CARACTERIZAÇÃO DE TECIDO ÓSSEO POR ULTRA-SOM PARA O DIAGNÓSTICO DE OSTEOPOROSE

José Marcos Alves

Tese apresentada ao *Instituto de Física de São Carlos*, da *Universidade de São Paulo*, para a obtenção do título de doutor em Ciências (Área de Física Aplicada)

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Pereira

São Carlos - SP
1996

A474c Alves, José Marcos
Caracterização de tecido ósseo por ultra-som
para o diagnóstico de osteoporose / José Marcos
Alves. -- São Carlos, 1996.

117 p.

Tese (Doutorado). -- Instituto de Física de São
Carlos-Universidade de São Paulo, 1996.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Pereira.

1. Osteoporose. 2. Ultra-som. 3. Densitometria
óssea. I. Título

MEMBROS DA COMISSÃO JULGADORA DA TESE DE DOUTORADO DE **JOSÉ
MARCOS ALVES** APRESENTADA AO INSTITUTO DE FÍSICA DE SÃO CARLOS,
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, EM 02/08/1996.

COMISSÃO JULGADORA:

Prof. Dr. José Carlos Pereira/EESC-USP

Prof. Dr. José Fernando Fontanari/IFSC-USP

Prof. Dr. Jan Frans Willem Slaets/IFSC-USP

Prof. Dr. Gottfried Koberle/UNICAMP

Prof. Dr. Alberto Cliquet Júnior/UNICAMP

À *Priscila*, minha esposa, e à
Mayna e Alessa, nossas filhas
(Finally now we can play more).

Aos meus pais, *Deolinda e José*,
pelo investimento na minha
educação.

Agradecimentos

À minha esposa, *Priscila*, e às nossas filhas, *Mayna e Alessa*, pelo estímulo durante a realização deste trabalho.

Ao *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico*, Brasília, Brasil, pelo financiamento da minha bolsa (Programa de Doutorado Sanduíche) para realização do trabalho experimental desta tese na empresa *OrthoLogic Corp*, Phoenix, AZ, EUA, e no *Department of Orthopaedics, The Mount Sinai Medical Center*, New York, NY.

Ao *Prof. Dr. José Carlos Pereira* do Departamento de Engenharia Elétrica da EESC-USP pela amizade, apoio na realização do trabalho e orientação sobre processamento de sinais.

Ao *Dr. Jonathan J. Kaufman*, assistant professor do *Department of Orthopaedics, The Mount Sinai Medical Center*, New York, NY, e presidente da *CyberLogic Inc*, New York, NY, cuja patente inspirou o tema desta tese, pela amizade, orientação científica e imenso aprendizado.

Ao *Dr. James T. Ryaby*, diretor científico da *OrthoLogic Corp*, pela amizade e por toda a infraestrutura para a realização do trabalho. A sua dedicação ao trabalho científico será sempre uma fonte de inspiração.

Aos *docentes do Departamento de Engenharia de Materias da EESC-USP* por apoiarem o meu estágio no exterior para a realização do trabalho experimental desta tese. Agradeço especialmente aos *Prof. Dr. Luiz Carlos Casteletti* e ao *Prof. Dr. Luiz Romariz Duarte*, por se responsabilizarem pelas minhas disciplinas de graduação durante a minha permanência no exterior, e ao *Prof. Dr. Waldek Wladimir Bose Filho* que facilitou a redação desta tese ao colaborar na minha disciplina de graduação no 1º semestre de 1996.

Ao presidente da *OrthoLogic Corp*, *Dr. Allen Weinstein*, e ao vice-presidente, *Dr. Frank Magee*, e a todos os colegas funcionários desta empresa, pela infraestrutura na realização do meu trabalho, pela amizade e atenção, e pelo imenso aprendizado em ambiente altamente profissional nesta promissora empresa de desenvolvimento de alta tecnologia dedicada à ortopedia.

À *família Ryaby* (Jim, Debbie, John Peter e Eloise) e à *família Kaufman* (Jonathan, Mrs. Flora, Eddy, ...) pelo carinho e atenção à família Alves.

À *Tom Murray* e a *Ron Yapp*, sócios fundadores da *Bioquest Inc*, Phoenix, AZ, pela amizade e confecção dos dispositivos de medidas ultra-sônicas.

Ao *Dr. Vicent Pizzacconi*, da *Arizona State University*, por permitir o uso da biblioteca daquela conceituada Universidade.

Ao ***Prof. Dr. Woodrow Lopes Romas***, chefe do Departamento de Hidráulica e Saneamento da EESC-USP, por autorizar o uso da infraestrutura computacional daquele Departamento para o processamento de dados desta tese.

À todos os *colegas do “Programa Interunidades de Pós-Graduação em Bioengenharia (EESC/FMRP/IQSC/ICMSC-USP)”* pelo incentivo na realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Pág.
Lista de Figuras	iv
Lista de Tabelas	viii
Resumo	x
Abstract	xi
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 O Tecido Ósseo	1
1.2 Relevância do Diagnóstico da Osteoporose	3
1.3 A Densidade Mineral Óssea e a Ocorrência de Fraturas	4
1.4 A Correlação entre Densidade Mineral Óssea e outros Parâmetros Clínicos	7
1.5 A Indicação Clínica da Medida da Densidade Mineral Óssea	7
1.6 Seleção do Sítio do Esqueleto para Previsão do Risco de Fratura Através da Medida da BMD	8
2. CONCEITOS BÁSICOS	10
2.1 Densitometria Óssea	10
2.1.1 Densitometria de Um Fóton	11
2.1.2 Densitometria de Dois Fótons	15
2.2 Redes Neurais	19
2.2.1 Introdução	19
2.2.2 Como uma Rede Neural Maximiza o seu Desempenho	24
2.2.3 Algoritmo de Widrow-Hoff	26
2.2.4 Algoritmo de Backpropagation	27
2.3 Caracterização de Tecido Ósseo por Ultra-Som	30
2.3.1 Introdução	30
2.3.2 Medida da Atenuação em Tecido Ósseo no Domínio da Frequência (Modo de Transmissão)	32
2.3.3 Medida da Velocidade em Tecido Ósseo no Domínio do Tempo (Modo de Transmissão)	34
2.3.4 Frequência Instantânea de um Sinal	37
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: CARACTERIZAÇÃO DE TECIDO ÓSSEO POR ULTRA-SOM PARA O DIAGNÓSTICO DE OSTEOPOROSE	39

	Pág.
4. RESULTADOS EXPERIMENTAIS	47
4.1 Estudo In-Vitro I com Osso Bovino e Humano	47
4.1.1 Preparo das amostras ósseas	47
4.1.2 Densitometria Óssea	48
4.1.3 Medidas Ultra-Sônicas	48
4.1.4 Análise de Correlação e Estatística	54
4.1.5 Resultados	54
4.2 Estudo In-Vitro II com Osso Bovino	61
4.2.1 Preparo das amostras ósseas	61
4.2.2 Densitometria Óssea	61
4.2.3 Medidas Ultra-Sônicas	62
4.2.4 Análise de Correlação e Estatística	62
4.2.5 Resultados	62
4.3 Estudo In-Vitro III com Osso Humano	68
4.3.1 Preparo das amostras ósseas	68
4.3.2 Densitometria Óssea	69
4.3.3 Medidas Ultra-Sônicas	69
4.3.4 Análise de Correlação e Estatística	70
4.3.5 Processamento por Redes Neurais	70
4.3.6 Resultados	74
4.4 Estudo In-Vitro IV com Osso Humano	77
4.4.1 Metodologia	77
4.4.2 Resultados	77
4.5 Estudo Clínico	79
4.5.1 Escolha dos Pacientes	79
4.5.2 Densitometria Óssea	79
4.5.3 Medidas Ultra-Sônicas	79
4.5.4 Análise de Correlação e Estatística	80
4.5.5 Processamento por Redes Neurais	80
4.5.6 Resultados	83
5. DISCUSSÃO	85
6. CONCLUSÃO	90
7. ANEXO	
Tabela 4.1 - Densidade das amostras humanas (vértebra lombar)	92
Tabela 4.3 - Densidade das amostras ósseas bovinas (côndilo femural)	92
Tabela 4.9 - Medidas ultra-sônicas e densitométricas em amostras ósseas de calcâneo	93
Exemplo de Medidas Densitométrica por DEXA em pacientes	96
Tabela 4.15 - Medidas ultra-sônicas e densitométricas no calcânhar	102

8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	107
9.	APÊNDICE	

Lista de Figuras

	Pág.
Fig. 1.1 - A composição do tecido ósseo	1
Fig. 1.2 - Estrutura do osso trabecular	2
Fig. 1.3 - Estrutura do Osso Cortical	3
Fig. 1.4 - BMD em vértebras lombares em função da idade em 105 mulheres normais	5
Fig. 1.5 - Relação entre BMD medida no rádio e risco de fratura	6
Fig. 1.6 - Porcentagem de osso trabecular em alguns sítios anatômicos	8
Fig. 2.1 - Componentes de um sistema de densitometria por SPA/SXA	12
Fig. 2.2 - Densitometro SPA	12
Fig. 2.3 - Princípio de operação da densitometria SPA/SXA	13
Fig. 2.4 - Região volumétrica de tecido ósseo sob densitometria	15
Fig. 2.5 - Densitômetro DEXA	16
Fig. 2.6 - Princípio de operação da densitometria DPA/DEXA	17
Fig. 2.7 - Rede com um neurônio e uma variável de entrada (com e sem polarização)	20
Fig. 2.8 - Funções de transferência e seus símbolos	22
Fig. 2.9 - Rede com um neurônio e múltiplas variáveis de entrada	23
Fig. 2.10 - Rede neural com uma camada e múltiplas variáveis de entrada	24
Fig. 2.11 - Rede neural com múltiplas camadas e múltiplas variáveis de entrada	25
Fig. 2.12 - Rede neural com R variáveis de entrada e Q vetores de entrada (batching)	26

	Pág.
Fig. 2.13 - Técnicas experimentais de caracterização de tecido ósseo por ultra-som	30
Fig.2.14 - Exemplo de cálculo da atenuação a partir dos espectros dos sinais recebidos	35
Fig. 2.15 - Técnica de contato para caracterização de tecido por ósseo por ultra-som	34
Fig. 2.16 - Sinal recebido no domínio do tempo (a) e envelope do sinal recebido (b)	38
Fig. 2.17 - Exemplo de cálculo da média da frequência instantânea de um sinal	40
Fig. 4.1 - Sítio anatômico bovino de retirada das amostras	49
Fig. 4.2 - Etapas de obtenção da amostra de osso trabecular bovino	49
Fig. 4.3 - Etapa final de obtenção da amostra óssea com serra circular	50
Fig. 4.4 - Amostras ósseas trabeculares bovinas sem medula óssea em solução salina	50
Fig. 4.5 - Esquematisação da técnica de medida da BMD das amostras ósseas	51
Fig. 4.6 - Desenho esquemático da vista lateral do dispositivo de medidas ultra-sônicas	52
Fig. 4.7 - Desenho esquemático da vista superior do dispositivo de medidas ultra-sônicas	52
Fig. 4.8 - Desenho esquemático da placa plug-in do gerador de pulso	53
Fig. 4.9 - Desenho esquemático da placa plug-in do osciloscópio digital	53
Fig. 4.10 - Sistema portátil de medidas ultra-sônicas	54
Fig. 4.11 - Sinais recebidos no domínio do tempo e da frequência (amostras ósseas humanas)	57

Fig. 4.12 - Sinais recebidos no domínio do tempo e da frequência (amostras ósseas bovinas)	58
Fig. 4.13 - Correlação entre BD e velocidade em vértebras humanas (transdutor 500KHz/0.75" - 300KHz-700KHz)	59
Fig. 4.14 - Correlação entre BD e DSA em vértebras humanas (transdutor 500KHz/0.75" - 300KHz-700KHz)	59
Fig. 4.15 - Correlação entre BD e velocidade em vértebras humanas (transdutor 1MHz/0.75" - 0.8MHz-1.2MHz)	59
Fig. 4.16 - Correlação entre BD e DSA em vértebras humanas (transdutor 1MHz/0.75" - 0.8MHz-1.2MHz)	59
Fig. 4.17 - Correlação entre BD e velocidade em côndilo femoral bovino (transdutor 500KHz/0.75" - 300KHz-700KHz)	60
Fig. 4.18 - Correlação entre BD e DSA em côndilo femoral bovino (transdutor 500KHz/0.75" - 300KHz-700KHz)	60
Fig. 4.19 - Correlação entre BD e velocidade em côndilo femoral bovino (transdutor 1MHz/0.75" - 0.8MHz-1.2MHz)	60
Fig. 4.20 - Correlação entre BD e DSA em côndilo femoral bovino (transdutor 1MHz/0.75" - 0.8MHz-1.2MHz)	60
Fig. 4.21 - Desenho esquemático da vista lateral do dispositivo de medidas ultra-sônicas (técnica de contato)	64
Fig. 4.22 - Desenho esquemático da vista superior do dispositivo de medidas ultra-sônicas (técnica de contato)	64
Fig. 4.23 - Dispositivo desmontado de medidas ultra-sônicas para a técnica de contato	65
Fig. 4.24 - Dispositivo montado de medidas ultra-sônicas para a técnica de contato	65
Fig. 4.25 - Velocidade (com e sem medula óssea) (Transdutor 500KHz/0.75" - 300KHz-700KHz)	66
Fig. 4.26 - Atenuação (com e sem medula óssea) (Transdutor 500KHz/0.75" - 300KHz-700KHz)	66
Fig. 4.27 - Velocidade (com e sem medula óssea) (Transdutor 1MHz/0.75" - 800KHz-1.2MHz)	66

