n=94)	60-69 (n=74)	≥ 70 (n=53)
Idade, anos	25 ± 3,2	34 ± 2,7	46 ± 3,0	54 ± 2,9	64 ± 2,7	74 ± 3,0
Peso, kg	62,1 ± 13,1	69,0 ± 13,7	72,1 ± 12,3	71,1 ± 12,7	65,3 ± 11,7	68,0 ± 9,9
Altura, m	1,61 ± 0,06	1,61 ± 0,07	1,57 ± 0,07	1,57 ± 0,06	1,54 ± 0,1	1,51 ± 0,04
IMC, (kg/m) ²	24,32 ± 5,27	26,09 ± 4,93	29,04 ± 4,40	28,86 ± 4,70	29,29 ± 4,70	30,04 ± 4,26
Raça, n (%)						
Branca	72 (80,0)	51 (73,9)	64 (91,4)	75 (79,8)	48 (64,9)	44 (83,1)
Não Branca	18 (20,0)	18 (26,1)	6 (8,6)	19 (20,2)	26 (35,1)	9 (16,9)
Idade menarca, anos	12 ± 1,34	12 ± 1,51	12 ± 1,75	13 ± 1,89	13 ± 1,59	12 ± 1,47
Menopausa, n	0	0	9 (12,8)	86 (91,5)	74 (100)	53 (100)
Histórico familiar de OP, n (%)	23 (25,5)	22 (31,9)	15 (21,4)	20 (21,3)	21 (28,4)	8 (15,1)
Histórico pessoal de fratura, n (%)	18 (20,0)	10 (14,5)	10 (14,2)	10 (10,6)	11 (14,9)	14 (26,4)
Ingestão de cálcio, mg/dia	544,4 ± 171,9	520,3 ± 172,2	347,4 ± 242,3	337,4 ± 269,4	455,7 ± 237,0	377,7 ± 252,7
Exercício físico regular, n (%)	63 (70,0)	43 (62,3)	23 (32,8)	34 (36,2)	34 (45,9)	17 (32,1)
Uso de FPS, n (%)	73 (81,1)	50 (72,5)	35 (50,0)	34 (36,2)	43 (58,1)	21 (39,6)
Etilismo social, n (%)	45 (50,0)	26 (37,7)	20 (28,6)	30 (31,9)	32 (43,2)	11 (20,7)
HAS, n (%)	0	3 (4,3)	9 (12,8)	5 (5,3)	11 (14,9)	10 (18,9)
Uso atual de anti-hipertensivo	0	1 (1,4)	5 (7,1)	3 (3,2)	10 (13,5)	5 (9,4)
Uso atual de antidepressivos	2 (2,2)	4 (5,8)	0	7 (7,4)	4 (5,4)	2 (3,8)
Uso atual de suplementação de cálcio	0	0	0	2 (2,1)	4 (5,4)	15 (28,3)
Uso atual de suplementação de vitamina D	0	0	0	0	4 (5,4)	8 (15,1)
Uso atual de anticoncepcional	54 (60,0)	32 (46,4)	3 (4,2)	0	0	0
Reposição hormonal (anterior ou atual)	0	0	5 (7,1)	6 (6,4)	17 (23,0)	9 (16,9)

Dados expressos em média ± desvio padrão ou número (porcentagem).

IMC: índice de massa corporal; OP: osteoporose; FPS: fator de proteção solar; HAS: hipertensão arterial.

Tabela 2 - Análises de regressão linear múltipla da densidade volumétrica, estrutura óssea, porosidade cortical e elemento finito obtidas por HR-pQCT no rádio distal em 450 mulheres saudáveis, distribuídas por faixa etária

Variáveis (Y)	A	B1	B2	B3	B4	R ²
Densidade						
Tt.BMD, mg HA/cm ³	801,07	-1,993	0,711	-282,96	-	0,187
Tb.BMD, mg HA/cm ³	258,65	-0,890	0,622	-62,45	-	0,153
Ct.BMD, mg HA/cm ³	1 353,30	-2,350	0,645	-268,62	-	0,180
Estrutura Óssea						
Tb.N, 1/mm	1,89	-0,005	0,005	-	-	0,114
Tb.Th, mm	0,074	-0,000130	-	-	-	0,037
Tb.Sp, mm	0,471	0,002	-0,002	-	-	0,123
Tb.1/N.SD, mm	0,178	0,002	-0,001	-	-	0,126
Ct.Th, mm	1,90	-0,005	0,002	-0,724	-	0,132
Porosidade Cortical						
Ct.Po, (%)	-0,034	-	-	0,026	0,00000427	0,407
Ct.Po.Dm, mM	0,141	0,000292	-	-	-	0,130
Elemento Finito						
S, N/mm	46 930,52	540,40	311,56	-	-8,609	0,209
F.ult, N	2 244,22	25,35	15,26	-	-0,407	0,222
Tb.VM, N/mm ²	69,81	-0,092	-	-11,19	-	0,048
C.VM, N/mm ²	99,39	-0,088	-	-9,61	-	0,084

$Y = A + B1 \text{ (idade)} + B2 \text{ (peso)} + B3 \text{ (altura)} + B4 \text{ (idade}^2\text{)}$.

Y é a variável medida por HR-pQCT no rádio distal, e os valores previstos são o resultado dessa equação. R²: coeficiente de determinação.

Tt.BMD: densidade mineral óssea total; Tb.BMD: densidade mineral óssea trabecular; Ct.BMD: densidade mineral óssea cortical; Tb.N: número de trabéculas; Tb.Th: espessura trabecular; Tb.Sp: separação de trabéculas; Tb.1/N.SD: desvio padrão; Ct.Th: espessura cortical; Ct.Po: porosidade cortical; Ct.Po.Dm: diâmetro dos poros; S: rigidez do tecido; F.ult: estimativa da carga máxima suportada; Tb.VM: estresse trabecular; C.VM: estresse cortical.

Tabela 3 - Parâmetros de densidade volumétrica, estrutura óssea, porosidade cortical e elemento finito obtidos por HR-pQCT no rádio distal de 450 mulheres saudáveis de 20 a 85 anos de idade, expressos em mediana e intervalo interquartil

Variáveis	20-29 (n=90)	30-39 (n=69)	40-49 (n=70)	50-59 (n=94)	60-69 (n=74)	≥ 70 (n=53)
	Mediana (IQR)	Mediana (IQR)	Mediana (IQR)	Mediana (IQR)	Mediana (IQR)	Mediana (IQR)
Densidade						
Tt.BMD, mg HA/cm ³	331 (279; 370)	348 (285; 380)	327 (282; 359)	299 (275; 359)	285 (236; 317)	268 (254; 298)
Tb.BMD, mg HA/cm ³	171 (155; 193)	172 (143; 188)	163 (143; 199)	152 (123; 167)	142 (127; 163)	137 (115; 158)
Ct.BMD, mg HA/cm ³	900 (859; 934)	923 (868; 948)	909 (857; 930)	880 (857; 924)	832 (796; 880)	832 (775; 879)
Estrutura Óssea						
Tb.N, 1/mm	2,02 (1,92; 2,17)	2,02 (1,83; 2,15)	2,02 (1,90; 2,18)	2,01 (1,75; 2,15)	1,88 (1,65; 2,05)	1,85 (1,67; 2,02)
Tb.Th, mm	0,069 (0,064; 0,075)	0,068 (0,062; 0,077)	0,069 (0,063; 0,077)	0,064 (0,059; 0,069)	0,061 (0,056; 0,068)	0,061 (0,055; 0,068)
Tb.Sp, mm	0,423 (0,387; 0,454)	0,428 (0,388; 0,469)	0,417 (0,387; 0,469)	0,442 (0,404; 0,515)	0,474 (0,421; 0,540)	0,478 (0,432; 0,533)
Tb.1/N.SD, mm	0,168 (0,150; 0,189)	0,171 (0,159; 0,194)	0,178 (0,154; 0,199)	0,191 (0,161; 0,238)	0,214 (0,169; 0,272)	0,215 (0,180; 0,250)
Ct.Th, mm	0,72 (0,63; 0,86)	0,80 (0,65; 0,90)	0,77 (0,65; 0,92)	0,69 (0,62; 0,82)	0,67 (0,56; 0,75)	0,60 (0,52; 0,71)
Porosidade Cortical						
Ct.Po, (%)	0,009 (0,006; 0,013)	0,012 (0,008; 0,015)	0,013 (0,010; 0,017)	0,016 (0,013; 0,024)	0,025 (0,022; 0,029)	0,027 (0,022; 0,034)
Ct.Po.Dm, mM	0,145 (0,139; 0,152)	0,152 (0,147; 0,170)	0,152 (0,146; 0,161)	0,152 (0,147; 0,163)	0,157 (0,150; 0,168)	0,162 (0,152; 0,168)
ElementoFinito						
S, N/mm	72 451 (63 737; 78 829)	77 241 (71 495; 89 016)	79 613 (67 210; 85 072)	71 208 (65 847; 79 342)	66 165 (58 199; 75 183)	61 890 (55 060; 68 999)
F.ult, N	3 457 (3 072; 3 821)	3 696 (3 435; 4 313)	3 777 (3 261; 4 075)	3 413 (3 204; 3 838)	3 199 (2 782; 3 608)	2 940 (2 691; 3 375)
Tb.VM, N/mm ²	49,64 (46,01; 53,71)	48,81 (44,97; 54,05)	48,77 (43,29; 53,86)	46,31 (42,41; 49,43)	44,85 (43,12; 50,74)	45,98 (43,31; 49,98)
C.VM, N/mm ²	82,44 (80,44; 84,09)	83,11 (81,55; 84,73)	82,29 (79,44; 83,22)	81,10 (79,89; 82,79)	81,06 (79,44; 82,47)	80,78 (78,33; 83,54)

Dados expressos em mediana (IQR: intervalo interquartil).

Tt.BMD: densidade mineral óssea total; Tb.BMD: densidade mineral óssea trabecular; Ct.BMD: densidade mineral óssea cortical; Tb.N: número de trabéculas; Tb.Th: espessura trabecular; Tb.Sp: separação de trabéculas; Tb.1/N.SD: desvio padrão; Ct.Th: espessura cortical; Ct.Po: porosidade cortical; Ct.Po.Dm: diâmetro dos poros; S: rigidez do tecido; F.ult: estimativa da carga máxima suportada; Tb.VM: estresse trabecular; C.VM: estresse cortical.

Tabela 4 - Correlação de Pearson entre o parâmetro de rigidez estimado por análise de elemento finito com os parâmetros de densidade volumétrica, estrutura óssea, porosidade cortical e outros parâmetros de elemento finito obtidos por HR-pQCT no rádio distal de 450 mulheres saudáveis

Variáveis	Correlação com rigidez (r)	<i>p</i>
Tt.BMD, mg HA/cm ³	0,638	< 0,001
Tb.BMD, mg HA/cm ³	0,644	< 0,001
Ct.BMD, mg HA/cm ³	0,521	< 0,001
Tb.N, 1/mm	0,245	< 0,001
Tb.Th, mm	0,616	< 0,001
Tb.Sp, mm	-0,312	< 0,001
Ct.Th, mm	0,619	< 0,001
Ct.Po, (%)	-0,162	0,015
Ct.Po.Dm, mM	0,140	0,036
F.ult, N	0,995	< 0,001
Tb.VM, N/mm ²	0,593	< 0,001
C.VM, N/mm ²	0,311	< 0,001

Tt.BMD: densidade mineral óssea total; Tb.BMD: densidade mineral óssea trabecular; Ct.BMD: densidade mineral óssea cortical; Tb.N: número de trabéculas; Tb.Th: espessura trabecular; Tb.Sp: separação de trabéculas; Ct.Th: espessura cortical; Ct.Po: porosidade cortical; Ct.Po.Dm: diâmetro dos poros; F.ult: estimativa da carga máxima suportada; Tb.VM: estresse trabecular; C.VM: estresse cortical.