Fig. 4.28 - Atenuação (com e sem medula óssea) (Transdutor 500KHz - 300KHz-700KHz)	66
Fig. 4.29 - Velocidade (técnica convencional versus técnica de contato) (Transdutor 500KHz/0.75" - 300KHz-700KHz)	67
Fig. 4.30 - Atenuação (técnica convencional versus técnica de contato /Transdutor 500KHz/0.75" - 300KHz-700KHz)	67
Fig. 4.31 - Velocidade (técnica convencional versus técnica de contato / Transdutor 1MHz/0.75" - 800KHz-1.2MHz)	67
Fig. 4.32 - Atenuação (técnica convencional versus técnica de contato /Transdutor 1MHz/0.75" - 800KHz-1.2MHz)	67
Fig. 4.33 - Radiografia de alta resolução de calcâneo	69
Fig. 4.34 - Retirada de amostra de calcâneo sob irrigação	72
Fig. 4.35 - Amostra óssea retirada de calcâneo	72
Fig. 4.36 - Densitometria óssea por SPA de uma amostra de calcâneo	73
Fig. 4.37 - Desenho esquemático do dispositivo de medidas ultra-sônicas	73
Fig. 4.38 - Tanque acústico para medidas ultra-sônicas em amostras de calcâneo	74
Fig. 4.39 - Correlação entre BUA e média da frequência instantânea	76
Fig. 4.40 - Correlação entre SDA e média da frequência instantânea	76
Fig. 4.41 - Dispositivo para retenção das amostras ósseas de calcâneo	78
Fig. 4.42 - Dispositivo clínico de medidas ultra-sônicas pela técnica de contato	82
Fig.4.43 - Medidas ultra-sônicas em calcanhar pela técnica de contato	82
Fig. 4.44 - Sistema clínico portátil de medidas ultra-sônicas	83

Lista de Tabelas

	Pág.
Tabela 2.1 - Técnicas para determinação <i>in-vivo</i> não-evasiva do conteúdo mineral ósseo	10
Tabela 2.2 - Comparação das Técnicas de Densitometria por Absorção de Fótons	11
Tabela 2.3 - Equações das funções de transferência de redes neurais	22
Tabela 2.4 - Níveis de referência para cálculo da velocidade de grupo	36
Tabela 3.1 - Reprodutibilidade de medidas ultra-sônicas	43
Tabela 3.2 - Correlação entre medidas ultra-sônicas no calcânhar e BMD medida por DEXA em diversos sítios anatômicos	44
Tabela 3.3 - Correlação entre medidas ultra-sônicas no calcânhar e BMD medida por QCT, DPA e SPA em diversos sítios anatômicos	45
Tabela 4.2 - Erro médio absoluto percentual para regressão univariável e multivariável (amostras ósseas de vértebra lombar)	55
Tabela 4.4 - Erro médio absoluto percentual para regressão univariável e multivariável (amostras ósseas de côndilo femoral bovino)	56
Tabela 4.6 - Influência da Medula Óssea na Atenuação e Velocidade	62
Tabela 4.7 - Comparação entre a Técnica de Inserção Convencional e de Contato	63
Tabela 4.8 - Regressão entre Medidas Ultra-Sônicas e Densidade Óssea	63
Tabela 4.10 - Regressão univariável entre medidas ultra-sônicas no calcâneo e BMD ou BD	74
Tabela 4.11 - Erro médio absoluto percentual na determinação da BMD do calcâneo (correlação linear univariável e multivariável)	75
Tabela 4.12 - Erro médio absoluto percentual na determinação da BMD do calcâneo (redes neurais)	75
Tabela 4.13 - Correlação entre medidas ultra-sônicas e densidade mineral óssea (com e sem cortical óssea)	77

Tabela 4.14 - Correlação entre medidas ultra-sônicas (com e sem cortical óssea)	77
Tabela 4.16 - Correlação univariável entre medidas ultra-sônicas no calcânhar e BMD no cólo fêmoral	83
Tabela 4.17 - Erro médio absoluto percentual na determinação da BMD da cólo femoral (regressão linear univariável e multivariável)	84
Tabela 4.18 - Erro médio absoluto percentual na determinação da BMD do cólo femoral (redes neurais)	84

Resumo

A caracterização de tecido ósseo por ultra-som para o diagnóstico de osteoporose tem sido investigada como uma alternativa a densitometria óssea baseada em radiação ionizante. A interação do ultra-som com o tecido ósseo é fundamentalmente diferente da que ocorre com a energia ionizante. O potencial da técnica ultra-sônica baseia-se nos efeitos sobre a propagação do campo acústico causados pela estrutura, composição e massa do tecido que está sendo investigado.

Quatro estudos in-vitro e um estudo clínico estão descritos neste trabalho. O primeiro estudo in-vitro compara a correlação entre medidas ultra-sônicas e de densidade mineral óssea (em g/cm^3) em tecido trabecular humano e bovino. A velocidade e atenuação ultra-sônicas em amostras ósseas foram determinadas pela técnica de inserção convencional (modo de transmissão) e a medida de densidade mineral óssea foi realizada por absorptometria de um fóton (SPA).

O mecanismo de interação do ultra-som com osso trabecular é pouco conhecido. O segundo estudo in-vitro investigou como a presença da medula óssea afeta as medidas de velocidade e atenuação. As correlações entre medidas ultra-sônicas e de densidade mineral óssea (em g/cm^3) por SPA, com e sem a presença da medula óssea, são também determinadas. A medida ultra-sônica de inserção convencional é comparada à medida de inserção por contato.

O terceiro estudo in-vitro investigou em amostras de calcâneo as correlações entre medidas ultra-sônicas e de densidade mineral óssea (em g/cm^3 e em g/cm^2) por SPA. A determinação da densidade mineral óssea em g/cm^2 (BMD) a partir de medidas ultra-sônicas nas amostras foi pela primeira vez investigada, utilizando-se uma técnica de regressão linear univariável e multivariável e uma técnica multivariável não-linear baseada em redes neurais. Um novo parâmetro, baseado na média da frequência instantânea (MIF) do sinal da amostra e de referência, foi proposto para caracterizar o tecido ósseo devido a sua alta correlação com a atenuação.

O efeito das corticais ósseas do calcâneo nas medidas ultra-sônicas é pouco conhecido. O quarto estudo in-vitro determinou a correlação entre medidas ultra-sônicas e de densidade mineral óssea (em g/cm^3) por SPA, com e sem a presença das corticais ósseas.

Finalmente, no estudo clínico foram determinadas as correlações entre medidas ultra-sônicas no calcânhar e de densidade mineral óssea por DEXA (em g/cm^2) no cólo femoral. A determinação da densidade óssea a partir de medidas ultra-sônicas no calcânhar foi pela primeira vez investigada, utilizando-se uma técnica de regressão linear univariável e multivariável e uma técnica multivariável não-linear baseada em redes neurais.

Abstract

Ultrasonic assessment of bone for managing osteoporosis has been investigated as an alternative to radiation-based bone densitometry technology. In contrast with the ionizing electromagnetic radiation of such clinical bone densitometric technique, ultrasound is a mechanical wave and thus interacts with bone in a fundamentally distinct manner. Ultrasound is viewed as having great potential for assessing bone since its propagation is affected by the structure, composition, and mass of the bone tissue being interrogated.

Four in-vitro and one clinical studies are reported in this work. In the first in-vitro study a comparison is reported on the ultrasonic assessment of human trabecular and bovine trabecular bone samples. Both ultrasonic velocity and attenuation were evaluated through a standard transmission insertion technique and correlated with bone mineral density (in g/cm^3) as determined with single photon absorptiometry (SPA).

There is a relatively limited understanding of how ultrasound interacts with cancellous bone. One potentially model leads analytically to the demonstration that ultrasound propagation through bone is dependent on several factors, including the properties of the fluid which saturates the pores of the cancellous bone tissue. The second in-vitro study was carried out to assess how the presence of marrow affects the velocity and attenuation measurements. The correlation between ultrasonic and densitometric measurements (in g/cm^3) by SPA, with and without the bone marrow, are also determined. A second part of this study compared the measurements of ultrasonic attenuation and velocity on bovine cancellous bone samples using a standard insertion technique with those obtained using a contac method.

The thrid in-vitro study with os calcis trabecular samples investigated the correlations between ultrasonic measurements and bone mineral density (in g/cm^3 e cm g/cm^2) as measured by SPA. A nonlinear multivariate estimation technique based on neural network was the first time investigated to determine the ability of ultrasonic measurements to estimate bone mineral density in g/cm^2 (BMD). A linear univariate and multivariate estimation of BMD was compared with the neural network approach. A new parameter to characterize the trabecular bone is been proposed, which is based on the mean instantaneous frequency (MIF) of the sample and reference signals after transmission through the os calcis. It was founded a high correlation between MIF and the attenuation (BUA).

Little is known about the effect of the os calcis cortical shell on ultrasonic measurements. The fourth in-vitro study with os calcis samples determined the correlation between ultrasonic and densitometric measurements (in g/cm^3) by SPA with and without the cortical shell.

Finally, a nonlinear multivariate estimation technique based on neural network was the first time investigated to determine the ability of clinical ultrasonic measurements in the heel to estimate bone mineral density (BMD) in the femoral

neck. A linear univariate and multivariate estimation to predict BMD in patients is also compared with the neural network approach.

1. INTRODUÇÃO

1.1 O Tecido Ósseo

O osso é um material compósito constituído de componentes orgânicos e inorgânicos (Fig. 1.1, abaixo). A matriz orgânica é constituída basicamente de colágeno (95%) e de outras proteínas não colagenosas (glicoproteínas, fósforoproteínas, próteolípídeos e mucopolisacárides). A matriz mineral consiste essencialmente de hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) (95%), que é inicialmente depositada na matriz orgânica como fosfato de cálcio mas depois se transforma em cristais de apatita. As células que produzem a matriz óssea são denominadas osteoblastos.

Fig. 1.1 - A composição do tecido ósseo (Kaplan, 1987)

A arquitetura do tecido ósseo varia com a região do esqueleto, podendo ser esponjosa, denominada osso trabecular (Fig. 1.2, abaixo), ou compacta, denominada osso cortical (Fig. 1.3, pg. 3).

Fig.1.2 - Estrutura do osso trabecular (Kaplan, 1987)

O remodelamento ósseo é caracterizado pela continua remoção óssea por células denominadas osteoclastos e continua reposição do tecido removido, através da síntese das matrizes minerais e orgânicas, pelos osteoblastos. A densidade óssea, normalmente expressa em termos da componente mineral, atinge no ser humano um máximo valor entre 30 e 40 anos de idade. No processo normal de envelhecimento há um decréscimo natural da densidade óssea, devido a predominância da reabsorção

em relação à síntese no processo de remodelamento, após a ocorrência do máximo valor.

Fig. 1.3 - Estrutura do Osso Cortical (Kaplan, 1987)

1.2 Relevância do Diagnóstico da Osteoporose

Osteoporose é uma doença do metabolismo ósseo caracterizada pelo decréscimo excessivo de massa óssea e deterioração da arquitetura que causam um decréscimo na resistência mecânica do esqueleto e maior susceptibilidade à ocorrência de fraturas, traumáticas ou não traumáticas, em regiões do esqueleto onde há predominância de osso trabecular (Kanis, 1994). Não há sintomas da doença até que as fraturas se manifestem. Os sítios de maior incidência de fratura são a região distal do antebraço (fraturas de Colles), vértebras torácicas e lombares, e região proximal do fêmur (côlo femoral). A incidência aumenta com a idade, é maior na raça branca do que na negra, e é maior nas mulheres do que nos homens (razão 1.5:1 nas fraturas de Colles, 7:1 nas fraturas das vértebras e 2:1 nas fraturas do côlo femoral) (Kleerekoper, 1993). Nos EUA mais de 1.3 milhões de fraturas por ano são atribuídas à osteoporose (Kelsey, 1984). Estima-se que 90% das fraturas do côlo femoral, 75% das fraturas de Colles e pelo menos 33% das fraturas dos membros são causadas pela doença (Melton, 1988a). Nos EUA estima-se que as fraturas do côlo

femoral custam de US\$10-20 bilhões por ano. No Brasil, segundos dados do IBGE, a população propensa a osteoporose irá aumentar de 7,5 milhões, em 1980, para 15 milhões no ano 2000 (Marone, 1989).

Um “Conselho de Saúde sobre Osteoporose” (*Worldwide Health Council on Osteoporosis*) que reúne especialistas internacionais foi criado em 1991 em função da necessidade de programas educacionais mundiais sobre o diagnóstico e tratamento da osteoporose, e para facilitar o acesso e a disseminação de informações científicas sobre a doença. O Conselho organizou em 1994 a segunda “International Conference on Osteoporosis” (Delmas, 1995) e concluiu que pesquisas são necessárias para definir a estratégia ótima de prevenção e a cura mais efetiva, em consequência do problema econômico das fraturas osteoporóticas.

1.3 A Densidade Mineral Óssea e a Ocorrência de Fraturas

A seguinte terminologia relacionada a densitometria óssea é importante para um correto entendimento da literatura científica:

- *Massa Mineral Óssea (BMM)*: é a massa mineral óssea expressa em gramas (g).
- *Conteúdo Mineral Ósseo (BMC)*: é a densidade mineral óssea, expressa em gramas (g/cm), de uma determinada massa de tecido ósseo. Apenas os constituintes minerais ósseos são considerados na medida da BMC.
- *Densidade Mineral Óssea (BMD)*: é a densidade mineral óssea, expressa em g/cm², de uma determinada massa de tecido ósseo. Apenas os constituintes minerais ósseos são considerados na medida da BMD.
- *Densidade Óssea (BD)*: é a densidade mineral óssea, expressa em g/cm³, de uma determinada massa de tecido ósseo. Apenas os constituintes minerais ósseos são considerados na medida da BD.
- *Densidade Física Óssea*: é a densidade, expressa em g/cm³, de uma determinada massa de tecido ósseo. Os constituintes minerais e orgânicos ósseos são considerados na medida da densidade física.

A BMD e a resistência mecânica óssea variam consideravelmente ao longo da vida (Fig. 1.4, pg. 5). O aumento da BMD inicia-se no período de crescimento atingindo o máximo valor nos ossos predominantemente trabeculares entre 25-30 anos, e entre 35-40 anos nos ossos predominantemente corticais. A maturidade do esqueleto a perda óssea inicia-se e persiste até a idade de 85-90 anos, sendo menor nos homens (20-30% / 0.25-1% ao ano) que nas mulheres, podendo alcançar 45% (2-3% ao ano). A menopausa causa um decréscimo da BMD de 10-15% no esqueleto apendicular e de 15-20% nas vértebras (Riggs, 1981).

A BMD é altamente correlacionada com a resistência mecânica óssea (Keaveny, 1993) e é responsável por 75-85% da variação na resistência mecânica do tecido (Melton, 1988b). A BMD no cólo femoral diminui 58% na mulher e 39% no homem entre a idade de 20 a 90 anos (Riggs, 1982). A resistência mecânica está relacionada com a susceptibilidade à ocorrência de fratura e consequentemente com a BMD. Por exemplo, a incidência de fratura nas vértebras cervicais e na região intertrocanterica do cólo femoral é rara nas mulheres de Rochester, Minnesota, EUA com $BMD \geq 1.0 \text{ g/cm}^2$, e igual à 8.3 e 16.6 por milhares de habitantes por ano, respectivamente, se $BMD \leq 0.6 \text{ g/cm}^2$ (Melton, 1986). As fraturas de vértebras ocorrem predominantemente devido a reduzida BMD, e o trauma não tem influência relevante (Melton, 1987).

Fig. 1.4 - BMD em vértebras lombares em função da idade em 105 mulheres normais (Riggs, 1981)

Estudos clínicos prospectivos mostraram que a medida da BMD no rádio (Hui et al., 1988), ou no calcâneo (Wasnich et al., 1987a) permite prever o risco de fraturas no futuro (Fig. 1.5, pg. 6). Em um destes estudos verificou-se que a incidência de fraturas de vértebras era inversamente correlacionada com a BMD medida no rádio, calcâneo e vértebras lombares (Ross et al., 1988). Outros estudos mostraram que uma melhor correlação entre risco de fratura e BMD pode ser obtida se a medida da BMD é realizada no osso onde se deseja prever o risco de fratura. Por exemplo, o risco de fratura no cólo femoral tem melhor correlação com a BMD medida no cólo femoral do que na região ultradistal do rádio (Mazess et al., 1988); e o risco de fratura em vértebras tem melhor correlação com a BMD medida nas vértebras do que na região ultradistal do rádio (Eastell, 1989).

As quedas são importantes na etiologia das fraturas do cólo femoral e de Colles (Melton et al., 1987), no entanto o risco de quedas aumenta 19% ao ano para mulheres com idade entre 60-64 anos e 33% ao ano entre 80-84 anos (Cummings et

al., 1989). Apenas o aumento da incidência as quedas não pode explicar o aumento exponencial das fraturas do cólo femoral com a idade.

Fig. 1.5 - Relação entre BMC medida no rádio e risco de fratura. Em cada grupo de idade há um aumento do risco com o decréscimo da BMC (Hui et al., 1988)

A BMD medida de um paciente é comparada com o valor médio de pacientes do mesmo sexo e com a mesma idade (*Z-score*) ou com o valor médio de pacientes adultos jovens do mesmo sexo (*T-score*). Sejam P o valor da BMD medido no paciente, M_{SI} o valor médio da BMD dos pacientes do mesmo sexo e da mesma idade, SD_{SI} o desvio padrão dos pacientes do mesmo sexo e da mesma idade, M_{SJ} o valor médio da BMD dos adultos jovens do mesmo sexo do paciente e SD_{SJ} o desvio padrão da BMD dos adultos jovens do mesmo sexo do paciente. O *Z-score* e o *T-score* em desvio padrão (SD) e percentual são calculados como:

$$Z - \text{score}(\text{SD}) = \frac{P - M_{SI}}{SD_{SI}}, \quad Z - \text{score}(\%) = \frac{P}{M_{SI}} \times 100 \quad (1.1)$$

$$T - \text{score}(\text{SD}) = \frac{P - M_{SJ}}{SD_{SJ}}, \quad T - \text{score}(\%) = \frac{P}{M_{SJ}} \times 100 \quad (1.2)$$

Se a recente sugestão (Kanis, 1994) de definição quantitativa da osteoporose for largamente aceita, a seleção dos que necessitam de tratamento será facilitada. Esta definição estabelece as seguintes categorias de indivíduos:

- **Normal:** o valor da BMD ou BMC não está mais do que 1SD abaixo do valor médio da população adulta jovem.
- **Baixa Massa Óssea** (osteopenia): o valor da BMD ou BMC está mais do que 1SD e não mais do que 2.5SD abaixo do valor médio da população adulta.

- **Osteoporose:** o valor da BMD ou BMC está mais do que 2.5SD abaixo do valor médio da população adulta jovem.
- **Osteoporose grave:** o valor da BMD ou BMC está mais do que 2.5SD abaixo do valor médio da população adulta jovem e o paciente possui uma ou mais fraturas.

1.4 A Correlação entre Densidade Mineral Óssea e outros Parâmetros Clínicos

Pacientes do sexo feminino, cor branca, pequena estatura, magras e fumantes são mais susceptíveis à osteoporose que pacientes da raça negra, estatura acima da média, obesos e não fumantes (*Cummings, 1985*). Entretanto o risco de fratura não pode ser precisamente estimado com base nestes e outros fatores, por exemplo, alcoolismo (*Wasnich, 1987b*). Em um estudo com 49 pacientes femininos, idades entre 38-43, sete fatores de risco não apresentaram correlação estatisticamente significativa com a medida de BMD na região ultradistal do rádio e nas vértebras (*Citron, 1987*).

1.5 A Indicação Clínica da Medida da Densidade Mineral Óssea

O Comitê Científico de Aconselhamento da "National Osteoporosis Foundation" com sede em Washington, D.C, EUA, e com base em estudos clínicos publicados, aconselhou a medida da BMD nos seguintes casos:

- a) Em mulheres com deficiência de estrógeno, para se diagnosticar a redução na BMD e se utilizar a terapia de reposição deste hormônio.

A deficiência de estrógeno após a menopausa, a ovariectomia, e a prolongada amenorréia, estão associadas com decréscimo anormal da BMD, e consequentemente com maior risco de fratura. A perda óssea pode ser evitada ou diminuída com a terapia de reposição de estrógeno.

- b) Pacientes com anormalidades nas vértebras.

A existência de anormalidades nas vértebras (diagnosticada por raio-x,) não está necessariamente associada a osteoporose das vértebras. A medida da BMD permite diagnosticar os pacientes com decréscimo anormal da densidade óssea e que necessitam da terapia de longa duração e de custo elevado.

- c) Pacientes submetidos a terapia de longa duração com glucocorticóides.

A terapia com esteróides, adotada no tratamento de muitas doenças (artrite reumatóide, asma, doenças crônicas de pulmão, ...), pode causar um rápido

decréscimo da BMD (*Baylink, 1983*). A medida da BMD possibilita a avaliação dos efeitos colaterais da terapia no esqueleto e o ajuste necessário da dose.

d) Pacientes com hiperparotiroidismo assintomático.

O hiperparotiroidismo assintomático não é diagnosticado pela avaliação radiográfica convencional, mas alguns pacientes apresentam redução da BMD (*Richardson, 1986*).

A importância da medida da BMD é a avaliação da eficácia de um tratamento à base de medicamentos em pacientes osteoporóticos, e a identificação de pacientes com maior risco de fratura, a fim de se adotar medidas preventivas (*Wasnich, 1987b*)

1.6 Seleção do Sítio do Esqueleto para Previsão do Risco de Fratura Através da Medida da BMD

Um estudo clínico publicado em 1987 (*Wasnich, 1987a*) investigou a relação entre a medida da BMD em diversos sítios anatômicos e a previsão do risco de fratura. Medidas da BMD com SPA foram realizadas no rádio proximal, distal e no calcâneo, e com DPA nas vértebras lombares. Na Fig. 1.6, pg. 8, é mostrada a composição relativa de osso cortical e trabecular nos sítios citados. O calcâneo e o rádio proximal apresentam a maior composição trabecular e cortical, respectivamente.

Fig. 1.6 - Porcentagem de osso trabecular no calcâneo (A:95%), vértebra lombar (B:60-70%), rádio distal (C:30-40%) e rádio medial (D:4%)(*Wasnich, 1987a*)

Um total de 294 mulheres participaram do estudo, com idade entre 44-78 anos (média de 63.7 anos). A presença ou ausência de fraturas foi avaliada por raio-x antero-posterior e lateral no início do estudo (1982) e no término (1984). Todas as

fraturas ocorridas após o início do estudo foram consideradas, desde que espontâneas ou devido a pequeno trauma.

A comparação entre os diversos sítios baseou-se nos seguintes critérios:

- A *reprodutibilidade* foi definida como o quociente do desvio padrão de repetidas medidas da BMD em um mesmo paciente e da média das mesmas medidas.
- A *exposição à radiação* foi calculada como o quociente entre a exposição real (medida em mrem) e a máxima permitida (5mrem para o corpo e 75mrem nas extremidades).
- A *facilidade* da medida foi definida como o tempo requerido (média de 10 scans) para a preparação do paciente).
- O *custo relativo* das medidas da BMD nos diversos sítios foi determinado pelo quociente entre o custo do equipamento e o número de scans que podem ser realizados em 1 hora. O tempo total requerido para cada scan inclui o preparo do paciente, tempo da medida e tempo de determinação da BMD.

Para normalizar os resultados cada valor calculado foi dividido pelo menor valor. O estudo determinou que:

- a) As medidas da BMD no calcâneo e nas vértebras lombares têm as relações mais consistentes com a incidência de fraturas.
- b) As medidas da BMD no calcâneo tem as relações mais consistentes com a incidência de fraturas quando apenas as fraturas do esqueleto apendicular são consideradas.
- c) A incidência de fraturas é inversamente proporcional à BMD.
- d) Considerando-se os critérios de reprodutibilidade, exposição à radiação, facilidade e custo relativo, o calcâneo e o rádio são melhores sítios que as vértebras.
- e) O calcâneo é o melhor sítio para prever o risco de fratura.

2. CONCEITOS BÁSICOS

2.1 Densitometria Óssea

A BMC e a BMD podem ser medidas com precisão e reprodutibilidade utilizando-se as técnicas comercialmente disponíveis descritas na Tabela 2.1 abaixo.