4.3 Avaliação da tíbia por HR-pQCT

Todas as curvas obtidas na tíbia foram lineares, exceto Ct.BMD, Ct.Th., Ct.Po, C.VM (Figura 6, 7, 8 - Tíbia). A idade teve efeito linear negativo em Tt.BMD, Tb.BMD, Tb.N, rigidez e F.ult; altura teve um efeito negativo sobre a Tt.BMD, Ct.BMD, Ct.Th e C.VM, já o peso teve um efeito positivo em todos os parâmetros de densidade e também sobre Tb.N, Ct.Th, rigidez e F.ult (tabela 5). A mediana e o intervalo interquartil de todos os parâmetros da tíbia distal são apresentados na Tabela 6.

Houve correlação positiva entre a rigidez na região de tíbia e os seguintes parâmetros: Tt.BMD, Tb.BMD, Ct.BMD, Tb.N, Tb.Th, Ct.Th, F.ult, Tb.VM, C.VM ($p < 0,001$) (Tabela 7). Por outro lado, uma correlação negativa entre a rigidez e Tb.Sp ($r: -0,354$, $p < 0,001$) e Ct. Po ($r: -0,273$, $p < 0,001$) foi apresentada na tíbia (Tabela 7).

Tabela 5 - Análises de regressão linear múltipla da densidade volumétrica, estrutura óssea, porosidade cortical e elemento finito obtidas por HR-pQCT na região da tíbia em 450 mulheres saudáveis, distribuídas por faixa etária

Variáveis (Y)	A	B1	B2	B3	B4	R ²
Densidade						
Tt.BMD, mg HA/cm ³	905,58	-2,07	0,694	-353,41	-	0,304
Tb.BMD, mg HA/cm ³	151,82	-0,585	0,445	-	-	0,085
Ct.BMD, mg HA/cm ³	1 304,59	3,224	0,407	-262,43	-0,065	0,562
Estrutura Óssea						
Tb.N, 1/mm	1,52	-0,006	0,007	-	-	0,124
Tb.Th, mm	0,076	-	-	-	-	0,963
Tb.Sp, mm	0,613	0,002	-0,003	-	-	0,129
Tb.1/N.SD, mm	0,290	0,002	-0,002	-	-	0,112
Ct.Th, mm	3,61	-	0,003	-1,572	-0,00008790	0,315
Porosidade Cortical						
Ct.Po, (%)	0,014	-	-	-	0,00001187	0,616
Ct.Po.Dm, mM	0,182	0,000468	-0,000321	-	-	0,154
Elemento Finito						
S, N/mm	147 171,16	-650,52	1 111,60	-	-	0,198
F.ult, N	2 958,17	-26,21	45,33	2 740,91	-	0,230
Tb.VM, N/mm ²	55,43	-	-	-	-	0,985
C.VM, N/mm ²	102,79	0,093	-	-9,64	-0,002	0,239

$Y = A + B1 \text{ (idade)} + B2 \text{ (peso)} + B3 \text{ (altura)} + B4 \text{ (idade}^2\text{)}$.

Y é a variável medida por HR-pQCT na região da tíbia, e os valores previstos são o resultado dessa equação. R²: coeficiente de determinação.

Tt.BMD: densidade mineral óssea total; Tb.BMD: densidade mineral óssea trabecular; Ct.BMD: densidade mineral óssea cortical; Tb.N: número de trabéculas; Tb.Th: espessura trabecular; Tb.Sp: separação de trabéculas; Tb.1/N.SD: desvio padrão; Ct.Th: espessura cortical; Ct.Po: porosidade cortical; Ct.Po.Dm: diâmetro dos poros; S: rigidez do tecido; F.ult: estimativa da carga máxima suportada; Tb.VM: estresse trabecular; C.VM: estresse cortical.

Tabela 6 - Parâmetros de densidade volumétrica, estrutura óssea, porosidade cortical e elemento finito obtidos por HR-pQCT na região da tíbia de 450 mulheres saudáveis de 20 a 85 anos de idade, expressos em mediana e intervalo interquartil

Variáveis	20-29 (n=90)	30-39 (n=69)	40-49 (n=70)	50-59 (n=94)	60-69 (n=74)	≥70 (n=53)
	Mediana (IQR)	Mediana (IQR)	Mediana (IQR)	Mediana (IQR)	Mediana (IQR)	Mediana (IQR)
Densidade						
Tt.BMD, mg HA/cm ³	324 (309; 365)	308 (277; 339)	293 (267; 343)	279 (255; 306)	276 (238; 304)	257 (229; 288)
Tb.BMD, mg HA/cm ³	168 (152; 194)	152 (129; 180)	145 (125; 172)	133 (121; 158)	137 (117; 158)	136 (119; 170)
Ct.BMD, mg HA/cm ³	945 (924; 968)	948 (928; 968)	942 (914; 971)	904 (877; 939)	853 (823; 884)	845 (800; 873)
Estrutura Óssea						
Tb.N, 1/mm	1,84 (1,61; 2,03)	1,71 (1,50; 1,92)	1,68 (1,47; 1,82)	1,63 (1,50; 1,80)	1,60 (1,37; 1,78)	1,57 (1,28; 1,87)
Tb.Th, mm	0,077 (0,072; 0,088)	0,074 (0,062; 0,084)	0,075 (0,067; 0,083)	0,076 (0,068; 0,085)	0,073 (0,062; 0,085)	0,080 (0,072; 0,087)
Tb.Sp, mm	0,466 (0,416; 0,527)	0,510 (0,444; 0,588)	0,525 (0,472; 0,603)	0,537 (0,493; 0,604)	0,539 (0,475; 0,630)	0,561 (0,470; 0,693)
Tb.1/N.SD, mm	0,204 (0,183; 0,249)	0,220 (0,203; 0,271)	0,256 (0,217; 0,292)	0,264 (0,227; 0,307)	0,260 (0,261; 0,308)	0,281 (0,218; 0,381)
Ct.Th, mm	1,21 (1,14; 1,34)	1,21 (1,11; 1,29)	1,21 (1,06; 1,29)	1,09 (1,01; 1,18)	1,05 (0,88; 1,17)	0,97 (0,78; 1,18)
Porosidade Cortical						
Ct.Po, (%)	0,022 (0,016; 0,028)	0,027 (0,017; 0,031)	0,028 (0,022; 0,035)	0,045 (0,031; 0,059)	0,071 (0,054; 0,081)	0,075 (0,059; 0,092)
Ct.Po.Dm, mM	0,167 (0,156; 0,181)	0,179 (0,164; 0,203)	0,180 (0,166; 0,197)	0,182 (0,168; 0,203)	0,180 (0,173; 0,193)	0,200 (0,180; 0,207)
Elemento Finito						
S, N/mm	195 592 (180 167; 217 142)	200 399 (186 273; 217 938)	200 582 (178 142; 216 003)	181 601 (169 680; 197 037)	186 287 (163 453; 196 383)	166 797 (155 229; 187 400)
F.ult, N	9 238 (8 543; 10 233)	9 610 (9 046; 10 336)	9 515 (8 576; 10 372)	8 699 (8 088; 9 448)	8 829 (7 859; 9 328)	7 938 (7 426; 8 749)
Tb.VM, N/mm ²	56,87 (53,95; 61,82)	55,04 (49,94; 61,23)	55,88 (50,93; 59,86)	54,53 (48,26; 58,06)	55,50 (49,28; 62,26)	58,96 (53,25; 61,24)
C.VM, N/mm ²	88,70 (88,00; 90,00)	88,75 (87,76; 89,86)	88,60 (87,75; 89,51)	87,95 (86,99; 88,93)	87,49 (86,64; 88,75)	86,68 (85,86; 87,27)

Dados expressos em mediana (IQR: intervalo interquartil).

Tt.BMD: densidade mineral óssea total; Tb.BMD: densidade mineral óssea trabecular; Ct.BMD: densidade mineral óssea cortical; Tb.N: número de trabéculas; Tb.Th: espessura trabecular; Tb.Sp: separação de trabéculas; Tb.1/N.SD: desvio padrão; Ct.Th: espessura cortical; Ct.Po: porosidade cortical; Ct.Po.Dm: diâmetro dos poros; S: rigidez do tecido; F.ult: estimativa da carga máxima suportada; Tb.VM: estresse trabecular; C.VM: estresse cortical.

Tabela 7 - Correlação de Pearson entre o parâmetro de rigidez estimado por análise de elemento finito com os parâmetros de densidade volumétrica, estrutura óssea, porosidade cortical e outros parâmetros de elemento finito obtidos por HR-pQCT na região da tíbia em 450 mulheres saudáveis

Variáveis	Correlação com rigidez (r)	<i>p</i>
Tt.BMD, mg HA/cm ³	0,454	< 0,001
Tb.BMD, mg HA/cm ³	0,571	< 0,001
Ct.BMD, mg HA/cm ³	0,316	< 0,001
Tb.N, 1/mm	0,298	< 0,001
Tb.Th, mm	0,355	< 0,001
Tb.Sp, mm	-0,354	< 0,001
Ct.Th, mm	0,392	< 0,001
Ct.Po, (%)	-0,273	< 0,001
Ct.Po.Dm, mM	0,069	0,305
F.ult, N	0,955	< 0,001
Tb.VM, N/mm ²	0,461	< 0,001
C.VM, N/mm ²	0,381	< 0,001

Tt.BMD: densidade mineral óssea total; Tb.BMD: densidade mineral óssea trabecular; Ct.BMD: densidade mineral óssea cortical; Tb.N: número de trabéculas; Tb.Th: espessura trabecular; Tb.Sp: separação de trabéculas; Ct.Th: espessura cortical; Ct.Po: porosidade cortical; Ct.Po.Dm: diâmetro dos poros; F.ult: estimativa da carga máxima suportada; Tb.VM: estresse trabecular; C.VM: estresse cortical.

(A)

(B)

Continua

Figura 6 - Curvas de normalidade segundo a idade, peso e altura dos parâmetros de densidade mineral óssea volumétrica, sendo (A) densidade mineral óssea total (Tt.BMD), (B) densidade mineral óssea trabecular (Tb.BMD), (C) densidade mineral óssea cortical (Ct.BMD) obtidos por HR-pQCT no rádio distal (à esquerda) e na região de tíbia (à direita) em mulheres saudáveis separadas por faixa etária. A linha sólida representa a média a partir do modelo de regressão, e as linhas tracejadas representam o intervalo de confiança de 95% de previsão

(A)

(B)

Continua

continuação -

Continua

Figura 7 - Curvas de normalidade segundo a idade, peso e altura dos parâmetros de estrutura óssea, sendo (A) número de trabéculas (Tb.N), (B) espessura trabecular (Tb.Th), (C) separação trabecular (Tb.Sp), (D) desvio padrão (Tb.1/N.SD), (E) espessura cortical (Ct.Th) obtidos por HR-pQCT no rádio distal (à esquerda) e na região de tíbia (à direita) em mulheres saudáveis separadas por faixa etária. A linha sólida representa a média a partir do modelo de regressão, e as linhas tracejadas representam o intervalo de confiança de 95% de previsão

Continua

continuação -

Continua

continuação -

Figura 8 - Curvas de normalidade segundo a idade, peso e altura dos parâmetros de porosidade cortical e elemento finito sendo (A) porosidade cortical (Ct.Po), (B) diâmetro dos poros (Ct.Po.Dm), (C) rigidez do tecido (S), (D) estimativa da carga máxima suportada (F.ult), (E) estresse trabecular (Tb.VM), (F) estresse cortical (C.VM) obtidos por HR-pQCT no rádio distal (à esquerda) e na região de tíbia (à direita) em mulheres saudáveis separadas por faixa etária. A linha sólida representa a média a partir do modelo de regressão, e as linhas tracejadas representam o intervalo de confiança de 95% de previsão

Os resultados das classificações das imagens conforme o grau de movimento são mostrados por gráfico de colunas empilhadas na figura 9. Na tíbia, mais imagens foram classificadas como grau 1 (perfeito). Imagens que foram adquiridas exibindo artefatos de movimento inaceitáveis (grau 4), foram refeitas logo após a aquisição, portanto não são descritas em nosso gráfico.