As técnicas **SPA** (single photon absorptiometry / absorptiometria de 1 fóton), **DPA** (dual photon absorptiometry / absorptiometria de 2 fótons) e **DEXA** (dual energy x-ray absorptiometry / absorptiometria com duas energias por raio-X) utilizam baixa radiação ionizante quando comparadas à dose de um raio-X convencional do tórax (2-50 mRem) ou dental panorâmico (300 mRem). As técnicas SPA (Cameron, 1963) e DPA (Chesney, 1982) são mais antigas e utilizam radioisótopos. As Tabelas 2.1, pg., e 2.2, pg., descrevem o estado da arte da densitometria óssea.

Tabela 2.1 - Técnicas para determinação in-vivo não-evasiva do conteúdo mineral ósseo (Wahner, 1987)

Medida do Conteúdo Mineral Total do Corpo	Neutron Activation Analysis Dual energy photon absorptiometry (DPA) Dual energy X-ray absorptiometry (DEXA)
Medida do Conteúdo Mineral em Sítios Específicos	<p>(1) Avaliação subjetiva de radiografias Índice de biconcavidade Índice e Singh Índice de Smith Radiografia de alta resolução Forma das vértebras da coluna Padrão trabecular do cólo femoral Densidade radiográfica das vértebras Padrão de reabsorção osso periostal</p> <p>(2) Avaliação Quantitativa de Radiografias Espessura cortical de ossos apendiculares Score da espinha lombar (Nordin) Índice de Exton-Smith (crianças) Índice de Barnett-Nordin (osteoporose) Fotodensitometria Radiográfica Videodensitometria Morfometria vertebral</p> <p>(3) Medida da Absorção de Fótons Single Photon Absorptiometry (SPA) Single energy X-ray absorptiometry (SXA) Dual Photon Absorptiometry (DPA) Dual Energy X-ray Absorptiometry (DEXA)</p> <p>(4) Compton Scattering</p> <p>(5) Tomografia Computadorizada Single energy CT Dual energy CT</p> <p>(6) Neutron Activation Analysis</p>

Tabela 2.2 - Comparação das Técnicas de Densitometria por Absorção de Fótons
(Wahner, 1995)

Técnica	Unidade de Medida	Sítio da Medida	Reprodutibilidade (%)	Precisão (%)	Tempo do Exame (min)	Fonte de Radiação	Dose de Irradiação (mrem / exame)	Custo do Exame (US\$)
DPA	g/cm ²	Vértebra L2-L4 Cólo femoral Rádio/Ulna	2 2-4	4-8	20-40	¹⁵³ Gd (40-100 keV)	5-10	100-200
DEXA	g/cm ²	Vértebra L2-L4 Cólo femoral Rádio/Ulna	0.8-1.5 1.5-3	4-6	1-6	X-Ray (70-140KV _p)	1-3	100-200
SPA	g/cm	Rádio/Ulna Calcâneo	1-3	5-8	15	¹²⁵ I (35keV)	2	50-75
SXA	g/cm	Rádio / Ulna, Calcâneo	0.5-1	5-8	3-5	X-Ray (40KV _p)	5-10	50-75

Legenda (Tabela 2.1 e 2.2):

- **SPA** (single photon absorptiometry): é a medida da BMD através da medida da atenuação de um nível de energia ionizante emitida por um radioisótopo.
- **SXA** (single-energy x-ray absorptiometry): é a medida da BMD através da medida da atenuação de um nível de energia ionizante emitida por uma fonte de x-ray.
- **DPA** (dual photon absorptiometry): é a medida da BMD através da medida da atenuação de dois níveis de energia ionizante emitidos por um radioisótopo.
- **DEXA** (dual energy X-ray absorptiometry): é a medida da BMD através da medida da atenuação de dois níveis de energia ionizantes emitidos por uma fonte de x-ray.

2.1.1 Densitometria de Um Fóton

Os princípios da densitometria de um fóton foram publicados no início da década de 60 (Cameron, 1963) e o primeiro densitômetro comercial foi disponível em meados da década de 80 (Wahner, 1985). Os componentes básicos de um sistema de densitometria por radiação ionizante são mostrados na Fig. 2.1, pg. 12. A Fig. 2.2, pg. 12, mostra um densitômetro SPA utilizado nos experimentos in-vitro com osso bovino e humano (ver itens 4.1 e 4.2). Uma fonte de fótons, que pode ser um radioisótopo (usado nas técnicas SPA e DPA) ou tubo de raio-X (usado nas técnicas SXA e DEXA), emite fótons que podem ser colimados em um campo. O campo atravessa o tecido ósseo e o tecido mole do paciente até atingir um detetor onde a sua intensidade é registrada. O colimador e o detetor, cuidadosamente alinhados e mecanicamente conectados, movem-se na direção x (perpendicular ao eixo longitudinal do corpo) e na direção y (eixo do corpo).

O princípio de operação da densitometria de um fóton no ar é ilustrado na Fig. 2.3a, pg. 13, onde é mostrada a seção transversal de um antebraço (o tecido ósseo está hachurado). A atenuação no ar é nula e aumenta quando o campo percorre o tecido mole na direção x. A atenuação aumenta muito mais rapidamente à medida que o campo atinge o tecido ósseo. Quando o antebraço é embebido em material com espessura constante e equivalente ao tecido mole, como a água, a atenuação nas regiões não contendo osso torna-se constante. O conteúdo mineral ósseo é proporcional a atenuação causada pelo osso, isto é, a área hachurada da Fig. 2.3.b, pg. 13.

A atenuação dos fótons depende da composição e espessura do material. Para um material isotrópico com coeficiente de atenuação de massa μ (cm^2/g), densidade ρ (g/cm^3) e espessura $w(x)$ na localização x , a intensidade transmitida $I(x)$ está relacionada com a incidente I_0 segundo a equação 2.1:

Fig. 2.1 - Componentes de um sistema de densitometria por SPA/SXA (Wahner, 1984)

Fig. 2.2 - Densitômetro SPA (modelo 2780, Norland Corp., EUA)

Fig. 2.3 - Princípio de operação da densitometria SPA/SXA. Em A o antebraço não está embebido em tecido ósseo equivalente; em B o antebraço está embebido em água (Wahner, 1995).

$$I(x) = I_0 e^{-\mu \rho w(x)} \quad (2.1)$$

Se o material é não isotrópico o coeficiente de atenuação de massa depende da energia do fóton e da composição do material atenuante. Supondo que o campo atravesse J materiais diferentes, a equação 2.1 deve ser reescrita:

$$I(x) = I_0 \exp \left[- \sum_{j=1}^J \mu_j \rho_j w_j(x) \right] \quad (2.2)$$

No caso da técnica SPA/SXA a variável J na equação 2.2 tem valor 2 pois os tecidos que contribuem para a atenuação são o osso e o tecido mole. Sendo μ_s , ρ_s , $w_s(x)$ e μ_b , ρ_b , $w_b(x)$ as variáveis características do tecido mole e do tecido ósseo, respectivamente, a equação 2.2 torna-se:

$$I(x) = I_0 \exp \left[-\mu_s \rho_s w_s(x) - \mu_b \rho_b w_b(x) \right] \quad (2.3)$$

Se a espessura W ao longo do caminho do campo for mantida constante a equação 2.3 pode ser reescrita como:

$$\ln \left| \frac{I_0}{I(x)} \right| = \mu_s \rho_s [W - w_b(x)] + \mu_b \rho_b w_b(x) \quad (2.4)$$

A espessura $w_b(x)$ pode então ser computada:

$$w_b(x) = \frac{\ln|I_0 / I(x)| - \mu_s \rho_s W}{\mu_b \rho_b - \mu_s \rho_s} \quad (2.5)$$

Na equação 2.5 $\ln|I_s / I_0| = -\mu_s \rho_s W$, e I_s denota a intensidade do campo após a atenuação pelo tecido mole. I_s é denominado linha de base.

$$w_b(x) = \frac{\ln|I_s / I(x)|}{\mu_b \rho_b - \mu_s \rho_s} \quad (2.6)$$

O conteúdo mineral ósseo (BMC em g/cm) é obtido integrando-se $w_b(x)$ ao longo do comprimento total do sítio anatômico na direção x :

A equação 2.6 torna-se:

$$BMC = \rho_b \left[\int_{x_1}^{x_2} w_b(x) dx + \int_{x_3}^{x_4} w_b(x) dx \right] \quad (\text{g/cm}) \quad (2.7)$$

Uma região volumétrica de espessura L_1 relativa a maior área hachurada da Fig.2.3b, que representa a seção transversal do osso rádio, está esquematizada na Fig. 2.4, pg.15. Nesta figura z é a direção do campo de fótons e x e y a direção transversal e longitudinal, respectivamente, do sítio anatômico cuja densitometria se deseja realizar. A BMC da região volumétrica é calculada segundo a equação 2.7:

$$BMC = \rho_b \int_{x_1}^{x_2} w_b(x) dx \quad (2.8)$$

A massa mineral M , em gramas, do tecido presente na região volumétrica é assim obtida :

$$M = \rho_b \int_{x_1}^{x_2} L_1 w_b(x) dx = L_1 \rho_b \int_{x_1}^{x_2} w_b(x) dx = L_1 (BMC)$$

Portanto, *a massa mineral do tecido associada a uma região volumétrica scaneada com espessura L_1 é igual ao produto da BMC pela espessura quando a técnica SPA/SXA é utilizada.*

A BMD pode também ser obtida a partir da BMC:

$$BMD \equiv \frac{\text{massa}}{\text{area}} = \frac{L_1 (BMC)}{L_1 (x_2 - x_1)} = \frac{BMC}{x_2 - x_1} = \frac{BMC}{L_2}$$

Portanto, *a BMD do tecido associada a uma região volumétrica scaneada com comprimento L_2 , é igual ao quociente da BMC pelo comprimento, quando a técnica SPA/SXA é utilizada.*

Fig. 2.4 - Região volumétrica de tecido cuja densitometria óssea se deseja realizar

Duas outras conclusões importantes são obtidas:

A BMC, que é uma medida da densidade mineral óssea (g/cm), é calculada em um plano perpendicular (x-z) à direção longitudinal do sítio anatômico de interesse.

A BMD, que é uma medida da densidade mineral óssea (g/cm²), é calculada em um plano paralelo (x-y) à direção longitudinal do sítio anatômico de interesse.

2.1.2 Densitometria de Dois Fótons

A técnica DPA foi desenvolvida em meados da década de 60 (Reed, 1965), mas as aplicações clínicas iniciaram-se na década de 80. No início, diferentes radioisótopos foram utilizados dependendo do sítio de medida, tais como ¹²⁵I e ²⁴¹Am (28 e 60 keV) ou ²⁴¹Am e ¹³⁷Cs (60 e 662 keV). A disponibilidade do isótopo ¹⁵³Gd, que emite fótons com duas energias distintas (44 e 100keV), no início da década de 70, viabilizou a densitometria em diferentes sítios com a mesma fonte. Através da tecnologia DPA foi também possível pela primeira vez medir a composição mineral total do corpo.

Haviam alguns inconvenientes na tecnologia DPA, ainda que ela tenha contribuído significativamente para o aprimoramento da densitometria óssea: o tempo do scan (20-40min para medidas com precisão de vértebras e do cólo femoral), a baixa resolução (4-8mm), o rápido decréscimo da intensidade do radioisótopo que exigiam correções complicadas, a disponibilidade do ¹⁵³Gd e finalmente as dificuldades impostas pela regulamentação do uso de isótopos no mercado americano. A tecnologia DEXA, introduzida comercialmente em 1987 pela Hologic Inc., Madison, WI, EUA, resolveu os problemas anteriormente citados com a substituição do radioisótopo por um tubo de raio-X. O tempo do scan, precisão,

reprodutibilidade e resolução foram substancialmente melhorados. Um densitômetro DEXA (Modelo QDR-1000plus, Hologic, Inc, Madison, WI, EUA) utilizado nas medidas clínicas descritas no item 4.3, é mostrado na Fig. 2.5, pg. 16.

O princípio de operação da DPA e DEXA baseia-se no fato que a atenuação característica é diferente para o osso e tecido mole, e é função da energia do fóton de raio-X. Em ambas as técnicas são registradas a atenuação em duas energias diferentes, conforme mostra a Fig. 2.6, pg. 17.

Fig. 2.5 - Densitômetro DEXA (Modelo QDR-1500plus, Hologic, Inc, Madison, WI, EUA)

Ao se multiplicar a atenuação do tecido mole em uma das energias por uma constante k , tal que a diferença entre as atenuações das duas energias seja zero nas regiões em que há tecido mole, o algoritmo cria o mesmo efeito observado nas técnicas SPA/SXA, em que o sítio anatômico de medida é embebido em material com espessura constante e equivalente ao tecido mole, como a água.

Para as técnicas DPA/DEXA a equação 2.3, pg. 13, deve ser reescrita tal que $\sigma(x)$ denote a densidade em g/cm^2 no ponto x para uma dada linha do scan. Idealmente, duas equações de transmissão, uma para cada nível de energia, são necessárias:

Fig. 2.6 - Princípio de operação da densitometria DPA/DEXA (Wahner, 1995, pg.26)

$$I^L(x) = I_0^L \exp(-\mu_s^L \sigma_s(x) - \mu_b^L \sigma_b(x)) \quad (2.9)$$

$$I^H(x) = I_0^H \exp(-\mu_s^H \sigma_s(x) - \mu_b^H \sigma_b(x)) \quad (2.10)$$

Os subscritos L e H denotam a baixa e alta energia dos fótons, respectivamente, e os subscritos s e b denotam o tecido mole e tecido ósseo, respectivamente. A densidade mineral óssea em g/cm² do tecido ósseo e mole pode ser obtida a partir da equações (2.9) e (2.10):

$$\sigma_b(x) = \frac{(\mu_s^L / \mu_s^H) \ln[I^H(x) / I_0^H] - \ln[I^L(x) / I_0^L]}{\mu_b^L - \mu_b^H (\mu_s^L / \mu_s^H)} \quad (2.11)$$

$$\sigma_s(x) = \frac{\ln[I^L(x) / I_0^L] - (\mu_b^L / \mu_b^H) \ln[I^H(x) / I_0^H]}{\mu_s^H (\mu_b^L / \mu_b^H) - \mu_s^L} \quad (2.12)$$

A equação 2.11 permite determinar a densidade em g/cm^2 através das técnicas DPA/DEXA e requer que os coeficientes de atenuação sejam conhecidos em ambas as energias. No entanto, o tecido mole tem composição complexa e é impossível prever os valores de μ_s^L e μ_s^H . Em termos práticos assume-se que o tecido mole é composto de gordura e que esta é uniformemente distribuída. Os coeficientes de atenuação são então medidos. Seja $R_s = \mu_s^L / \mu_s^H$. A equação 2.11 torna-se:

$$\sigma_b(x) = \frac{R_s \ln[I^H(x)/I_0^H] - \ln[I^L(x)/I_0^L]}{\mu_b^L - \mu_b^H R_s} \quad (2.13)$$

Se uma medida é realizada em uma ordenada x onde não há tecido ósseo, pode-se afirmar que $\sigma_b=0$, $I(x)=I_s$ e R_s pode ser calculado utilizando-se a equação 2.13:

$$R_s = \frac{\ln[I_s^L / I_0^L]}{\ln[I_s^H / I_0^H]} \quad (2.14)$$

A expressão de R_s é muito conveniente pois mostra que o seu valor só depende de medidas realizadas no tecido mole. O seguinte procedimento é utilizado para estimar R_s e calcular a BMD:

- Estimar R_s através de uma medida na primeira linha do scan onde não há tecido.
- Calcular a BMD em cada posição x usando a equação 2.13.
- Determinar as posições x em que a BMD foi calculada com e sem a presença de tecido ósseo.
- Calcular R_s usando a equação 2.14 em todas as posições x onde não há tecido ósseo.
- Repetir procedimentos b, c e d até que R_s não mais varie.
- Mostrar as posições x com e sem tecido ósseo para que o operador do densitômetro aprove.
- Determinar as regiões de interesse (ROI).
- Calcular a BMC total somando-se a BMC de cada posição x nas ROI.
- Determinar a área que contém tecido ósseo em cada ROI.
- Calcular $BMD = \frac{BMC}{Area}$.

2.2 Redes Neurais

2.2.1 Introdução

A seguinte notação será utilizada na notação sobre redes neurais:

- Escalares: letras minúsculas em *itálico*: a, b, c .
- Vetores: letras minúsculas em **negrito**: $\mathbf{a}, \mathbf{b}, \mathbf{c}$.
- Matrizes: letras maiúsculas em **negrito**: $\mathbf{A}, \mathbf{B}, \mathbf{C}$.

Uma referência bibliográfica sobre redes neurais com uma excepcional didática foi recentemente publicada (*Hagan, 1996*) e fornece uma visão geral sobre este riquíssimo e relativamente novo campo da ciência. O cérebro humano possui aproximadamente 10^{11} neurônios que coordenam atividades tais como leitura, respiração, locomoção, pensamento Os cientistas apenas começaram a desvendar como funciona a rede de neurônios biológicos. Sabe-se, por exemplo, que todas as funções neurológicas biológicas, incluindo a memória, são armazenadas nos neurônios e nas conexões entre eles. O aprendizado é entendido como o estabelecimento de novas conexões entre neurônios ou a modificação das já existentes. Ainda que o conhecimento sobre esta rede de neurônios seja rudimentar é possível construir simples neurônios artificiais e treiná-los para funções de interesse humano. Redes de neurônios artificiais podem ser implementadas em softwares ou em circuitos eletrônicos. No processamento dos dados experimentais em rede neural descritos nos itens 4.2, e 4.3 foi utilizado o software *Neural Network Toolbox for use with MATLAB™*, versão 4.2c, 1994 (The Math Works Inc., Natick, MA, EUA).

Rede neural é um algoritmo computacional, inspirado no sistema nervoso biológico, composto de simples elementos de processamento denominados **neurônios** (*Demuth, 1992*). A ação da rede é determinada pela sua **arquitetura** ou pelo modo como cada neurônio responde à sua entrada e pela interconexão entre neurônios. O desenvolvimento das redes neurais iniciou-se na década de 40 com um trabalho que mostrou que redes artificiais podiam computar qualquer função aritmética ou lógica (*McCulloch, 1943*) e tem evoluído rapidamente com aplicações em aeronáutica, indústria automotiva, sistema bancário, sistema de defesa, eletrônica, entretenimento, sistema financeiro, seguro, fabricação, medicina, exploração de óleo e gás, robótica, reconhecimento da fala, mercado de ações, telecomunicações, transporte, ...

O modelo de um neurônio é o modo como ele responde as suas entradas que é caracterizado pela sua **função de transferência**. O modelo de cada neurônio e a arquitetura da rede neural (o número de neurônios e o modo como estão conectados) descrevem como a rede transforma suas entradas em saídas.

A) Rede com um Neurônio e uma Entrada

A Fig.s 2.7, pg.20, mostra um neurônio com uma entrada. A **entrada** p (escalar) é transmitida através da multiplicação do **peso** w (escalar) por p . O produto $w \cdot p$ é o único argumento da função de transferência F que produz a **saída** a

(escalar). O neurônio da Fig. 2.7 tem um parâmetro adicional na função de transferência denominado **polarização** b . O argumento total da função de transferência, se existe polarização, é w^*p+b , isto é $a=F(w^*p+b)$. É importante salientar que ambos w e b são parâmetros ajustáveis de um neurônio, que são calculados segundo **regras de treinamento** da rede neural. Exemplos de funções de transferência e os seus gráficos e símbolos são mostrados na Tabela 2.3, pg.21, e Fig. 2.8, pg. 22, respectivamente.

B) Rede com um Neurônio e Múltiplas Entradas

A Fig. 2.9, pg.23, mostra um neurônio com R variáveis de entrada. A entrada da função de transferência F é o produto escalar do vetor peso $w_{1 \times R}$ pelo vetor de entrada $p_{R \times 1}$, somado à polarização b (escalar), isto é, $a=F(w^*p+b)$.

C) Rede Neural com uma Camada

Dois ou mais neurônios em paralelo (Fig. 2.10, pg.24) formam uma **camada**, e uma rede pode conter uma ou mais camada. Cada componente do vetor de entrada $p_{R \times 1}$ é conectado a cada neurônio. O número de componentes (R) do vetor de entrada é o número de variáveis de entrada. O número de neurônios é igual a S . O peso W é uma matriz com dimensão $S \times R$. A polarização b é um vetor com dimensão $S \times 1$. O índice das filas dos elementos da matriz w indica o destino do neurônio associado com aquele peso, enquanto o índice da coluna indica a entrada para aquele peso.

Fig. 2.7 - Rede com um neurônio, uma entrada e uma variável de entrada

D) Rede neural com múltiplas camadas

Uma rede neural pode ter várias camadas (Fig. 2.11, pg.25). Cada camada tem uma matriz peso W , um vetor de polarização b , um determinado número de entradas e um vetor ou matriz de saída a . A camada cuja saída representa a saída da rede é denominada **camada de saída**. As demais camadas são denominadas **camadas escondidas** ou **intermediárias**.

E) **Redes neurais com múltiplos vetores de entrada (batching)**

Denomina-se **batching** (Fig.2.12, pg.26) a matriz de entrada **P** de uma rede neural com **R variáveis de entrada** e **Q vetores de entrada** (cada vetor representando R variáveis). A matriz de entrada tem , portanto, dimensão RxQ. No processamento dos dados experimentais descritos nos itens 4.3 e 4.5, foram utilizadas redes com batching e com três camadas.

Tabela 2.3 - Equações das funções de transferência

Nome da função	Relação entrada/saída	Função MATLAB
Hard Limit	$a=0 \quad n<0$ $a=1 \quad n\geq 0$	hardlim
Symmetrical Hard Limit	$a=-1 \quad n<0$ $a=+1 \quad n\geq 0$	hardlims
Linear	$a=n$	purelin
Saturing Linear	$a=0 \quad n<0$ $a=n \quad 0\leq n\leq 1$ $a=1 \quad n>1$	satlin
Symmetric Saturing Linear	$a=-1 \quad n<-1$ $a=n \quad -1\leq n\leq 1$ $a=1 \quad n>1$	satlins
Log-Sigmoid	$a = \frac{1}{1 + e^{-n}}$	logsig
Hyperbolic Tangent Sigmoid	$a = \frac{e^n - e^{-n}}{e^n + e^{-n}}$	tansig
Positive Linear	$a=0 \quad n<0$ $a=n \quad 0\leq n$	poslin
Competitive	$a=1$ neurônio com max n $a=0$ todas os outros neurônios	compet

F) **Etapas de Processamento de uma Rede Neural**

As etapas de processamento são comuns à qualquer rede neural, independem da sua arquitetura e são denominadas: definição da arquitetura da rede, treinamento e teste.

Definição da Arquitetura da Rede

Os seguintes parâmetros de processamento da rede neural são especificados:

- Vetores (ou matrizes) **p** e **a**, de entrada e saída, respectivamente.
- Número de camadas, número de neurônios em cada camada e função de transferência dos neurônios.

- Erro máximo admissível baseado na **soma dos erros quadrados (SSE)** de cada componente do **vetor ou matriz erro e** , sendo $e=t-a$, onde t é o vetor ou matriz alvo (saída desejada) e a o vetor ou matriz de saída.
- Número máximo de **epochs** a serem processadas. Denomina-se epoch a cada procedimento de alterar as componentes dos vetores (ou matrizes) w e b , calcular o vetor (ou matriz) de saída a , compará-lo ao vetor (ou matriz) alvo t , e determinar se o erro SSE é menor ou igual ao desejado. Se o erro desejado é obtido o processamento é interrompido e as variáveis w e b que minimizam o erro são determinadas.

Fig. 2.8 - Funções de transferência e seus símbolos

Fig. 2.9 - Rede com um neurônio e uma entrada $p_{R \times 1}$ representando múltiplas variáveis de entrada (R)

- Escolha do algoritmo conveniente para o processamento. Cada algoritmo possui uma **regra de treinamento** baseada em equações que determinam a modificação das componentes dos vetores (ou matrizes) w e dos vetores b até que a soma dos erros quadrados (SSE) das componentes do vetor erro e seja igual ou inferior à um valor previamente estabelecido. O processamento é interrompido se o erro desejado é obtido ou se um determinado número de epochs é alcançado sem que o erro desejado seja obtido.

Treinamento

O treinamento inicia-se através da atribuição dos valores às componentes dos vetores (ou matrizes) w e b . Estes valores iniciais são aleatórios e posteriormente corrigidos segundo a regra de treinamento. O vetor (ou matriz) de saída a é calculado utilizando-se os vetores (ou matrizes) iniciais w_0 e b_0 . Em função do resultado obtido as seguintes decisões são adotadas:

- Se $t=a$ o processamento é interrompido pois o objetivo da rede foi alcançado. Os vetores $w=w_0$ e $b=b_0$ são determinados.
- Se $t \neq a$ a rede deverá executar a etapa de treinamento. O processamento continua até que o erro desejado seja obtido ou o máximo número de epochs seja alcançado. Os vetores w e b são determinados.

Fig. 2.10 - Rede neural com uma camada e uma entrada p_{Rx1} representando múltiplas variáveis de entrada (R)

Teste

Uma vez calculados os vetores (ou matrizes) w e b que minimizam o erro SSE a rede neural utilizará este vetores (ou matrizes) para determinar a saída a_T para um vetor (ou matriz) teste p_T cujas componentes são desconhecidas pela rede, isto é, para um vetor (ou matriz) cujas componentes não foram utilizadas na etapa de treinamento. O vetor ou matriz erro e , sendo $e = t - a_T$, onde t é o vetor ou matriz alvo (saída desejada) e o a_T o vetor ou matriz de saída, é utilizado para avaliar o desempenho da rede.