Figura 9 - Representação de imagens HR-pQCT por faixa etária, de acordo com o grau de movimento. Da esquerda para a direita, medições do rádio distal e da tíbia respectivamente. As imagens foram classificadas de acordo com a sua qualidade, conforme o esquema de classificação visual descrito por Paggiosi et al. (2014) sendo G1= perfeito; G2= movimento leve; G3= movimento moderado; e G4= movimento significante (inaceitável)

5. DISCUSSÃO

O presente estudo mostra os primeiros dados de referência para os valores de densidade mineral óssea volumétrica, estrutura óssea, porosidade cortical e parâmetros da resistência óssea obtidos por HR-pQCT utilizando as variáveis idade, peso e altura. Foram construídas curvas de normalidade na região do rádio distal e da tíbia, em mulheres adultas saudáveis dos 20 até os 85 anos de idade.

Uma vantagem deste estudo foi a inclusão de um grande número de mulheres, estabelecendo curvas de referência do sexo feminino destes parâmetros ósseos para o uso na prática clínica. Na literatura, a maioria dos estudos compararam as diferenças entre mulheres e homens, sem fornecer curvas de referência relacionada ao gênero feminino (Burt et al., 2014; Nicks et al., 2012; Macdonald et al., 2011b; Burghardt et al., 2010b; Dalzell et al., 2009; Khosla et al., 2006). Além disso, diferentemente do recente estudo que analisou uma população feminina chinesa (Hung et al., 2015) nossas curvas foram obtidas considerando-se também a influência do peso e altura, uma vez que esses parâmetros apresentam um efeito importante sobre a massa e estrutura óssea.

Outra vantagem do presente estudo foi a análise da precisão a curto prazo deste exame. Utilizamos a classificação visual de imagens de acordo com a literatura (Paggiosi et al., 2014), e as imagens classificadas como G4 não foram utilizadas no estudo.

Antes de discutir os resultados encontrados, é importante reconhecer que, neste estudo transversal, não podemos determinar verdadeiras mudanças nos resultados dos parâmetros ósseos da HR-pQCT relacionadas com a idade,

mas estimativas para cada faixa etária. Além disso, as mudanças descritas podem ser influenciadas pelo tamanho do osso (Cole, 2003).

Nossos resultados demonstram que idade, peso e altura estão relacionados à perda óssea e se comportam diferentemente nos compartimentos cortical e trabecular das regiões do rádio distal e da tíbia. Alterações macro e microestruturais que foram encontradas com o envelhecimento em nossa coorte podem ajudar a explicar como as mudanças estruturais relacionadas à idade, são diferentes nas regiões que suportam carga e regiões que não são submetidas à ação do peso corporal. De fato, os parâmetros corticais incluindo a densidade (Ct.BMD), espessura (Ct.Th) e estresse (C.VM) mostraram uma diminuição linear com a idade no rádio distal, e diferentemente na tíbia a curva obtida apresentava um platô destes parâmetros ósseos até aproximadamente trinta ou quarenta anos de idade, e após essa idade, observou-se um declínio mais acentuado desses parâmetros. É possível que estas importantes diferenças entre os locais do esqueleto periférico com maior perda óssea, estejam associadas com as forças distintas de carga que atuam nas regiões do osso (Walker-Bone et al., 2014; Hunter et al., 2014). Assim, a carga aplicada aos ossos longos de membros inferiores, isto é, na tíbia, são forças aplicadas rotineiramente durante as atividades de marcha diária (Wehner et al., 2009; Sasimontongkul et al., 2007).

Uma diminuição importante da densidade mineral óssea trabecular (Tb.BMD) observada na 5ª década pode refletir a fase de diminuição rápida da massa óssea relacionada à menopausa (Cipriani et al., 2012). Com o envelhecimento (> 70 anos) observou-se uma diminuição de osso trabecular menos intensa comparada à quinta década.

Em nosso estudo, a espessura trabecular não foi afetada pela idade, na região da tíbia, e uma baixa diminuição foi observada no rádio distal. Possíveis explicações para esta observação incluem a possibilidade de que as trabéculas mais finas são reabsorvidas em primeiro lugar, aumentando assim a média de espessura das restantes (Boutroy et al., 2005). Além disso, é possível que as trabéculas que permaneceram poderiam adaptar-se à carga mecânica, aumentando a sua espessura (Geusens et al., 2014; Boutroy et al., 2005). Interessantemente, no que diz respeito às mudanças da estrutura óssea em relação à idade, os resultados de Silva e Gibson (1997) indicam que as reduções do número de trabéculas têm um efeito 2,5 vezes maior na resistência do osso, do que a diminuição da espessura trabecular.

No presente estudo, observou-se uma correlação positiva moderada da rigidez com os parâmetros de densidade, e com os parâmetros estruturais, nos compartimentos trabecular e cortical nas regiões do rádio distal e da tíbia, sugerindo que a resistência óssea é dependente de modo semelhante tanto do osso trabecular como do cortical, propondo que o parâmetro rigidez serve como estimativa para o risco de fratura (Manske et al., 2009). Diferentemente, Pistoia et al.(2003) estudando diferentes cenários de comprometimento ósseo, observou que o osso cortical suporta a maior parte da carga na extremidade distal, e concluiu que a diminuição da espessura cortical tem um maior impacto na resistência do osso no rádio distal.

Assim como encontrado por outros autores, o presente estudo mostrou uma correlação negativa entre rigidez e porosidade cortical, observada nas regiões do rádio distal e da tíbia, sugerindo que este parâmetro cortical pode ser útil na avaliação do risco de fratura em futuros estudos (Burghardt et al.,

2010b; Wachter et al., 2001). Na nossa população este parâmetro parece ter menor importância que os outros analisados, mostrando uma fraca correlação.

Embora nossas curvas tenham sido obtidas a partir de uma população de mulheres brasileiras, algumas variáveis como: densidade mineral óssea trabecular e número de trabéculas nas regiões do rádio e da tíbia, espessura cortical na tíbia, e, estimativa da carga máxima suportada no rádio distal, apresentaram um padrão de declínio semelhante ao estudo de uma população feminina chinesa, sendo que as curvas para os parâmetros de densidade e número de trabéculas se apresentaram de forma linear (Hung et al., 2015). Desta maneira, o declínio da densidade mineral óssea e a deterioração da microarquitetura do osso parecem ter comportamento semelhante em indivíduos de diferentes etnias.

Algumas questões técnicas merecem atenção, é importante reconhecer que existem erros, e devemos interpretar os resultados com coerência. Por exemplo, medidas estruturais provenientes da HR-pQCT, que são altamente sensíveis à resolução da imagem, devem ser interpretadas com cautela. O equipamento é altamente sensível a artefatos de movimento, e isto pode ocorrer principalmente na medição do rádio. Medidas de densidades podem ser suscetíveis ao endurecimento do feixe e de artefatos de dispersão.

6. CONCLUSÕES

Este estudo fornece valores de referência dos parâmetros ósseos volumétricos e estruturais obtidos por HR-pQCT, e de propriedades biomecânicas obtidas por análise de elemento finito, de acordo com a idade, ajustados pelo peso e altura, baseados em uma população brasileira feminina saudável.

A correlação significativa entre a rigidez estimada por FE com os parâmetros de densidade e estrutura óssea analisados, sugere que esta variável pode ser utilizada como um estimador para o risco de fraturas.

O estudo foi intencionalmente transversal, e serviu para desenvolvermos um conjunto de dados de referência, baseado na população brasileira, estabelecendo valores de normalidade para os parâmetros ósseos, que serão úteis na prática clínica para a interpretação do risco de fratura e para utilização em futuros estudos.

Anexo 1

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - HCFMUSP TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

I- DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO:.....Nº.....
APTO:.....BAIRRO:.....CIDADE.....CEP:.....
TELEFONE: DDD (.....)
2- RESPONSÁVEL LEGAL:.....
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.):.....
DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M ☐ F ☐ DATA NASCIMENTO.:/...../.....
ENDEREÇO:Nº.....
APTO:.....BAIRRO:.....CIDADE:
CEP: TELEFONE: DDD (.....).....

II- DADOS SOBRE A PESQUISA

1- TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **Estabelecimento de curva de normalidade dos parâmetros ósseos obtidos na tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução (HR-pQCT) em indivíduos saudáveis.**

2- PESQUISADOR: Profa Dra Rosa Maria Rodrigues Pereira.

CARGO/FUNÇÃO: Profa Associada

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 45920.

UNIDADE DO HCFMUSP: Laboratório de Investigação Médica – Reumatologia (LIM-17)

3- AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO ☐

RISCO MÉDIO ☐

RISCO BAIXO ☒

RISCO MAIOR ☐

4- DURAÇÃO DA PESQUISA : 2 anos

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA CONSIGNANDO:

1 – JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS DA PESQUISA:

A quantidade e qualidade do osso varia conforme a raça, idade e sexo, e não existem valores de normalidade da tomografia do osso do braço e da perna na população brasileira. O objetivo deste projeto é estabelecer uma curva de normalidade destes parâmetros ósseos que a tomografia (chamada de HR-pQCT) avalia em indivíduos saudáveis em diferentes faixas etárias.

2 –PROCEDIMENTOS QUE SERÃO UTILIZADOS E PROPÓSITOS, INCLUINDO A IDENTIFICAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS QUE SÃO EXPERIMENTAIS:

Você será selecionado para responder um questionário, fazer uma coleta de sangue de aproximadamente 10 ml (uma colher de sopa), fazer um exame de densitometria óssea (exame para ver a quantidade de osso do seu corpo), e um exame de tomografia do seu braço e perna para ver a qualidade do seu osso.

Neste questionário faremos perguntas para melhor conhecê-lo, saber se você tem alguma doença (diabetes, hipertensão, etc.), toma algum remédio, e outras informações que possam ser úteis.

O sangue coletado será armazenado em um biorrepositório ao longo da execução do projeto de pesquisa, sem fins comerciais.

3 – DESCONFORTOS E RISCOS ESPERADOS:

Exame de sangue: a coleta de sangue poderá causar um leve desconforto no local da picada, que deve desaparecer em um dia.

Exame de densitometria: é um tipo de exame de RX, que não causa dor nem desconforto e você receberá uma quantidade muito pequena de irradiação, menos da metade da irradiação de um RX de tórax.

Exame HR-pQCT: é uma tomografia computadorizada da tíbia (perna esquerda) e do rádio (braço esquerdo), que não causa dor nem desconforto e você também receberá uma quantidade muito pequena de irradiação, menos da metade da irradiação de um RX de tórax .

4 – BENEFÍCIOS QUE PODERÃO SER OBTIDOS:

Você irá saber a qualidade do seu osso.

5 – PROCEDIMENTOS ALTERNATIVOS QUE PODEM SER VANTAJOSOS AO INDIVÍDUO:

Não existem.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA CONSIGNANDO:

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento. O principal investigador é a Dra. Rosa Maria Rodrigues Pereira que pode ser encontrado no endereço Avenida Dr. Arnaldo, 455, 3º andar, sala 3105, Cerqueira César, São Paulo/SP CEP: 01246-903. Telefone: 3061-7213. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel.: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20 – e-mail: cappesq@hcnnet.usp.br. Caso ocorra algum dano à saúde decorrente da pesquisa, será assegurado o seu direito de receber assistência médica no Hospital das Clínicas (HC-FMUSP).

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, e serão publicadas com fins científicos, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente. Além disso, o paciente tem direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa. Não cabe o direito de receber indenização, uma vez que você entrou por sua própria vontade no projeto e tem a liberdade para sair dele quando quiser.

V - INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS

Acredito ter sido suficientemente informado(a) a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo **"Estabelecimento de curva de normalidade dos parâmetros ósseos obtidos na tomografia computadorizada quantitativa periférica de alta resolução (HR-pQCT) em indivíduos saudáveis."**

Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

São Paulo, ____ de _____ de 2013.

Assinatura do Paciente/Representante legal

Assinatura do Pesquisador

Anexo 2

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq

PROJETO DE PESQUISA

Título: ESTABELECIMENTO DE CURVA DE NORMALIDADE DOS PARÂMETROS ÓSSEOS OBTIDOS NA TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA QUANTITATIVA PERIFÉRICA DE ALTA RESOLUÇÃO (HR-PQCT) EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS

Pesquisador Responsável: Rosa Maria Rodrigues Pereira

Versão: 5

Pesquisador Executante: Jackeline Couto Alvarenga

CAAE: 07968312.2.0000.0068

Finalidade Acadêmica: Mestrado

Instituição: HCFMUSP

Departamento: CLÍNICA MÉDICA

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Registro on-line: 9883

Número do Parecer: 225.243

Data da Relatoria: 20/03/2013

Apresentação do Projeto: O projeto tem apresentação clara e objetiva.

Objetivo da Pesquisa: Os objetivos da pesquisa são bem definidos e relevantes.

Avaliação dos Riscos e Benefícios: A avaliação dos riscos e benefícios no TCLE está bem elaborada e completa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa: Projeto de pesquisa factível e de aplicação prática, envolvendo a aplicação de um novo equipamento de Tomografia Computadorizada com baixa dose de irradiação (HR-PQCT). Projeto de interesse para a comunidade científica.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória: TCLE adequado.

Recomendações: Todas as recomendações foram atendidas.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações: Nenhuma o projeto pode ser aprovado

Situação do Parecer: Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP: Não

Considerações Finais a critério do CEP: Em conformidade com o item IX.2 da Resolução CNS nº 196/96 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

São Paulo, 25 de Março de 2013

Prof. Dr. Luiz Eugênio Garcez Leme
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa-CAPPesq

Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 225 - Prédio da Administração - 5º andar
CEP 05403-010 - São Paulo - SP.

55 11 2661-7585 - 55 11 2661-6442 ramais: 16, 17, 18 | marcia.carvalho@hc.fm.usp.br

Anexo 3

QUESTIONÁRIO MULHERES

Nome: _____ Idade: _____

Telefone: _____ Raça: _____

Idade da menarca: _____

Idade da menopausa: _____

Usa/usou reposição hormonal? (1) SIM (0) NÃO

Alguma alteração hormonal (**tiróide, prolactina**, etc.)? (1) SIM (0) NÃO Qual? _____

Usa protetor solar? (1) SIM (0) NÃO

Frequência: (1) Raramente/ Só na praia (2) Rosto – todo dia (3) Corpo inteiro – todo dia

Apresenta alguma doença? (1) SIM (0) NÃO

() DM

() HAS

() Outras doenças: _____

Faz uso de algum medicamento (**Anticoncepcionais, Glicocorticóides, Antidepressivos, Bisfosfonato, cálcio, Vitamina D**, outros.)? (1) SIM (0) NÃO Qual? _____

História familiar de fratura? (1) SIM (0) NÃO

História familiar de osteoporose? (1) SIM (0) NÃO

Já teve fratura? (1) SIM (0) NÃO

De qual osso? _____

Idade da fratura: _____

Com trauma? (1) SIM (0) NÃO

Fumante: (0) NÃO (1) Pregressa (2) Atual

Álcool: (1) Socialmente (2) Finais de semana (3) Frequentemente (0) NÃO

Atividade Física: (1) SIM (0) NÃO Tipo: _____

(0) Baixa: Não realiza atividades domésticas

(1) Moderada: atividades domésticas e/ou caminhadas irregulares

(2) Alta: atividade física regular (mínimo de 2x/semana 30 min/dia)

Número de copos de **leite** por dia: (1) um (2) dois (3) três ou mais (0) NÃOQuanto copos de **iogurte** por semana: (1) um ou dois (2) mais de dois (0) NÃOQuantas fatias de **queijo** você come por semana: (1) uma fatia (2) duas ou mais (0) NÃO

8. REFERÊNCIAS

Bhalla AK. Management of osteoporosis in a pre-menopausal woman. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2010;24:313-27.

Boutroy S, Bouxsein ML, Munoz F, Delmas PD. In vivo assessment of trabecular bone microarchitecture by high-resolution peripheral quantitative computed tomography. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:6508-15.

Boutroy S, Van Rietbergen B, Sornay-Rendu E, Munoz F, Bouxsein ML, Delmas PD. Finite element analysis based on *in vivo* HR-pQCT images of the distal radius is associated with wrist fracture in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2008;23:392-9.

Boyd SK. Site-specific variation of bone micro-architecture in the distal radius and tibia. *J Clin Densitom* 2008;11:424-30.

Burghardt AJ, Buie HR, Laib A, Majumdar S, Boyd SK. Reproducibility of direct quantitative measures of cortical bone microarchitecture of the distal radius and tibia by HR-pQCT. *Bone* 2010a;47:519-28.

Burghardt AJ, Kazakia GJ, Ramachandran S, Link TM, Majumdar S. Age- and gender-related differences in the geometric properties and biomechanical significance of intracortical porosity in the distal radius and tibia. *J Bone Miner Res* 2010b;25:983-93.

Burt LA, Macdonald HM, Hanley DA, Boyd SK. Bone microarchitecture and strength of the radius and tibia in a reference population of young adults: an HR-pQCT study. *Arch Osteoporos* 2014;9:1-183.

Cipriani C, Romagnoli E, Carnevale V, Raso I, Scarpiello A, Angelozzi M, Tancredi A, Russo S, De Lucia F, Pepe J, Minisola S. Muscle strength and bone in healthy women: effect of age and gonadal status. *Hormones* 2012;11:325-32.

Cohen A, Dempster DW, Müller R, Guo XE, Nickolas TL, Liu XS, Zhang XH, Wirth AJ, van Lenthe GH, Kohler T, McMahon DJ, Zhou H, Rubin MR,

Bilezikian JP, Lappe JM, Recker RR, Shane E. Assessment of trabecular and cortical architecture and mechanical competence of bone by high-resolution peripheral computed tomography: comparison with transiliac bone biopsy. *OsteoporosInt* 2010;21:263-273.

Cole TJ. The secular trend in human physical growth: a biological view. *Econ Hum Biol* 2003;1:161-8.

Dalzell N, Kaptoge S, Morris N, Berthier A, Koller B, Braak L, van Rietbergen B, Reeve J. Bone micro-architecture and determinants of strength in the radius and tibia: age-related changes in a population-based study of normal adults measured with high-resolution pQCT. *OsteoporosInt* 2009;20:1683-94.

Delaissé JM. The reversal phase of the bone-remodeling cycle: cellular prerequisites for coupling resorption and formation. *Bonekey Rep* 2014;3:561-56.

Feldkamp LA, Goldstein SA, Parfitt AM, Jesion G, Kleerekoper M. The direct examination of three-dimensional bone architecture in vitro by computed tomography. *J Bone Miner Res* 1989;4:3-11.

Frost HM. Bone histomorphometry: Analysis of trabecular bone dynamics. In: Bone histomorphometry - techniques and interpretation. Boca Raton: CRC Press 1983;109-131.

Fuchs SC, Guimarães SM, Sortica C, Wainberg F, Dias KO, Ughini M, et al. Reliability of race assessment based on the race of the ascendants: a cross-sectional study. *BMC Public Health* 2002;2:1-5.

Fuller H, Fuller R, Pereira RM. High resolution peripheral quantitative computed tomography for the assessment of morphological and mechanical bone parameters. *Rev Bras Reumatol*. 2014 Nov 26.

Geusens P, Chapurlat R, Schett G, Ghasem-Zadeh A, Seeman E, de Jong J, van den Bergh J. High-resolution in vivo imaging of bone and joints: a window to microarchitecture. *Nat Rev Rheumatol*. 2014 May;10(5):304-13.

- Hansen S, Hauge EM, Beck Jensen JE, Brixen K. Differing effects of PTH 1-34, PTH 1-84, and zoledronic acid on bone microarchitecture and estimated strength in postmenopausal women with osteoporosis: an 18-month open-labeled observational study using HR-pQCT. *J Bone Miner Res* 2013;28:736-45.
- Hung VW, Zhu TY, Cheung WH, Fong TN, Yu FW, Hung LK, Leung KS, Cheng JC, Lam TP, Qin L. Age-related differences in volumetric bone mineral density, microarchitecture, and bone strength of distal radius and tibia in Chinese women: a high-resolution pQCT reference database study. *Osteoporos Int*. 2015.
- Hunter GR, Plaisance EP, Fisher G. Weight loss and bone mineral density. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2014;21(5):358-62.
- Kaji H, Yamauchi M, Chihara K, et al. The threshold of bone mineral density for vertebral fracture in female patients with glucocorticoid-induced osteoporosis. *Endocr J* 2006;53(1):27-34.
- Kanis JA. Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. *Lancet*. 2002;359(9321):1929-36.
- Khosla S, Riggs BL, Atkinson EJ, Oberg AL, McDaniel LJ, Holets M, Peterson JM, Melton LJ 3rd. Effects of sex and age on bone microstructure at the ultradistal radius: a population-based noninvasive in vivo assessment. *J Bone Miner Res* 2006;21:124-3.
- Krug R, Burghardt AJ, Majumdar S, Link TM. High-resolution imaging techniques for the assessment of osteoporosis. *Radiol Clin North Am* 2010;48:601-21.
- Liu XS, Zhang XH, Sekhon KK, Adams MF, McMahon DJ, Bilezikian JP, Shane E, Guo XE. High-Resolution Peripheral Quantitative Computed Tomography can assess microstructural and mechanical properties of human distal tibial bone. *J Bone Miner Res* 2010a;25:746-756.

Liu XS, Cohen A, Shane E, Yin PT, Stein EM, Rogers H, Kokolus SL, McMahon DJ, Lappe JM, Recker RR, Lang T, Guo XE. Bone density, geometry, microstructure, and stiffness: Relationships between peripheral and central skeletal sites assessed by DXA, HR-pQCT, and cQCT in premenopausal women. *J Bone Miner Res* 2010b;25:2229-38.

Macdonald HM, Nishiyama KK, Hanley DA, Boyd SK. Changes in trabecular and cortical bone microarchitecture at peripheral sites associated with 18 months of teriparatide therapy in postmenopausal women with osteoporosis. *OsteoporosInt* 2011a;22:357-62.

Macdonald HM, Nishiyama KK, Kang J, Hanley DA, Boyd SK. Age-related patterns of trabecular and cortical bone loss differ between sexes and skeletal sites: a population-based HR-pQCT study. *J Bone Miner Res* 2011b;26:50-62.

Macneil JA, Boyd SK. Improved reproducibility of high-resolution peripheral quantitative computed tomography for measurement of bone quality. *Med Eng Phys* 2007;29:1096–105.

Manske SL, Liu-Ambrose T, Cooper DM, Kontulainen S, Guy P, Forster BB, McKay HA. Cortical and trabecular bone in the femoral neck both contribute to proximal femur failure load prediction. *OsteoporosInt* 2009;20(3):445-53.
Merz WH, Schenk RK. Quantitative structural analysis of human cancellous bone. *Acta Anat* 1970;75:54-66.

Nicks KM, Amin S, Atkinson EJ, Riggs BL, Melton LJ 3rd, Khosla S. Relationship of age to bone microstructure independent of areal bone mineral density. *J Bone Miner Res* 2012;27:637-44.

Nishiyama KK, Macdonald HM, Buie HR, Hanley DA, Boyd SK. Postmenopausal women with osteopenia have higher cortical porosity and thinner cortices at the distal radius and tibia than women with normal aBMD: an in vivo HR-pQCT study. *J Bone Miner Res* 2010;25:882-90.