2.2.2 Como uma Rede Neural Maximiza o seu Desempenho

Há três classes de aprendizado em redes neurais. Neste estudo utilizou-se um algoritmo baseado no aprendizado supervisionado que consiste em treinar a rede com um conjunto $\{p_1, t_1\}, \{p_2, t_2\}, \dots, \{p_Q, t_Q\}$, onde p_Q é um vetor de entrada e t_Q é o correspondente vetor de saída denominado alvo. As entradas são aplicadas na rede e as saídas são comparadas aos alvos. A regra de aprendizado é então utilizada para ajustar os vetores (matrizes) pesos e de polarização para que o vetor (matriz) de saída esteja o mais próximo possível do vetor (matriz) alvo.

Fig. 2.11 - Rede neural com múltiplas camadas e uma entrada p_{Rx1} representando múltiplas variáveis de entrada R

As regras de treinamento do algoritmo de rede neural denominadas **backpropagation** (ver item 2.2.3) baseiam-se em aprendizado supervisionado, também denominado aprendizado de desempenho. Os vetores (matrizes) pesos e os vetores de polarização são ajustados para o otimizar o desempenho da rede. O índice de desempenho de uma rede é caracterizado pelo seu erro quadrático, isto é, $e = (t - a)^2$, sendo t o vetor (matriz) alvo e a o vetor (matriz) de saída. Portanto, otimizar o desempenho da rede neural significa minimizar o seu erro.

Seja $F(x)$ a função matemática que representa o índice de desempenho, sendo x um vetor de n componentes. O vetor x é formado a partir de componentes dos parâmetros peso e polarização. Considerando-se uma rede neural com uma entrada representando R variáveis de entrada, uma camada e 1 neurônio, como a da Fig. 2.9, pg.23, o vetor x terá as seguintes componentes:

$$x = \begin{bmatrix} w \\ b \end{bmatrix}, \text{ sendo } w = \begin{bmatrix} w_{1,1} \\ w_{1,2} \\ \vdots \\ w_{1,R} \end{bmatrix}$$

Otimizar $F(x)$ significa determinar x que minimize o seu valor. $F(x)$ é definido como sendo o erro quadrático médio da rede, que é determinado pelo valor esperado (E) do erro ao quadrado. O valor esperado é um conceito estatístico. A função $F(x)$ é definida segundo a equação 2.15:

$$F(x) = E[e^2] = E[(t - a)^2] \quad (2.15)$$

Fig. 2.12 - Rede neural com R variáveis de entrada e Q vetores de entrada (batching)

Os algoritmos de otimização de redes neurais são iterativos e se iniciam com um vetor $\mathbf{x}_0$ que representa um valor inicial ou tentativa inicial. O vetor $\mathbf{x}$ é alterado segundo a equação 2.15:

$$\mathbf{x}_{K+1} = \mathbf{x}_K + \alpha_K \mathbf{v}_K \quad (2.16)$$

O vetor $\mathbf{v}_K$ representa uma direção de busca e o escalar α_K é taxa de aprendizado. Em cada iteração $k+1$ deseja-se que $F(\mathbf{x}_{K+1}) < F(\mathbf{x}_K)$. Os algoritmos se distinguem pela escolha da direção de busca $\mathbf{v}_K$ ou método de busca. O algoritmo de backpropagation baseia-se no método *steepest descent* em que a direção de busca é o gradiente de $F(\mathbf{x})$ calculado em $\mathbf{x}_K$, conforme a equação 2.17:

$$\mathbf{v}_K = \mathbf{g}_K = \nabla F(\mathbf{x})|_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_K} \quad (2.17)$$

2.2.3 Algoritmo de Widrow-Hoff

Em 1960 os pesquisadores Bernard Widrow e Frank Rosenblatt desenvolveram um importante algoritmo de rede neural baseado em uma aproximação do erro quadrático médio e em uma aproximação do método do *steepest descent*. O algoritmo utiliza uma estimativa ($\hat{F}(\mathbf{x})$) do erro médio quadrático onde o valor esperado do erro quadrático é substituído pelo erro quadrático na iteração k . A equação 2.18 é válida para redes cuja saída é um escalar (a camada de saída tem apenas 1 neurônio):

$$\hat{F}(x) = (t(k) - a(k))^2 = e^2(k) \quad (2.18)$$

O algoritmo de Widrow-Hoff utiliza uma estimativa do gradiente da função de desempenho $F(x)$, conforme a equação 2.19:

$$\hat{\nabla}F(x) = \nabla e^2(k) \quad (2.19)$$

O algoritmo aplica-se a redes com R variáveis de entrada, Q vetores de entrada e uma camada contendo S neurônios lineares. O algoritmo é também um precursor da técnica de *backpropagation* utilizada em redes com R variáveis de entrada, Q vetores de entrada, múltiplas camadas e funções de transferência não lineares. Os pesquisadores mostraram (Hagan, 1996) que as equações de ajustamento da matriz peso W e do vetor polarização b na iteração $k+1$, são dadas pelas equações 2.20 à 2.22, sendo α a taxa de aprendizado, e é o vetor erro e p^T é o vetor transposto de entrada da iteração k , t é o vetor alvo e a é o vetor de saída.

$$W(k+1) = W(k) + 2\alpha e(k)p^T(k) \quad (2.20)$$

$$b(k+1) = b(k) + 2\alpha e(k) \quad (2.21)$$

$$e(k) = t(k) - a(k) \quad (2.22)$$

Para entender o significado do vetor $p^T(k)$ consideremos que a matriz de entrada P tem dimensão $R \times Q$, isto é, a rede possui R variáveis de entrada e Q vetores de entrada. Sejam $p_1, p_2, p_3, \dots, p_Q$ os vetores de entrada (coluna 1, 2, 3, ... Q da matriz de entrada). Então $p^T(0) = (p_1)^T$, $p^T(1) = (p_2)^T$, $p^T(2) = (p_3)^T$, ..., $p^T(Q) = (p_Q)^T$, $p^T(Q+1) = (p_1)^T$, $p^T(Q+2) = (p_2)^T$, $p^T(Q+3) = (p_3)^T$,

As técnicas para escolha de α , que determina a magnitude dos ajustamentos dos pesos e da polarização, são descritas na literatura (Widrow, 1985).

2.2.4 Algoritmo de Backpropagation

Backpropagation é uma generalização do algoritmo de Widrow-Hoff para redes neurais com mais de uma camada. A primeira descrição de um algoritmo para treinar este tipo de rede está contida em uma tese de 1974 (Werbos, 1974). As redes apresentam pelo menos uma camada com função de transferência sigmóide (ver funções de transferência log-sigmoide e tan-sigmoide na Fig. 2.8, pg. 22) e uma camada de saída com função de transferência linear. São muito utilizadas para aproximação de funções. Uma rede com duas camadas, a primeira com função de transferência sigmóide e a segunda linear, pode ser treinada para aproximar qualquer função (Hornik, 1989). As redes com *backpropagation* são sensíveis ao número de neurônios em cada camada intermediária. No caso de aproximação de funções um número pequeno de neurônios resulta em um ajustamento com erro grande. Por outro lado um número excessivo de neurônios resulta em uma curva de ajustamento com muita oscilação em torno dos pontos experimentais.

Se a camada de saída apresentar neurônios sigmóides as componentes do vetor (ou matriz) de saída estarão limitados a um pequeno intervalo, e por esta razão são utilizados neurônios lineares. Redes com *backpropagation* treinadas tendem a responder satisfatoriamente a entradas desconhecidas. Redes com *backpropagation* normalmente apresentam mais de uma camada intermediária com neurônios sigmóides seguidos por uma camada linear de saída. Quanto maior o número de neurônios nas camadas intermediárias maior é a probabilidade de uma solução ser encontrada, porém maior é o tempo de treinamento da rede e maiores as dimensões das matrizes peso e de polarização daquela camada. Redes com múltiplas camadas de neurônios com funções de transferência não-lineares, como as redes com *backpropagation*, possibilitam o treinamento de relações não lineares entre entrada e saída.

Seja uma rede neural com M camadas (na Fig. 2.8 o valor de M é 3). A notação descrita a seguir, exemplificada na Fig. 2.8, pg.22, será utilizada nas equações de ajustamento das matrizes peso e dos vetores de polarização do algoritmo de *backpropagation*.

- $\mathbf{P}$ é a matriz de entrada com dimensão $R \times Q$
- $\mathbf{p}_1, \mathbf{p}_2, \mathbf{p}_3, \dots, \mathbf{p}_Q$ são os vetores de entrada da rede (coluna 1, 2, 3, ... Q da matriz de entrada).
- $\mathbf{n}^m$ é o vetor de entrada da camada m.
- $\mathbf{a}^m$ é o vetor de saída da camada m.
- $\dot{f}^m$ é a derivada primeira da função de transferência da camada m
- n_i^m é o i-ésimo elemento do vetor de entrada da camada m
- s^m é a sensibilidade da camada m (a sensibilidade é um parâmetro definido na dedução das equações de ajustamento).

Com base nessa notação mostra-se (Hagan, 1996) que o ajustamento é realizado segundo o seguinte procedimento:

- O vetor $\mathbf{p}_1$ é apresentado à rede, isto é,

$$\mathbf{a}^0 = \mathbf{p}_1 \quad (2.23)$$

$$\mathbf{a}^{m+1} = \mathbf{f}^{m+1}(\mathbf{W}^{m+1}\mathbf{a}^m + \mathbf{b}^{m+1}) \text{ para } m=0,1,\dots, M-1 \quad (2.24)$$

$$\mathbf{a} = \mathbf{a}^M \quad (2.25)$$

- As sensibilidades são propagadas no sentido saída $\Rightarrow$ entrada, isto é, da camada de saída para a primeira camada, conforme as equações 2.26 e 2.27.

$$\mathbf{s}^M = -2 \dot{\mathbf{F}}^M(\mathbf{n}^M)(\mathbf{t} - \mathbf{a}) \quad (2.26)$$

$$\mathbf{s}^m = \dot{\mathbf{F}}^m(\mathbf{n}^m)(\mathbf{W}^{m+1})^T \mathbf{s}^{m+1}, \text{ para } m = M-1, \dots, 2, 1 \quad (2.27)$$

$$\dot{\mathbf{F}}^m(\mathbf{n}^m) = \begin{bmatrix} \dot{f}^m(n_1^m) & 0 & \cdot & \cdot & \cdot & 0 \\ 0 & \dot{f}^m(n_2^m) & & & & 0 \\ \cdot & \cdot & & & & \cdot \\ \cdot & \cdot & & & & \cdot \\ \cdot & \cdot & & & & \cdot \\ 0 & 0 & \cdot & \cdot & \cdot & \dot{f}^m(n_{s^m}^m) \end{bmatrix} \quad (2.28)$$

O fato da sensibilidade da *camada m* ($\mathbf{s}^m$) ser calculada com base na sensibilidade da *camada m+1* ($\mathbf{s}^{m+1}$) é que deu origem a denominação *backpropagation* para este algoritmo.

- Finalmente as matrizes peso e os vetores de polarização são ajustadas:

$$\mathbf{W}^m(k+1) = \mathbf{W}^m(k) - \alpha \mathbf{s}^m (\mathbf{a}^{m-1})^T \quad (2.29)$$

$$\mathbf{b}^m(k+1) = \mathbf{b}^m(k) - \alpha \mathbf{s}^m \quad (2.30)$$

O algoritmo de *backpropagation* é lento para convergir. O **algoritmo de Levenberg-Marquardt** (Hagan, 1994) é uma variação de *backpropagation* que requer mais memória mas apresenta uma significativa diminuição no tempo de convergência. Este algoritmo foi utilizado no processamento dos dados experimentais em rede neural descritos nos itens 4.3 e 4.5.

2.3 Caracterização de Tecido Ósseo por Ultra-Som

2.3.1 Introdução

Dois métodos experimentais são usualmente utilizados para caracterização de tecido biológico por ultra-som: o **modo de reflexão** e o **modo de transmissão** (Fig. 2.13a e 2.13b, abaixo). No modo de reflexão um transdutor é transmissor e receptor e a energia é refletida em direção ao transdutor sempre que ocorre uma mudança na propriedade acústica do meio. É o modo utilizado na obtenção de imagens médicas por ultra-som. No modo de transmissão é utilizado um transdutor transmissor e um receptor. A propriedade acústica do tecido é obtida comparando-se o sinal recebido com um sinal de referência.

Fig. 2.13 - Técnicas experimentais de caracterização de tecido por ultra-som. Em **A** está esquematizado o modo de reflexão e em **B** o modo de transmissão (Kaufman, 1993).

As principais alterações que o meio pode causar na onda ultra-sônica são na quantidade de energia transmitida e na velocidade.