- Paggiosi MA, Eastell R, Walsh JS. Precision of high-resolution peripheral quantitative computed tomography measurement variables: influence of gender, examination site, and age. *Calcif Tissue Int* 2014;94(2):191-201.
- Patsch JM, Burghardt AJ, Kazakia G, Majumdar S. Noninvasive imaging of bone microarchitecture. *Ann N Y AcadSci* 2011;1240:77-87.
- Pistoia W, van Rietbergen B, Regsegger P. Mechanical consequences of different scenarios for simulated bone atrophy and recovery in the distal radius. *Bone* 2003;33:937-45.
- Rizzoli R, Chapurlat RD, Laroche J-M, Krieg MA, Thomas T, Frieling I, Boutroy S, Laib A, Bock O, Felsenberg D. Effects of strontium ranelate and alendronate on bone microstructure in women with osteoporosis. *OsteoporosInt* 2012;23:305-15.
- Sasimontongkul S, Bay BK, Pavol MJ. Bone contact forces on the distal tibia during the stance phase of running. *J Biomech.* 2007;40(15):3503-9.
- Sheth RD, Binkley N, Hermann BP. Gender differences in bone mineral density in epilepsy. *Epilepsia* 2008;49:125-31.
- ShyamSundar S, Nandlal B, Saikrishna D, Mallesh G. Finite Element Analysis: A Maxillofacial Surgeon's Perspective. *J Maxillofac Oral Surg* 2012;11:206-11.
- Silva MJ, Gibson LJ. Modeling the mechanical behavior of vertebral trabecular bone: effects of age-related changes in microstructure. *Bone* 1997;21:191-9.
- Sornay-Rendu E, Boutroy S, Munoz F, Buxsein ML. Cortical and trabecular architecture are altered in postmenopausal women with fractures. *OsteoporosInt* 2009;20:1291-1297.
- Stein EM, Liu XS, Nickolas TL, Cohen A, Thomas V, McMahon DJ, Zhang C, Yin PT, Cosman F, Nieves J, Guo XE, Shane E. Abnormal microarchitecture and reduced stiffness at the radius and tibia in postmenopausal women with fractures. *J Bone Miner Res* 2010;25:2572-81.

Stone KL, Seeley DG, Lui LY, et al. BMD at multiple sites and risk of fracture of multiple types: long-term results from the Study of Osteoporotic Fractures. *J Bone Miner Res*. 2003;18(11):1947-54.

Taylor A, Konrad PT, Norman ME, Harcke HT. Total body bone mineral density in young children: influence of head bone mineral density. *J Bone Miner Res* 1997;12:652-5.

vanStaa TP, Leufkens HG, Cooper C. The epidemiology of corticosteroid induced osteoporosis: a meta-analysis. *OsteoporosInt* 2002;13:777-787.

Vico L, Zouch M, Amirouche A, Frère D, Laroche N, Koller B, Laib A, Thomas T, Alexandre C. High-resolution pQCT analysis at the distal radius and tibia discriminates patients with recent wrist and femoral neck fractures. *J Bone Miner Res* 2008;23:1741-50.

Wachter NJ, Augat P, Krischak GD, Mentzel M, Kinzl L, Claes L. Prediction of cortical bone porosity in vitro by microcomputed tomography. *Calcif Tissue Int* 2001;68(1):38-42.

Walker-Bone K, D'Angelo S, Syddall HE, Palmer KT, Cooper C, Coggon D, Dennison EM. Exposure to heavy physical occupational activities during working life and bone mineral density at the hip at retirement age. *Occup Environ Med* 2014;71(5):329-31.

Wehner T, Claes L, Simon U. Internal loads in the human tibia during gait. *ClinBiomech (Bristol, Avon)*. 2009;24(3):299-302.

XtremeCT Revision 5.05. Scanco Medical Ag. 18 July 2005. Bassersdorf Switzerland.

Apêndice A – Artigo

Reference Curves of Bone Parameters Obtained by High Resolution Peripheral Quantitative Computed Tomography (HR-pQCT) in Healthy Women from 20 to 85 Years Old

Jackeline C Alvarenga, Henrique Fuller, Sandra Gofinet Pasoto, Rosa MR Pereira
Rheumatology Division, Faculdade Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

Jackeline C Alvarenga, MSc

Rheumatology Division, Faculdade Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

Henrique Fuller, medical graduate student

Rheumatology Division, Faculdade Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

Sandra Gofinet Pasoto, MD, PhD

Rheumatology Division, Faculdade Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

Rosa MR Pereira, MD, PhD, fullprofessor

Rheumatology Division, Faculdade Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

Corresponding Author

Rosa MR Pereira

Rheumatology Division, Faculdade Medicina da Universidade de São Paulo, Av. Dr. Arnaldo,
455, 3o andar, Sala 3193, São Paulo, 01246-903, Brazil

Email: rosamariarp@yahoo.com

Abstract

Bone is a dynamic tissue, and its formation and resorption are continuous processes that promote changes throughout the life of the organism. The aim of this cross-sectional study is to establish normal values related to age, weight and height using high-resolution peripheral quantitative computed tomography (HR-pQCT) regarding volumetric bone mineral density (vBMD), microarchitecture, cortical porosity and estimated bone strength at the distal radius and tibia from a miscegenated population of women aged 20 to 85 years.

Reference curves of vBMD (total, trabecular and cortical), bone structure, cortical porosity and finite element parameters at the distal radius and tibia were calculated in 450 healthy women, including more than 50 subjects from each decade within the age range. Linear regression models were developed to predict the values of the normal curves measured according to age, weight and height.

All parameters of vBMD and structure showed decreasing linear curves with aging in both peripheral sites, except for compact bone density (Ct.BMD) and cortical thickness (Ct.Th) at the tibia, which had a different declining curve pattern. The cortical pore diameter (Ct.Po.Dm) showed an increasing linear curve in both regions analyzed, whereas the cortical porosity parameter (Ct.Po) maintained a plateau in the first decades followed by an increase in porosity. Parameters of bone strength presented decreasing linear curves, except for stiffness (S) and estimated failure load (F.ult) at the distal radius and cortical stress (C.VM) at the tibia, which presented with different declining curve. Significant correlations of stiffness with the remaining parameters were found ($p < 0.001$), except with the cortical pore diameter (Ct.Po.Dm) at the tibia.

We established a set of reference data for parameters obtained by HR-pQCT, based on a miscegenated normal population, which will be useful for interpreting clinical data from patients in clinical practice and in future studies.

Keywords: HR-PQCT, strength, bone, distal radius, tibia

Introduction

Bone is a dynamic tissue, and its formation and resorption are continuous processes throughout the life of the organism. During growth, formation and resorption changes occur in the size and shape of the bone.⁽¹⁾ During adolescence, there is a dramatic increase in bone mineral density. A plateau is maintained for some time, after which, related bone loss begins with age. Bone loss is accelerated once menopause is reached.⁽²⁾ After menopause, slower loss occurs, which is associated with age and characterized by low bone turnover.⁽³⁾

The measurement of bone mineral density (BMD) in the lumbar spine and femoral neck by dual X-ray absorption (DXA) is currently the most accepted method for clinical diagnosis and assessment of fracture risk.⁽⁴⁾ However, the DXA technology has limitations because it is unable to distinguish between cortical and trabecular bone and cannot quantify bone microarchitecture. Indeed, epidemiologic data indicate that half of incidental fractures occur in women whose areal BMD values are above the threshold for diagnosis of osteoporosis according to the World Health Organization (WHO) criteria.⁽⁵⁾

The recent introduction of high-resolution peripheral quantitative computed tomography (HR-pQCT) allows precise *in vivo* assessment of bone microarchitecture and volumetric BMD (vBMD).⁽⁶⁾ With a nominal isotropic resolution of 82 μm , HR-pQCT provides 3D microstructural data for both the cortical and trabecular compartments of the distal radius and tibia.^(7, 8)

After the acquisition of standard data microarchitecture, the script (screenplay computer) Specific Finite Element can be added, which allows estimation of functional properties of bone from data collected in a static manner.⁽⁹⁾ This analysis comprises a virtual resistance test through which the computer estimates and analyzes the behavior when this bone is subjected to a compressive force.^(10, 11)

Although some studies have investigated the age-related results in the HR-pQCT in women and men, the reported results correlate the differences based on gender over the years.

The aim of this study was to evaluate trabecular and cortical bone parameters as well as biomechanical properties by finite element analysis using HR-pQCT in healthy women from the ages of 20 to 85 years separated by decades in a Brazilian population and thus provide the first data reference of HR-pQCT bone parameters in adult miscegenated women.

Patients and Methods

Participants

For this study, 450 healthy women ranging in age from 20 to 85 years who worked at the University of São Paulo-School of Medicine or Clinics Hospital of University of São Paulo or their family members were invited to participate. Exclusion criteria were bone-associated metabolic diseases (rickets, hypoparathyroidism, and so on), prior atraumatic fracture, chronic diseases (diabetes mellitus, renal or liver failure, hyperthyroidism or hypothyroidism, malabsorption), and use of any medication that interferes with bone metabolism (bisphosphonates, teriparatide, glucocorticoids, and so on). All women included in this study answered a specific questionnaire and underwent HR-pQCT assessment on the same day.

Data collection

Demographic and anthropometric characteristics including race, age, height and weight were recorded. The race was defined based on self-reported race based on second generation of ancestors, an approach used previously for the Brazilian population.⁽¹⁸⁾ Individuals who reported having four Caucasian grandparents were classified as white. Individuals with African and Caucasian ancestry (mixed race) were classified as non-Caucasians. When racial information in relation to grandparents was not available, the race of an individual was determined by the race of their parents. The descendants of other races were not included. A questionnaire of risk factors for osteoporosis and self-reported use of medications was used to describe age at menarche and menopause, personal and family history of fracture, daily calcium intake (food), frequency of physical activity (at least 3 times a week for the last 6 months),⁽¹⁹⁾ use of sun protection, social drinking and hypertension. Current use of medications such as

antihypertensive, antidepressant, calcium supplementation, vitamin D, contraceptives and hormone replacement therapy were also recorded.⁽²⁰⁾

Evaluation of the distal radius and tibia by HR-pQCT

The nondominant forearm and the left tibia of individuals were immobilized on a carbon fiber shell provided by the manufacturer. The acquisitions were scanned using HR-pQCT (XtremeCT, Scanco Medical) with the standard scanning protocol (60 kVp, 95 mA) and the region of interest was defined by using a conventional radiography performed by the equipment itself to determine the standardized start and end of the tomography. The measurement included 110 slices, corresponding to a dimension of 9.02 mm for the distal end, 9.50 mm and 22.50 mm proximal to the reference line for the distal radius and tibia, respectively, with a nominal isotropic resolution of 82 μm (voxel size). All examinations were acquired by a trained biomedical scientist (JCA) using standard positioning to minimize the effect of positioning errors in morphological outcomes.⁽²¹⁾ The biomedical scientist also carefully examined each scan for motion artifacts, and in the case of significant motion artifacts (for example, smudge or discontinuities), she performed a second examination. Quality control was monitored daily using a phantom daily calibration provided by the manufacturer. All HR-pQCT images were scored by motion artifacts according to a motion scale of 0 (no movement) to 4 (significant blurring of periosteal surface discontinuities in the cortical layer in the soft tissue or tracks).⁽²²⁾ For this study, the tests that have been marked as 4 in our range of motion were excluded. Representations of 3D images of the distal radius and tibia for each age group are shown in Figure 1.

Fig. 1. 3D images of the distal radius and tibia for each age group.

The outcome variables used in our analyses included the following:

- a) **Volumetric bone mineral density parameters** (mg HA/cm^3): total bone mineral density (Tt.BMD), trabecular bone mineral density (Tb.BMD), cortical bone mineral density (Ct.BMD);

- b) **Bone structure parameters:** number of trabeculae (Tb.N, 1/mm), trabecular thickness (Tb.Th, mm), trabecular separation (Tb.Sp, mm), inhomogeneity of network (Tb.1/N.SD, mm), cortical thickness (Ct.Th, mm);
- c) **Cortical porosity parameters:** cortical porosity (Ct.Po, in percent), mean cortical pore diameter (Ct.Po.Dm, mm). The precision of HR-pQCT at distal radius demonstrated a coefficient of variation of 0.93 to 1.41% for density measurements and 1.49 to 7.59% for morphometric measurements.

To assess biomechanical bone strength, finite element analysis (FEA) models of the distal radius and tibia were created directly from the HR-pQCT images using software provided by the manufacturer (Finite Element Software, v1.13, Scanco Medical AG, Switzerland, January 2009 Manufacturer's Guide). The following biomechanical properties were analyzed using FEA: stiffness (S, N/mm), estimated ultimate failure load (F.ult, N), trabecular Van Mises stress (Tb.VM, N/mm²) and cortical Van Mises stress (C.VM, N/mm²).