A) Alteração na Energia Transmitida (Atenuação)

A atenuação (α) de uma onda ultra-sônica é caracterizada por uma redução em amplitude. Dois mecanismos produzem atenuação: espalhamento e absorção. Devido ao espalhamento a amplitude é reduzida porque a energia foi direcionada para uma ou mais direções. A intensidade do espalhamento depende do comprimento de onda e das propriedades acústicas do meio de propagação. A forma mais comum de espalhamento é a reflexão que ocorre sempre que a energia ultra-sônica propaga-se de um meio para outro (ex: propagação de um tecido mole para o osso). Espalhamento mais complexo ocorre em materiais com não homogeneidade acústica, como o osso calcâneo, que é composto de uma camada externa e fina de osso cortical e internamente é osso trabecular preenchido com medula óssea. A absorção é

a conversão da energia ultra-sônica em calor e geralmente cresce com o aumento da frequência ultra-sônica. A relação entre o coeficiente de atenuação α e os coeficientes de espalhamento (α_s) e absorção (α_a) é dada pela equação (2.31):

$$\alpha = \alpha_s + \alpha_a \quad (2.31)$$

A atenuação específica (μ) de um material é esta relacionada com a sua espessura (d):

$$\mu = \alpha / d \quad (2.32)$$

A atenuação, expressa em dB ou neper, é função da frequência (Hz). Em muitos materiais, como plásticos e tecido biológico mole, a relação entre atenuação e frequência é linear em um largo intervalo de frequência. Para estes materiais, na curva de atenuação em função da frequência, no intervalo de linearidade, a inclinação da reta de regressão é o coeficiente de atenuação α que é expresso em dB/MHz ou Neper/MHz. Se a atenuação específica μ for considerada as unidades serão dB/cm-MHz ou Neper/cm-MHz. Se a atenuação de um material não puder ser caracterizada por uma relação linear com a frequência, funções polinomiais são utilizadas para se determinar a relação. No tecido ósseo a relação da atenuação ultra-sônica com a frequência é linear em um intervalo relativamente limitado de frequência.

A atenuação pode ser medida através dos modos de reflexão e transmissão. Para materiais de elevada atenuação, como o osso, o modo de transmissão é mais indicado porque a energia acústica atravessa o material uma única vez. É importante salientar que para materiais como o osso não existem relações analíticas entre a atenuação e resistência mecânica., ao contrário da velocidade.

B) *Alteração de velocidade*

A velocidade da onda depende das propriedades do meio e do modo de propagação. As ondas longitudinais são geralmente mais rápidas que as transversais e estas mais rápidas que as ondas de superfície. A velocidade é classificada em dois tipos (*Kaufman, 1993*): **velocidade de fase**, que se refere a velocidade de uma onda com uma única componente de frequência, e **velocidade de grupo**, que se refere a uma onda com infinitas componentes de frequência, como a gerada pela excitação de um transdutor por um pulso elétrico. Em alguns meios, como a água, as velocidades são iguais. Meios nos quais a velocidade de fase e de grupo não são iguais, como o osso, são denominados dispersivos. O osso trabecular é significativamente mais dispersivo que o osso cortical (*Lakes, 1986, Ashman, 1988*). Em materiais dispersivos como o osso as velocidades de fase e de grupo são dependentes da frequência. Consequentemente, valores diferentes de velocidade são obtidos dependendo do intervalo de frequência em que são calculadas.

Existem relações analíticas entre a velocidade do ultra-som e certos parâmetros biomecânicos do osso, tais como módulo de elasticidade (**E**) e resistência

à compressão (S_u). Quando o comprimento de onda é não muito menor que a seção transversal do tecido, e o meio é homogêneo e não dispersivo, a relação entre a velocidade longitudinal ultra-sônica (c), o módulo de elasticidade e a densidade física (ρ) é dada pela equação 2.33:

$$c = (E / \rho)^{1/2} \quad (2.33)$$

Esta equação não se aplica a materiais heterogêneos, anisotrópicos e dispersivos, como o osso, mas é utilizada como uma estimativa de primeira ordem de propriedades biomecânicas, conforme equação 2.34:

$$E \cong K\rho^\beta \quad (2.34)$$

O parâmetro K é uma constante e equações podem ser derivadas para relacionar a velocidade à E e ρ . Para o osso são válidas as seguintes equações :

$$E \cong K_1 c^{2\beta/(\beta-1)} \quad (2.35)$$

$$\rho \cong K_2 c^{2/(\beta-1)} \quad (2.36)$$

Carter and Hayes determinaram que $\beta=2$ (Carter, 1977) e Rice determinou que $\beta=3$ (Rice, 1988). A máxima resistência à compressão (S_u) está relacionada à velocidade segundo a equação 2.37 (Rice, 1988):

$$S_u = K_3 c^{2\beta/(\beta-1)} \quad (2.37)$$

2.3.2 Medida da Atenuação em Tecido Ósseo no Domínio da Frequência (Modo de Transmissão)

A) Técnica de Inserção Convencional

Nesta técnica são realizadas duas medidas relativas à um *signal de referência* e ao *signal da amostra*. Dois transdutores separados por uma distância d_t são coaxialmente posicionados na água. O transdutor transmissor é excitado por um pulso de curta duração, $u(t)$, e transmite um pulso ultra-sônico que se propaga na água. O sinal do transdutor receptor, $v_r(t)$, corresponde apenas a propagação na água. A expressão da magnitude da transformada de Fourier, $|V_r(f)|$, do sinal $v_r(t)$ é dada pela equação 2.38:

$$|V_r(f)| = T_t(f)T_r(f)|U(f)| \quad (2.38)$$

Na equação (2.38) $|T_t(f)|$ e $|T_r(f)|$ são a magnitude das funções de transferência dos transdutores de transmissão e recepção, respectivamente, $|U(f)|$ é a magnitude da transformada de Fourier do sinal de entrada, $u(t)$. A função de

transferência da água é adotada como sendo unitária, isto é, a água não tem efeito significativo na magnitude do espectro, $|V_r(f)|$, do sinal recebido, $v_r(t)$.

Se uma amostra óssea de espessura d é inserida entre os transdutores, e o transdutor de transmissão é excitado como mesmo sinal $u(t)$, a transformada de Fourier, $|V_s(f)|$, do sinal recebido, $v_s(t)$, é dada pela equação 2.39:

$$|V_s(f)| = T_t(f)T_r(f)|H(f)||U(f)| \quad (2.39)$$

Na equação (3.6) $|H(f)|$ é a magnitude da função de transferência da amostra óssea. Uma estimativa de $|H(f)|$ pode ser obtida dividindo-se as equações 2.39 e 2.38:

$$|H(f)| = \left| \frac{V_s(f)}{V_r(f)} \right| \quad (2.40)$$

A magnitude da função de transferência da amostra óssea $|H(f)|$ pode ser reescrita em termos da função atenuação $\alpha(f)$ como segue:

$$|H(f)| = e^{-\alpha(f)} \quad (2.41)$$

Alternativamente a função de atenuação específica $\mu(f) = \alpha(f)/d$ pode ser utilizada:

$$|H(f)| = e^{-\mu(f)d} \quad (2.42)$$

Uma estimativa de $\mu(f)$ pode ser obtida calculando-se o logarítmo da equação 2.40 e usando a equação 2.42:

$$\mu(f) = \frac{[\ln|V_s(f)| - \ln|V_r(f)|]}{d} \quad (2.43)$$

Se $\mu(f)$ for modelada por uma função linear, isto é,

$$\mu(f) = a + (DSA)f \quad (2.44)$$

então uma estimativa da atenuação diferencial específica (*DSA* ou *SDA*) é obtida através de uma regressão linear pelo método dos mínimos quadrados em um determinado intervalo de frequência. Este intervalo é escolhido em uma região onde $\mu(f)$ é proximadamente linear. *DSA* é expressa pela unidade $\text{dBcm}^{-1}\text{MHz}^{-1}$.

Na literatura é mais comumente utilizado o parâmetro *BUA* (broadband ultrasonic attenuaion), sendo $DSA = BUA/d$, onde d é a espessura da amostra óssea. As Fig. 2.14a à 2.14b, pg., 35, exemplificam as etapas do cálculo da *DSA* a partir dos sinais (Figs. 2.14a e 2.14c) e espectros (Figs. 2.14b e 2.14d) recebidos. A

DSA é calculada a partir do ângulo de inclinação (θ) da reta obtida após o ajustamento linear da curva de atenuação (Fig. 2.14e, pg.35) em um determinado intervalo de frequência (Fig. 2.14f, pg. 35).

B) *Técnica de Inserção por Contato*

As medidas ultra-sônicas no modo de transmissão podem ser realizadas utilizando-se gel de acoplamento ou uma almofada de gel, ao invés da água, entre os transdutores e a amostra óssea (Fig. 2.15, abaixo). Este tipo de medida, denominada técnica de contato, é descrita e exemplificada em um estudo experimental no item 4.1, que utilizou a almofada de gel, e em um estudo clínico no item 4.3, que utilizou o gel de acoplamento. Nesta técnica as equações 2.38 à 2.44 também podem ser utilizadas para a medida da atenuação, considerando-se que a função de transferência das almofadas de gel, ou do gel, em contato com a amostra óssea, é aproximadamente unitária em comparação com a magnitude da função de transferência da amostra óssea.

2.3.3 Medida da Velocidade em Tecido Ósseo (Modo de Transmissão)

A) *Técnica de Inserção Convencional*

A medida da velocidade pode ser realizada no domínio da frequência ou no domínio do tempo. No domínio da frequência o cálculo é realizado utilizando-se a fase do espectro do sinal recebido (Kaufman, 1995). Entretanto como vários estudos anteriores calcularam a velocidade no domínio do tempo decidiu-se neste estudo utilizar esta mesma técnica. O cálculo utiliza o princípio do tempo de chegada da energia do sinal recebido.

Fig. 2.15 - Técnica de inserção por contato para caracterização de tecido por ultra-som

Fig.2.14 - Exemplo de cálculo da atenuação a partir dos espectros dos sinais recebidos.

O tempo de chegada do sinal de referência e da amostra é definido como sendo o primeiro tempo no qual o sinal permanece acima de um nível pré-estabelecido. Sejam τ_s e τ_r o tempo de chegada do sinal com amostra e do sinal de referência, respectivamente, e v_s e v_r a velocidade do ultra-som na amostra óssea e no meio de referência, respectivamente. Sejam d_t , d e T_s a distância entre transdutores, o comprimento da amostra óssea e o tempo de trânsito do sinal ultra-sônico na amostra óssea, respectivamente. As seguintes equações podem ser escritas:

$$v_s = \frac{d}{T_s} \quad (2.45)$$

$$v_r = \frac{d_t}{\tau_r} \quad (2.46)$$

$$v_r = \frac{d_t - d}{\tau_s - T_s} \quad (2.47)$$

Substituindo-se as equações 2.45 e 2.46 na equação 2.47 obtém-se a equação da medida da velocidade do ultra-som na amostra óssea:

$$v_s = \frac{1}{\frac{1}{v_r} - \frac{(\tau_r - \tau_s)}{d}} \quad (2.48)$$

O valor da velocidade depende da referência para determinação dos tempos de chegada τ_s e τ_r . É conveniente determinar os valores de τ_s e τ_r usando-se o envelope do sinal recebido. Este envelope é determinado pela Transformada de Hilbert do sinal, como exemplificado nas Figs 2.16a e 2.16b, pg. 38. Nos estudos descritos nos itens 4.1 à 4.4 são utilizadas diferentes referências, conforme sumarizado na Tabela 2.4, abaixo. $A_{\max}$ é o valor máximo do envelope do sinal, M o valor médio do ruído do envelope do sinal e SD o desvio padrão do ruído do envelope do sinal.

Tabela 2.4 - Referências para cálculo da velocidade de grupo

Referência	Denominação adotada da Velocidade de Grupo
$A_{\max}$	V^1
$0.2 A_{\max}$	$V^{0.2}$
$0.1 A_{\max}$	$V^{0.1}$
$10SD+M$	V^{10}
$5SD+M$	V^5
$3SD+M$	V^3
$3SD$	V

B) Técnica de Inserção por Contato

Nesta técnica a equação 2.48 da velocidade do ultra-som na amostra óssea deve ser alterada para levar em conta a presença de uma almofada de gel. Seja T o tempo de chegada do ultra-som após se propagar pelas almofadas de gel e a amostra óssea, T_{gel} o tempo de trânsito do ultra-som após nas almofadas de gel, e v a velocidade do ultra-som ao atravessar as almofadas de gel e a amostra óssea. As seguintes equações podem ser escritas:

$$v_s = \frac{d}{T - T_{gel}} = \frac{d}{\frac{d_t}{v} - \frac{(d_t - d)}{v_{gel}}} = \frac{dv_{gel}v}{v_{gel}d_t - v(d_t - d)} \quad (2.49)$$

$$v = \frac{d_t}{\tau_s} = \frac{d_t}{\tau_r + \tau_s - \tau_r} = \frac{d_t}{\frac{d_t}{v_r} + \tau_s - \tau_r} = \frac{v_r d}{d_t + v_r(\tau_s - \tau_r)} \quad (2.50)$$

A velocidade do ultra-som na almofada de gel utilizada no estudo descrito no item 4. pode ser determinada pela técnica de inserção e seu valor é $v_{gel}=1621.5 \text{ ms}^{-1}$.