Statistical analysis

Data were expressed as median and SD or median and *interquartile range* (IQR). To calculate the normality curves, multiple linear regression models were developed to predict the measured of volumetric bone density, bone structure, cortical porosity and finite element parameters at the distal radius and tibia as a function of age, weight and height. Thus, twenty-eight curves, one for each variable of interest in the study, were obtained for the female population. The predicted values were calculated from the appropriate regression models. The results are illustrated using scatter plots with their respective normal ranges (P2.5% and P97.5%), and the tests were performed with a significance level of 2.5%. To evaluate the correlation between stiffness and the other parameters obtained by HR-pQCT, Pearson correlations were used. P-values <0.05 were considered to be statistically significant.

Approval by the Ethics Committee

This study was approved by the Ethics Committee for Analysis of Research Projects - CAPPesq of Hospital das Clínicas (research protocol # 225.243-2013), and all participants read, agreed to and signed the informed consent.

Results

All variables obtained from HR-pQCT for the 450 women subjects showed normal distribution. Demographic, anthropometric parameters, risk factors for osteoporosis and self-reported use of medications are shown in **Table 1**. The majority of the subjects were white (78.7%), and 49.3% of the women were postmenopausal.

Evaluation of the distal radius by HR-pQCT

Multiple linear regression models were developed to predict the volumetric bone density, bone structure, cortical porosity and finite element variables obtained by HR-pQCT as a function of age, weight and height at distal radius. These curves are illustrated using scatter plots (**Figs. 2, 3 and 4 – Radius**). Except for cortical porosity (**Fig. 4 – Radius: A**), stiffness (**Fig. 4 – Radius: C**) and estimated failure load (**Fig. 4 – Radius: D**), all parameters showed linear curves.

Age and height had negative linear effects on Tt.BMD, Tb.BMD, Ct.BMD, Ct.Th, Tb.VM and C.VM and weight had a positive effect on all parameters except Tb.Sp and Tb.1/N.SD (**Table 2**). The median and interquartile interval of all distal radius parameters is demonstrated in **Table 3**.

Pearson correlations (r) between the stiffness parameter obtained by finite element analysis and all variables measured by HR-pQCT at distal radius are shown in **Table 4**. A moderately positive correlation between stiffness and Tt.BMD (r: 0.638, p <0.001), Tb.BMD (r: 0.644, p <0.001), Tb.Th (r: 0.616, p <0.001) and Ct.Th (r: 0.619, p <0.001) was observed. In contrast, a weak negative correlation was detected between stiffness and Tb.Sp (r: -0.312, p <0.001) and Ct.Po (r: -0.162, p <0.015).

Evaluation of the tibia by HR-pQCT

All obtained curves were linear, except for Ct.BMD (**Fig. 2** – Tibia: C), Ct.Th. (**Fig. 3** – Tibia: E), Ct.Po (**Fig. 4** – Tibia: A), and C.VM (**Fig. 4** – Tibia: F). Age had negative linear effects on Tt.BMD, Tb.BMD, Tb.N, stiffness and F.ult. Height had a negative effect on Tt.BMD, Ct.BMD, Ct.Th and C.VM, while weight had a positive effect on all density parameters and also on Tb.N, Ct.Th, stiffness and F.ult (**Table 5**). The median and IQR of all distal tibia parameters are shown in **Table 6**.

A positive correlation was observed between the stiffness at the tibia and the following parameters: Tt.BMD, Tb.BMD, Ct.BMD, Tb.N, Tb.Th, Ct.Th, Fult, Tb.VM, C.VM ($p < 0.001$) (**Table 7**). However, a negative correlation between stiffness and Tb.Sp ($r: -0.354$, $p < 0.001$) and Ct. Po ($r: -0.273$, $p < 0.001$) was found (**Table 7**).

Discussion

This study provides the first reference data on trabecular and cortical bone volumetric density, microarchitecture and estimated bone strength by HR-pQCT using age, weight and height variables to construct normality curves at the distal radius and tibia in adult women ranging from 20 to 85 years in age.

One advantage of this study was the large number of subjects allowing us to establish female reference curves for use in clinical practice. In fact, most studies compare the differences between women and men without providing gender-related reference curves.⁽¹²⁻¹⁷⁾ In addition, in contrast to a recently study analyzing a Chinese female population,⁽²³⁾ our curves were determined considering the effects of weight and height because these parameters have important effects on structure and bone mass.

Another advantage of the present study is related to short-term accuracy. We used visual classification of images in accordance with the literature,⁽²²⁾ and images classified as G4, were not used in the present study.

The limitation of this study is that the data are cross-sectional. Therefore, it is not possible to determine real changes from the HR-pQCT results that are age related. Instead

estimates values were obtained for each age group. In this regard, there are no data concerning the prospective evaluation of bone parameters assessed by HR-pQCT.

Our results suggest that patterns of age-, weight- and height-related bone loss differ between the cortical and trabecular compartments at the distal radius and distal tibia. The predicted macro- and microstructural changes due to aging in our cohort may help to explain how age-related structural changes differ between weight-bearing and non-weight-bearing sites. In fact, cortical parameters including density (Ct.BMD), thickness (Ct.Th) and bone strength (C.VM) show a linear decrease at the distal radius with age and differ at the tibia. The obtained curve had a plateau of these bone parameters until age thirty to forty, after which a more pronounced decrease of these bone parameters was noted. It is possible that these important differences between the peripheral skeletal sites bone loss at the distal radius may be associated with the distinct loading forces acting in the bone regions.^(24, 25) Indeed, the applied load to long bones such as the tibia are commonly under forces applied during daily gait activity.^(26, 27)

In our study, the trabecular thickness was not affected by age, weight and height at the tibia and only by a mild effect at radius. These findings could be because thinner trabeculae are reabsorbed in the first place throughout the adult life, thereby resulting in an increase of the mean thickness of the remaining trabeculae. In addition, it is possible that the remaining trabeculae could adapt to the mechanical load by increasing their thickness.^(7, 28) Interestingly, with respect to changes in bone structure in relation to age, the results of Silva and Gibson indicate that reductions in the number of trabeculae have a 2.5 times larger effect on bone resistance to reducing trabecular thickness.⁽²⁹⁾

In the present study, there was a positive correlation of stiffness with vBMD parameters and the structural parameters in trabecular and cortical compartments in the regions of the distal radius and tibia, suggesting that bone strength is similarly dependent on both the trabecular and cortical bone, proposing that the stiffness parameter serves as an estimate of the risk of fracture.

⁽³⁰⁾ Unlike, Pistoia and colleagues studied different scenarios bone atrophy was observed that

the cortical bone bears most of the load at the distal end, and concluded that the decrease in cortical thickness has a greater impact on bone strength in the distal radius.⁽³¹⁾

As found by other authors, the present study has shown a negative correlation between stiffness and cortical porosity at the distal radius and tibia suggesting that this cortical parameter could be useful in fracture risk assessment in future studies (17, 32). However, in our population this parameter seems to be less important than the others analyzed, on account of a weak correlation.

Although our curves were obtained from a miscegenated female population, some variables such as: the volumetric trabecular density and trabecular number at the distal radius and tibia, cortical thickness at the tibia, and estimated failure load on the distal radius, curves showed patterns of decline similar to the study of a Chinese female population, wherein the curves for the density parameters and number of trabeculae presented linearly. Thereby suggesting that the bone loss density and the microarchitecture deterioration may be similar in individuals from different ethnicities.⁽²³⁾

This study established a set of reference data for volumetric and structural bone parameters obtained by HR-pQCT and biochemical properties by finite element analysis, according age, weight and height based on a miscegenated normal population. These results may be useful in clinical practice for interpreting fracture risk.

Acknowledgments

We thank Valeria de Falco Caparbo for her technical support and Dr. Rogerio Ruscitto for the statistical analysis.

Funding statement

This study was supported by grants from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ #301805/2013-0 and #472754/2013-0 to RMRP) and Federico Foundation (to RMRP) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (JCA).

Disclosure statement

Jackeline C Alvarenga, Henrique Fuller, Sandra Gofinet Pasoto and Rosa Maria Rodrigues Pereira declare that they have no conflict of interest.

References

1. Delaisse JM. The reversal phase of the bone-remodeling cycle: cellular prerequisites for coupling resorption and formation. *Bonekey Rep.* 2014;3:561-56.
2. Feng X, McDonald JM. Disorders of bone remodeling. *Annu Rev Pathol.* 2011;6:121-45.
3. Kanis JA. Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. *Lancet.* 2002;359(9321):1929-36.
4. Kaji H, Yamauchi M, Chihara K, et al. The threshold of bone mineral density for vertebral fracture in female patients with glucocorticoid-induced osteoporosis. *Endocr J* 2006;53(1):27-34.
5. Stone KL, Seeley DG, Lui LY, et al. BMD at multiple sites and risk of fracture of multiple types: long-term results from the Study of Osteoporotic Fractures. *J Bone Miner Res.* 2003;18(11):1947-54.
6. Patsch JM, Burghardt AJ, Kazakia G, Majumdar S. Noninvasive imaging of bone microarchitecture. *Ann N Y AcadSci* 2011;1240:77-87.
7. Boutroy S, Buxsein ML, Munoz F, Delmas PD. In vivo assessment of trabecular bone microarchitecture by high-resolution peripheral quantitative computed tomography. *J ClinEndocrinolMetab* 2005;90(12):6508-15.
8. Engelke K, Stampa B, Timm W, Dardzinski B, de Papp AE, Genant HK, Fuerst T. Short-term in vivo precision of BMD and parameters of trabecular architecture at the distal forearm and tibia. *Osteoporos Int.* 2012;23(8):2151-8.
9. Fuller H, Fuller R, Pereira RM. High resolution peripheral quantitative computed tomography for the assessment of morphological and mechanical bone parameters. *Rev Bras Reumatol.* 2014 Nov 26
10. Boutroy S, Van Rietbergen B, Sornay-Rendu E, Munoz F, Buxsein ML, Delmas PD. Finite element analysis based on in vivo HR-pQCT images of the distal radius is

- associated with wrist fracture in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2008;23(3):392-9.
11. Liu XS, Zhang XH, Sekhon KK, Adams MF, McMahon DJ, Bilezikian JP, Shane E, Guo XE. High-Resolution Peripheral Quantitative Computed Tomography can assess microstructural and mechanical properties of human distal tibial bone. *J Bone Miner Res* 2010;25(4):746-56.
 12. Macdonald HM, Nishiyama KK, Kang J, Hanley DA, Boyd SK. Age-related patterns of trabecular and cortical bone loss differ between sexes and skeletal sites: a population-based HR-pQCT study. *J Bone Miner Res* 2011;26(1):50-62.
 13. Khosla S, Riggs BL, Atkinson EJ, Oberg AL, McDaniel LJ, Holets M, Peterson JM, Melton LJ 3rd. Effects of sex and age on bone microstructure at the ultradistal radius: a population-based noninvasive in vivo assessment. *J Bone Miner Res* 2006;21(1):124-31.
 14. Dalzell N, Kaptoge S, Morris N, Berthier A, Koller B, Braak L, van Rietbergen B, Reeve J. Bone micro-architecture and determinants of strength in the radius and tibia: age-related changes in a population-based study of normal adults measured with high-resolution pQCT. *OsteoporosInt* 2009;20(10):1683-94.
 15. Nicks KM, Amin S, Atkinson EJ, Riggs BL, Melton LJ 3rd, Khosla S. Relationship of age to bone microstructure independent of areal bone mineral density. *J Bone Miner Res* 2012;27(3):637-44.
 16. Burt LA, Macdonald HM, Hanley DA, Boyd SK. Bone microarchitecture and strength of the radius and tibia in a reference population of young adults: an HR-pQCT study. *Arch Osteoporos* 2014;9(1):183.
 17. Burghardt AJ, Kazakia GJ, Ramachandran S, Link TM, Majumdar S. Age- and gender-related differences in the geometric properties and biomechanical significance of intracortical porosity in the distal radius and tibia. *J Bone Miner Res* 2010;25(5):983-93.

18. Fuchs SC, Guimarães SM, Sortica C, Wainberg F, Dias KO, Ughini M, Castro JA, Fuchs FD. Reliability of race assessment based on the race of the ascendants: a cross-sectional study. *BMC Public Health*. 2002;2:1.
19. Bhalla AK. Management of osteoporosis in a pre-menopausal woman. *Best Pract Res ClinRheumatol* 2010;24(3):313-27.
20. Eviö S, Tiitinen A, Laitinen K, Ylikorkala O, Välimäki MJ. Effects of alendronate and hormone replacement therapy, alone and in combination, on bone mass and markers of bone turnover in elderly women with osteoporosis. *J ClinEndocrinolMetab*. 2004;89(2):626-31.
21. Boyd SK. Site-specific variation of bone micro-architecture in the distal radius and tibia. *J ClinDensitom* 2008;11(3):424-30.
22. Paggiosi MA, Eastell R, Walsh JS. Precision of high-resolution peripheral quantitative computed tomography measurement variables: influence of gender, examination site, and age. *Calcif Tissue Int* 2014;94(2):191-201.
23. Hung VW, Zhu TY, Cheung WH, Fong TN, Yu FW, Hung LK, Leung KS, Cheng JC, Lam TP, Qin L. Age-related differences in volumetric bone mineral density, microarchitecture, and bone strength of distal radius and tibia in Chinese women: a high-resolution pQCT reference database study. *Osteoporos Int*. 2015.
24. Walker-Bone K, D'Angelo S, Syddall HE, Palmer KT, Cooper C, Coggon D, Dennison EM. Exposure to heavy physical occupational activities during working life and bone mineral density at the hip at retirement age. *Occup Environ Med* 2014;71(5):329-31.
25. Hunter GR, Plaisance EP, Fisher G. Weight loss and bone mineral density. *CurrOpinEndocrinol Diabetes Obes* 2014;21(5):358-62.
26. Sasimontongkul S, Bay BK, Pavol MJ. Bone contact forces on the distal tibia during the stance phase of running. *J Biomech*. 2007;40(15):3503-9.
27. Wehner T, Claes L, Simon U. Internal loads in the human tibia during gait. *ClinBiomech (Bristol, Avon)*. 2009;24(3):299-302.

28. Geusens P, Chapurlat R, Schett G, Ghasem-Zadeh A, Seeman E, de Jong J, van den Bergh J. High-resolution in vivo imaging of bone and joints: a window to microarchitecture. *Nat Rev Rheumatol*. 2014 May;10(5):304-13.

29. Silva MJ, Gibson LJ. Modeling the mechanical behavior of vertebral trabecular bone: effects of age-related changes in microstructure. *Bone* 1997;21(2):191-9.

30. Manske SL, Liu-Ambrose T, Cooper DM, Kontulainen S, Guy P, Forster BB, McKay HA. Cortical and trabecular bone in the femoral neck both contribute to proximal femur failure load prediction. *Osteoporos Int* 2009;20(3):445-53.

31. Pistoia W, van Rietbergen B, Regsegger P. Mechanical consequences of different scenarios for simulated bone atrophy and recovery in the distal radius. *Bone* 2003;33(6):937-45.

32. Wachter NJ, Augat P, Krischak GD, Mentzel M, Kinzl L, Claes L. Prediction of cortical bone porosity in vitro by microcomputed tomography. *Calcif Tissue Int* 2001;68(1):38-42.

Table 1. Demographic and anthropometric characteristics, risk factors for osteoporosis and self-reported use of medications in 450 healthy women according to age by decade

Variable	20-29 (n=90)	30-39 (n=69)	40-49 (n=70)	50-59 (n=94)	60-69 (n=74)	≥ 70 (n=53)
Age, years	25 ± 3.2	34 ± 2.7	46 ± 3.0	54 ± 2.9	64 ± 2.7	74 ± 3.0
Weight, kg	62.1 ± 13.1	69.0 ± 13.7	72.1 ± 12.3	71.1 ± 12.7	65.3 ± 11.7	68.0 ± 9.9
Height, m	1.61 ± 0.06	1.61 ± 0.07	1.57 ± 0.07	1.57 ± 0.06	1.54 ± 0.1	1.51 ± 0.04
BMI, (kg/m) ²	24.32 ± 5.27	26.09 ± 4.93	29.04 ± 4.40	28.86 ± 4.70	29.29 ± 4.70	30.04 ± 4.26
Race, n (%)						
White	72 (80.0)	51 (73.9)	64 (91.4)	75 (79.8)	48 (64.9)	44 (83.1)
Not white	18 (20.0)	18 (26.1)	6 (8.6)	19 (20.2)	26 (35.1)	9 (16.9)
Age of menarche, years	12 ± 1.34	12 ± 1.51	12 ± 1.75	13 ± 1.89	13 ± 1.59	12 ± 1.47
Menopause, n	0	0	9 (12.8)	86 (91.5)	74 (100)	53 (100)
Parental history of OP, n (%)	23 (25.5)	22 (31.9)	15 (21.4)	20 (21.3)	21 (28.4)	8 (15.1)
History of traumatic fracture, n (%)	18 (20.0)	10 (14.5)	10 (14.2)	10 (10.6)	11 (14.9)	14 (26.4)
Calcium intake, mg/day	544.4 ± 171.9	520.3 ± 172.2	347.4 ± 242.3	337.4 ± 269.4	455.7 ± 237.0	377.7 ± 252.7
Regular exercise, n (%)	63 (70.0)	43 (62.3)	23 (32.8)	34 (36.2)	34 (45.9)	17 (32.1)
Use of sun protection factor, n (%)	73 (81.1)	50 (72.5)	35 (50.0)	34 (36.2)	43 (58.1)	21 (39.6)
Social drinking, n (%)	45 (50.0)	26 (37.7)	20 (28.6)	30 (31.9)	32 (43.2)	11 (20.7)
Arterial hypertension, n (%)	0	3 (4.3)	9 (12.8)	5 (5.3)	11 (14.9)	10 (18.9)
Current use of antihypertensive	0	1 (1.4)	5 (7.1)	3 (3.2)	10 (13.5)	5 (9.4)
Current use of antidepressants	2 (2.2)	4 (5.8)	0	7 (7.4)	4 (5.4)	2 (3.8)
Current use of calcium supplementation	0	0	0	2 (2.1)	4 (5.4)	15 (28.3)
Current use of vitamin D supplementation	0	0	0	0	4 (5.4)	8 (15.1)
Current use of contraceptive	54 (60.0)	32 (46.4)	3 (4.2)	0	0	0
Hormone replacement (previous or current)	0	0	5 (7.1)	6 (6.4)	17 (23.0)	9 (16.9)

Data are shown mean ± SD or number (percentage).

BMI: body mass index; OP: osteoporosis; Hypertension.

Table 2. Multiple linear regression analysis of the volumetric bone density, bone structure, cortical porosity and finite element parameters obtained by High Resolution peripheral Quantitative Computed Tomography at distal radius of 450 healthy women from 20 to 85 years old

Variable (Y)	A	B1	B2	B3	B4	R ²
Density Parameters						
Tt.BMD, mg HA/cm ³	801.07	-1.993	0.711	-282.96	-	0.187
Tb.BMD, mg HA/cm ³	258.65	-0.890	0.622	-62.45	-	0.153
Ct.BMD, mg HA/cm ³	1353.30	-2.350	0.645	-268.62	-	0.180
Structural Parameters						
Tb.N, 1/mm	1.89	-0.005	0.005	-	-	0.114
Tb.Th, mm	0.074	-0.000130	-	-	-	0.037
Tb.Sp, mm	0.471	0.002	-0.002	-	-	0.123
Tb.1/N.SD, mm	0.178	0.002	-0.001	-	-	0.126
Ct.Th, mm	1.90	-0.005	0.002	-0.724	-	0.132
Cortical Porosity						
Ct.Po, (%)	-0.034	-	-	0.026	0.00000427	0.407
Ct.Po.Dm, mM	0.141	0.000292	-	-	-	0.130
Biomechanical Properties						
S, N/mm	46930.52	540.40	311.56	-	-8.609	0.209
F.ult, N	2244.22	25.35	15.26	-	-0.407	0.222
Tb.VM, N/mm ²	69.81	-0.092	-	-11.19	-	0.048
C.VM, N/mm ²	99.39	-0.088	-	-9.61	-	0.084

$Y = A + B1 \text{ (age)} + B2 \text{ (weight)} + B3 \text{ (height)} + B4 \text{ (age}^2\text{)}$.

Y is the variable measured by HR-pQCT at distal radius and the predicted values are the result of this equation. R²: coefficient of determination.

Tt.BMD: total bone mineral density; Tb.BMD: trabecular bone mineral density; Ct.BMD: cortical bone mineral density; Tb.N: number of trabeculae; Tb.Th: trabecular thickness; Tb.Sp: trabecular separation; Tb.1 / N.SD: inhomogeneity of network; Ct.Th: cortical thickness; Ct.Po: cortical porosity; Ct.Po.Dm: mean cortical pore diameter; S: stiffness; F.ult: estimated failure load; Tb.VM: trabecular stress; C.VM: cortical stress.

Table 3. Volumetric bone density, bone structure, cortical porosity and finite element parameters obtained by High Resolution peripheral Quantitative Computed Tomography at distal radius of 450 healthy women from 20 to 85 years old, expressed as median and interquartile interval

Variable	20-29 (n=90)	30-39 (n=69)	40-49 (n=70)	50-59 (n=94)	60-69 (n=74)	≥70 (n=53)
	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)
Density Parameters						
Tt.BMD, mg HA/cm ³	331 (279; 370)	348 (285; 380)	327 (282; 359)	299 (275; 359)	285 (236; 317)	268 (254; 298)
Tb.BMD, mg HA/cm ³	171 (155; 193)	172 (143; 188)	163 (143; 199)	152 (123; 167)	142 (127; 163)	137 (115; 158)
Ct.BMD, mg HA/cm ³	900 (859; 934)	923 (868; 948)	909 (857; 930)	880 (857; 924)	832 (796; 880)	832 (775; 879)
Structural Parameters						
Tb.N, 1/mm	2.02 (1.92; 2.17)	2.02 (1.83; 2.15)	2.02 (1.90; 2.18)	2.01 (1.75; 2.15)	1.88 (1.65; 2.05)	1.85 (1.67; 2.02)
Tb.Th, mm	0.069 (0.064; 0.075)	0.068 (0.062; 0.077)	0.069 (0.063; 0.077)	0.064 (0.059; 0.069)	0.061 (0.056; 0.068)	0.061 (0.055; 0.068)
Tb.Sp, mm	0.423 (0.387; 0.454)	0.428 (0.388; 0.469)	0.417 (0.387; 0.469)	0.442 (0.404; 0.515)	0.474 (0.421; 0.540)	0.478 (0.432; 0.533)
Tb.l/N.SD, mm	0.168 (0.150; 0.189)	0.171 (0.159; 0.194)	0.178 (0.154; 0.199)	0.191 (0.161; 0.238)	0.214 (0.169; 0.272)	0.215 (0.180; 0.250)
Ct.Th, mm	0.72 (0.63; 0.86)	0.80 (0.65; 0.90)	0.77 (0.65; 0.92)	0.69 (0.62; 0.82)	0.67 (0.56; 0.75)	0.60 (0.52; 0.71)
Cortical Porosity						
Ct.Po, (%)	0.009 (0.006; 0.013)	0.012 (0.008; 0.015)	0.013 (0.010; 0.017)	0.016 (0.013; 0.024)	0.025 (0.022; 0.029)	0.027 (0.022; 0.034)
Ct.Po.Dm, mM	0.145 (0.139; 0.152)	0.152 (0.147; 0.170)	0.152 (0.146; 0.161)	0.152 (0.147; 0.163)	0.157 (0.150; 0.168)	0.162 (0.152; 0.168)
Biomechanical Properties						
S, N/mm	72451 (63737; 78829)	77241 (71495; 89016)	79613 (67210; 85072)	71208 (65847; 79342)	66165 (58199; 75183)	61890 (55060; 68999)
F.ult, N	3457 (3072; 3821)	3696 (3435; 4313)	3777 (3261; 4075)	3413 (3204; 3838)	3199 (2782; 3608)	2940 (2691; 3375)
Tb.VM, N/mm ²	49.64 (46.01; 53.71)	48.81 (44.97; 54.05)	48.77 (43.29; 53.86)	46.31 (42.41; 49.43)	44.85 (43.12; 50.74)	45.98 (43.31; 49.98)
C.VM, N/mm ²	82.44 (80.44; 84.09)	83.11 (81.55; 84.73)	82.29 (79.44; 83.22)	81.10 (79.89; 82.79)	81.06 (79.44; 82.47)	80.78 (78.33; 83.54)

Data are shown as median (IQR: interquartile interval).

Tt.BMD: total bone mineral density; Tb.BMD: trabecular bone mineral density; Ct.BMD: cortical bone mineral density; Tb.N: number of trabeculae; Tb.Th: trabecular thickness; Tb.Sp: trabecular separation; Tb.l / N.SD: inhomogeneity of network; Ct.Th: cortical thickness; Ct.Po: cortical porosity; Ct.Po.Dm: mean cortical pore diameter; S: stiffness; F.ult: estimated failure load; Tb.VM: trabecular stress; C.VM: cortical stress.

Table 4. Pearson correlation between stiffness parameter and volumetric bone density, bone structure, cortical porosity and finite element parameters variables obtained by distal radius HR-pQCT scan of the 450 healthy women

Variable	Stiffness Correlation (r)	<i>p</i>
Tt.BMD, mg HA/cm ³	0.638	< 0.001
Tb.BMD, mg HA/cm ³	0.644	< 0.001
Ct.BMD, mg HA/cm ³	0.521	< 0.001
Tb.N, 1/mm	0.245	< 0.001
Tb.Th, mm	0.616	< 0.001
Tb.Sp, mm	-0.312	< 0.001
Ct.Th, mm	0.619	< 0.001
Ct.Po, (%)	-0.162	0.015
Ct.Po.Dm, mM	0.140	0.036
F.ult, N	0.995	< 0.001
Tb.VM, N/mm ²	0.593	< 0.001
C.VM, N/mm ²	0.311	< 0.001

Tt.BMD: total bone mineral density; Tb.BMD: trabecular bone mineral density; Ct.BMD: cortical bone mineral density; Tb.N: number of trabeculae; Tb.Th: trabecular thickness; Tb.Sp: trabecular separation; Ct.Th: cortical thickness; Ct.Po: cortical porosity; Ct.Po.Dm: mean cortical pore diameter; F.ult: estimated failure load; Tb.VM: trabecular stress; C.VM: cortical stress.

Table 5. Multiple linear regression analysis of the volumetric bone density, bone structure, cortical porosity and finite element parameters obtained by High Resolution peripheral Quantitative Computed Tomography at distal tibia of 450 healthy women from 20 to 85 years old

Variable (Y)	A	B1	B2	B3	B4	R ²
Density Parameters						
Tt.BMD, mg HA/cm ³	905.58	-2.07	0.694	-353.41	-	0.304
Tb.BMD, mg HA/cm ³	151.82	-0.585	0.445	-	-	0.085
Ct.BMD, mg HA/cm ³	1304.59	3.224	0.407	-262.43	-0.065	0.562
Structural Parameters						
Tb.N, 1/mm	1.52	-0.006	0.007	-	-	0.124
Tb.Th, mm	0.076	-	-	-	-	0.963
Tb.Sp, mm	0.613	0.002	-0.003	-	-	0.129
Tb.1/N.SD, mm	0.290	0.002	-0.002	-	-	0.112
Ct.Th, mm	3.61	-	0.003	-1.572	-0.00008790	0.315
Cortical Porosity						
Ct.Po, (%)	0.014	-	-	-	0.00001187	0.616
Ct.Po.Dm, mM	0.182	0.000468	-0.000321	-	-	0.154
Biomechanical Properties						
S, N/mm	147171.16	-650.52	1111.60	-	-	0.198
F.ult, N	2958.17	-26.21	45.33	2740.91	-	0.230
Tb.VM, N/mm ²	55.43	-	-	-	-	0.985
C.VM, N/mm ²	102.79	0.093	-	-9.64	-0.002	0.239

$Y = A + B1 \text{ (age)} + B2 \text{ (weight)} + B3 \text{ (height)} + B4 \text{ (age}^2\text{)}$.

Y is the variable measured by HR-pQCT at distal radius and the predicted values are the result of this equation. R²: coefficient of determination.

Tt.BMD: total bone mineral density; Tb.BMD: trabecular bone mineral density; Ct.BMD: cortical bone mineral density; Tb.N: number of trabeculae; Tb.Th: trabecular thickness; Tb.Sp: trabecular separation; Tb.1 / N.SD: inhomogeneity of network; Ct.Th: cortical thickness; Ct.Po: cortical porosity; Ct.Po.Dm: mean cortical pore diameter; S: stiffness; F.ult: estimated failure load; Tb.VM: trabecular stress; C.VM: cortical stress.

Table 6. Volumetric bone density, bone structure, cortical porosity and finite element parameters obtained by High Resolution peripheral Quantitative Computed Tomography at distal tibia of 450 healthy women from 20 to 85 years old, expressed as median and interquartile interval

Variable	20-29 (n=90)	30-39 (n=69)	40-49 (n=70)	50-59 (n=94)	60-69 (n=74)	≥70 (n=53)
	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)
Density Parameters						
Tt.BMD, mg HA/cm ³	324 (309; 365)	308 (277; 339)	293 (267; 343)	279 (255; 306)	276 (238; 304)	257 (229; 288)
Tb.BMD, mg HA/cm ³	168 (152; 194)	152 (129; 180)	145 (125; 172)	133 (121; 158)	137 (117; 158)	136 (119; 170)
Ct.BMD, mg HA/cm ³	945 (924; 968)	948 (928; 968)	942 (914; 971)	904 (877; 939)	853 (823; 884)	845 (800; 873)
Structural Parameters						
Tb.N, 1/mm	1.84 (1.61; 2.03)	1.71 (1.50; 1.92)	1.68 (1.47; 1.82)	1.63 (1.50; 1.80)	1.60 (1.37; 1.78)	1.57 (1.28; 1.87)
Tb.Th, mm	0.077 (0.072; 0.088)	0.074 (0.062; 0.084)	0.075 (0.067; 0.083)	0.076 (0.068; 0.085)	0.073 (0.062; 0.085)	0.080 (0.072; 0.087)
Tb.Sp, mm	0.466 (0.416; 0.527)	0.510 (0.444; 0.588)	0.525 (0.472; 0.603)	0.537 (0.493; 0.604)	0.539 (0.475; 0.630)	0.561 (0.470; 0.693)
Tb.l/N.SD, mm	0.204 (0.183; 0.249)	0.220 (0.203; 0.271)	0.256 (0.217; 0.292)	0.264 (0.227; 0.307)	0.260 (0.261; 0.308)	0.281 (0.218; 0.381)
Ct.Th, mm	1.21 (1.14; 1.34)	1.21 (1.11; 1.29)	1.21 (1.06; 1.29)	1.09 (1.01; 1.18)	1.05 (0.88; 1.17)	0.97 (0.78; 1.18)
Cortical Porosity						
Ct.Po, (%)	0.022 (0.016; 0.028)	0.027 (0.017; 0.031)	0.028 (0.022; 0.035)	0.045 (0.031; 0.059)	0.071 (0.054; 0.081)	0.075 (0.059; 0.092)
Ct.Po.Dm, mM	0.167 (0.156; 0.181)	0.179 (0.164; 0.203)	0.180 (0.166; 0.197)	0.182 (0.168; 0.203)	0.180 (0.173; 0.193)	0.200 (0.180; 0.207)
Biomechanical Properties						
S, N/mm	195592 (180167; 217142)	200399 (186273; 217938)	200582 (178142; 216003)	181601 (169680; 197037)	186287 (163453; 196383)	166797 (155229; 187400)
F.ult, N	9238 (8543; 10233)	9610 (9046; 10336)	9515 (8576; 10372)	8699 (8088; 9448)	8829 (7859; 9328)	7938 (7426; 8749)
Tb.VM, N/mm ²	56.87 (53.95; 61.82)	55.04 (49.94; 61.23)	55.88 (50.93; 59.86)	54.53 (48.26; 58.06)	55.50 (49.28; 62.26)	58.96 (53.25; 61.24)
C.VM, N/mm ²	88.70 (88.00; 90.00)	88.75 (87.76; 89.86)	88.60 (87.75; 89.51)	87.95 (86.99; 88.93)	87.49 (86.64; 88.75)	86.68 (85.86; 87.27)

Data are shown as median (IQR: interquartile interval).

Tt.BMD: total bone mineral density; Tb.BMD: trabecular bone mineral density; Ct.BMD: cortical bone mineral density; Tb.N: number of trabeculae; Tb.Th: trabecular thickness; Tb.Sp: trabecular separation; Tb.l / N.SD: inhomogeneity of network; Ct.Th: cortical thickness; Ct.Po: cortical porosity; Ct.Po.Dm: mean cortical pore diameter; S: stiffness; F.ult: estimated failure load; Tb.VM: trabecular stress; C.VM: cortical stress.

Table 7. Pearson correlation between stiffness parameter and volumetric bone density, bone structure, cortical porosity and finite element parameters variables obtained by distal tibia HR-pQCT scan of the 450 healthy women

Variable	Stiffness Correlation (r)	<i>p</i>
Tt.BMD, mg HA/cm ³	0.454	< 0.001
Tb.BMD, mg HA/cm ³	0.571	< 0.001
Ct.BMD, mg HA/cm ³	0.316	< 0.001
Tb.N, 1/mm	0.298	< 0.001
Tb.Th, mm	0.355	< 0.001
Tb.Sp, mm	-0.354	< 0.001
Ct.Th, mm	0.392	< 0.001
Ct.Po, (%)	-0.273	< 0.001
Ct.Po.Dm, mM	0.069	0.305
F.ult, N	0.955	< 0.001
Tb.VM, N/mm ²	0.461	< 0.001
C.VM, N/mm ²	0.381	< 0.001

Tt.BMD: total bone mineral density; Tb.BMD: trabecular bone mineral density; Ct.BMD: cortical bone mineral density; Tb.N: number of trabeculae; Tb.Th: trabecular thickness; Tb.Sp: trabecular separation; Ct.Th: cortical thickness; Ct.Po: cortical porosity; Ct.Po.Dm: mean cortical pore diameter; F.ult: estimated failure load; Tb.VM: trabecular stress; C.VM: cortical stress.

Fig. 1. 3D images of the distal radius and tibia for each age group

Fig. 2. Normality curves depending on the age of a volumetric bone mineral density parameters, being (A) total bone mineral density (Tt.BMD), (B) trabecular bone mineral density (Tb.BMD), (C) cortical bone mineral density (Ct.BMD) obtained by HR-pQCT radius region (left) and tibia (right) in healthy women distributed by age groups. The solid line represents the mean from the regression model, and the dashed lines represent the confidence interval of 95% prevision

Fig. 3. Normality curves depending on the age of a bone structure parameters, being (A) number of trabeculae (Tb.N), (B) trabecular thickness (Tb.Th), (C) trabecular separation (Tb.Sp), (D) inhomogeneity of network (Tb.1 / N.SD), (E) cortical thickness (Ct.Th) obtained by HR-pQCT in the radius region (left) and tibia (right) in healthy women distributed by tracks age. The solid line represents the mean from the regression model, and the dashed lines represent the confidence interval of 95% prevision

Fig. 4. Normality curves depending on the age of a cortical porosity and finite element parameters, being (A) cortical porosity (Ct.Po), (B) mean cortical pore diameter (Ct.Po.Dm), (C) stiffness (S), (D) estimated failure load (F.ult), (E) trabecular stress (Tb.VM), (F) cortical stress (C.VM) obtained by HR-pQCT in the radius region (left) and tibia (right) in healthy women distributed by age groups. The solid line represents the mean from the regression model, and the dashed lines represent the confidence interval of 95% prevision