2.3.4 Frequência Instântanea de um Sinal

Seja um sinal $x(t)$ no domínio do tempo. A transformada de Hilbert de $x(t)$ é uma função complexa $x_+(t)$, denominada função analítica, definida pela equação (2.51):

$$x_+(t) = x(t) + j \Omega(t) \quad (2.51)$$

Na equação (2.51) a função $\Omega(t)$ é dada pela equação (2.52):

$$\Omega(t) = \frac{1}{\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{x(\tau)}{t - \tau} d\tau \quad (2.52)$$

A transformada de Hilbert é útil para se extrair propriedades instântneas de um sinal no tempo, especialmente amplitude e frequência. A amplitude instântnea é a amplitude da transformada de Hilbert. A frequência instântnea é a taxa de variação no tempo do ângulo de fase instântneo da transformada de Hilbert, isto é:

$$\frac{d\phi(t)}{dt} = w_i \quad (2.53)$$

A equação (2.53) pode ser reescrita em termos da frequência:

$$\frac{1}{2\pi} \frac{d\phi(t)}{dt} = f_i \quad (2.54)$$

(a)

(b)

Fig. 2.16 - Sinal recebido no domínio do tempo (a) o seu envelope (b).

Para sinais discretizados no tempo a derivada é substituída pela diferença finita:

$$\frac{d\phi(t)}{dt} = \frac{\phi(n+1) - \phi(n)}{t_s} \quad (2.55)$$

onde $\phi(i)$ é o valor da fase na amostra i e t_s é o tempo de amostragem do sinal. Em termos de frequência obtêm-se:

$$f_i = \frac{\phi(n+1) - \phi(n)}{2\pi t_s} \quad (2.56)$$

O espectro de fase do sinal analítico é utilizado para calcular a média da frequência instantânea de um sinal (MIF). Este cálculo é exemplificado nas Fig. 2.17a à 2.17c, pg. 40, que mostram, respectivamente, um sinal recebido no domínio do tempo), a frequência instantânea do sinal (f_i), e a janela da frequência instantânea que é selecionada em torno do pico de frequência, e cuja largura é determinada pelos pontos que estão 3dB à esquerda e à direita desta pico. O valor médio da frequência instantânea nesta janela é a MIF do sinal.

Fig.2.17 - Exemplo de cálculo da média da frequência instantânea de um sinal.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: CARACTERIZAÇÃO DE TECIDO ÓSSEO POR ULTRA-SOM PARA DIAGNÓSTICO DE OSTEOPOROSE

As técnicas de densitometria óssea baseadas em radiação ionizante (ver item 2.1) não fornecem informação sobre a estrutura e resistência mecânica óssea. O que diferencia a técnica ultra-sônica das técnicas de medida da BMD por radiação ionizante é o fato do energia acústica ser modificada pela estrutura, composição e densidade óssea de modo que outras informações sobre o tecido ósseo podem ser acessadas (*Kaufman et al., 1993a*).

Estudos com osso trabecular humano e bovino mostraram um forte correlação entre resistência mecânica e densidade (*Carter, 1977*) e que 75-80% da resistência é devido à densidade (*Smith et al., 1976*). Apesar desta forte correlação, 25 a 30% da resistência mecânica depende de fatores como microestrutura óssea (*Kleerekoper, 1985*) e arquitetura (*Turner, 1988*). O conjunto de fatores densidade, microestrutura e arquitetura é normalmente denominado **qualidade óssea**. A medida da BMD não tem correlação com os fatores citados. O uso de energia acústica na forma de ultra-som tem sido investigada com o objetivo de avaliar estes fatores.

A velocidade ultra-sônica está relacionada ao módulo de elasticidade e à resistência de compressão do material (ver Cap. 2). Estudos mostraram evidências que a atenuação (BUA - broadband ultrasound attenuation) está relacionada à arquitetura e densidade do tecido (*Jones et al., 1987; Langton et al., 1991*). A atenuação tem alta correlação com o volume de osso trabecular (*Agren et al., 1991*). A atenuação ultra-sônica depende da porosidade e conectividade do tecido (*Gluer et al., 1994*), da orientação das trabéculas, sendo maior ao longo do eixo de compressão das trabéculas (*Gluer et al., 1993*). A velocidade é influenciada pela porosidade do tecido ósseo (*Chiabrera et al., 1996; Gluer et al., 1994*).

Vários instrumentos ultra-sônicos para a caracterização de tecido ósseo, utilizando o calcânhar como sítio anatômico, foram desenvolvidos para investigação clínica por diferentes empresas (Lunar Corp., EUA; Walker-Sonix, EUA; McCue, Inglaterra). Estes instrumentos são muito menores que os densitômetros por radiação ionizante, incluem hardware para aquisição e análise automática dos dados, e o tempo de medida varia entre 3-10 minutos. O meio de propagação do ultra-som é a água quando os transdutores são fixos, ou o gel quando os transdutores são ajustáveis. A Tabela 3.1, pg. 43, mostra os valores de reprodutibilidade das medidas (quociente entre a média e o desvio padrão) ultra-sônicas em estudos clínicos e in-vitro.

O primeiro estudo clínico sobre a caracterização de tecido ósseo por ultra-som para o diagnóstico de osteoporose foi publicado na década de 80 (*Langton et al., 1984*). O estudo mostrou que os valores de BUA, calculados no intervalo 200KHz-600KHz, são significativamente diferentes em pacientes normais e osteoporóticos. Numerosos estudos clínicos investigaram a caracterização de tecido ósseo por ultra-som (*Baran et al., 1988; Rossman et al., 1989; McCloskey et al., 1990a; Agren et al., 1991; Baran et al., 1991; Zagzebski et al., 1991; Gluer et al., 1992; Waud*

et al.,1992; *Damilakis et al.*,1992; *Roux et al.*,1993; *Palacios et al.*,1993; *Lees et al.*,1993; *Herd et al.*,1993; *Hans et al.*, 1993; *Blake et al.*,1994; *Mautalen et al.*,1995).

Pelo fato da energia ultra-sônica assessorar outras propriedades além da densidade, é de se esperar que medidas ultra-sônicas em um determinado sítio anatômico não tenham alta correlação com medida densitométrica no mesmo sítio. Um estudo clínico mediu no calcânhar a correlação entre a densidade mineral óssea (BMD, utilizando-se SPA-single photon absorptiometry) e a BUA e a velocidade, obtendo $r=0.51$ e $r=0.72$, respectivamente (*Zagzebski et al.*, 1991). Usando-se SXA (single-energy x-ray absorptiometry) no calcânhar de 25 mulheres obteve-se uma correlação $r=0.72$ entre a BMD e a BUA (*Gluer et al.*,1992), e uma correlação $r=0.66-0.8$ entre BMD e BUA em outros estudos que usaram DEXA (dual-energy x-ray absorptiometry) nas medidas densitométricas (*Roux et al.*,1993; *Palacios et al.*,1993). Um outro estudo com 64 mulheres caucasianas, também usando DEXA, determinou a correlação entre BMD e os parâmetros BUA e velocidade obtendo $r=0.73$ e $r=0.66$, respectivamente (*Waud et al.*,1992).

A Tabela 3.2, pg. 44, sumariza as correlações clínicas entre medidas ultra-sônicas medidas no calcânhar e a BMD medida por DEXA em outros sítios anatômicos (cabeça. femural, vértebra lombar e calcânhar). A Tabela 3.3, pg. 45, sumariza a correlação clínica entre medidas ultra-sônicas medidas no calcânhar e a BMD medida por SPA, DPA e QCT em outros sítios anatômicos (cabeça. femural, vértebra lombar, calcânhar e antebraço). A razão da discrepância nos resultados de correlação entre estudos, nos mesmos sítios anatômicos, pode ser devido as diferenças nas técnicas de medidas ultra-sônicas (diâmetro e frequência nominal dos transdutores; distância entre transdutores; intervalo de frequência utilizado para cálculo da atenuação; acoplamento dos transdutores ao corpo via contato direto ou água).

Um estudo in-vitro com calcâneo comparou a correlação entre a medida de densidade por QCT e a medida da BUA, relatando um coeficiente de correlação $r=0.92$ no intervalo de frequência de 200KHz-600KHz. Os estudos que correlacionam medida densitométrica com medidas ultra-sônicas sugerem que a BMD contribui com aproximadamente 45-50% dos valores medidos de BUA e de velocidade (*Baran et al.*,1995).

A correlação $r=0.74$ entre BUA e velocidade em humanos sugere que estes parâmetros medem propriedades diferentes ou que não são influenciados pelos mesmos componentes do tecido ósseo (*Waud et al.*,1992; *Herd et al.*, 1993).

Ambos os parâmetros BUA (*Baran et al.*,1988; *McCloskey et al.*,1990; *Baran et al.*, 1991; *Damilakis et al.*,1992; *Palacios et al.*,1993; *Herd et al.*,1993; *Schott et al.*,1993; *Salamone et al.*, 1994; *VanDaele et al.*,1994) e velocidade (*Schott et al.*,1993; *VanDaele et al.*,1994) decrescem com a idade na mulher. Um decréscimo de 15% nos valores da BUA foi observado em mulheres entre as idades de 48-78 anos (*Langton et al.*, 1991).

Tabela 3.1 - Reprodutibilidade de medidas ultra-sônicas

Sítio de medida	BUA		Velocidade		Instrumento
	Reprodutibilidade (curto prazo)	Reprodutibilidade (longo prazo)	Reprodutibilidade (curto prazo)	Reprodutibilidade (longo prazo)	
Calcânhar (in-vivo)	2.10 (Evans et al., 1987)	4.6 (Evans et al., 1987)			Walker-Sonix
	2.20 (Gluier et al., 1991)	3.90 (Porter et al., 1990)			Walker-Sonix
	1.50 (Mazess, 1991a)	1.50-3.00 (Mazess et al., 1991)	0.30 (Mazess et al., 1991)	0.50 (Mazess et al., 1991)	Lunar
	0.96-1.42 (Lees et al., 1992)		0.17-0.20 (Lees et al., 1992)		Lunar
	5.00 (Eastell et al., 1992)				McCue
	2.60 (Massie et al., 1992)				NE
	3.80 (Palmer et al., 1988)				NE
Calcâneo (in-vitro)	2.60 (Baran et al., 1988)				Walker-Sonix
	2.40 (McCloskey, 1990b)				Walker-Sonix
	2.50 (Mckelvie, 1989)	2.20 (Mckelvie, 1989)			NE
Phantom	1.30 (McCloskey, 1990b)				Lunar
	1.30 (Baran et al., 1988)				
	1.30 (Mazess, 1991a)			0.40	Lunar NE
	0.88 (Lees et al., 1992)		0.30 (Lees et al., 1992)		NE

Legenda: NE - não especificado

Valores normativos de BUA em mulheres foram relatados na literatura, utilizando-se o mesmo instrumento e em três populações diferentes (*Damilakis et al., 1992; Palacios et al., 1993; Salamone et al., 1994*). Nos três estudos uma mulher foi classificada como normal na ausência de fratura e de dor nas costas. *Damilakis* estudou 93 mulheres gregas com idade entre 25-87 anos; *Palacios* estudou 111 mulheres hispânicas com idade entre 30-70 anos, e *Salamone* examinou 259 mulheres do Cáucaso entre 45-76 anos. Os valores de BUA obtidos para uma determinada idade faixa etária foram similares.

Os valores de BUA decrescem significativamente em mulheres com osteoporose (*Baran et al., 1988; Baran et al., 1991; Damilakis et al., 1992; Roux et al., 1993; Lees et al., 1993*). Após a menopausa o decréscimo em BUA é prevenido pelo uso da terapia de reposição de estrógeno (*Houde et al., 1994*).

Tabela 3.2 - Correlação entre medidas ultra-sônicas no calcânhar e BMD medida por DEXA em diversos sítios anatômicos

Sítio de medida da BMD	BUA/DEXA	Velocidade/DEXA	Instrumentação Ultra-sônica
Cólo femoral	0.60 (Truscott et al., 1992)		Walker-Sonix
	0.68 (Agren et al., 1991)		Walker-Sonix
	0.52* (Reid et al., 1991)		Walker-Sonix
	0.18** (Reid et al., 1991)		Walker-Sonix
	0.78 (Mazess et al., 1991a)	0.79 (Mazess et al., 1991)	Lunar
	0.52 (Lees et al., 1992)	0.57 (Lees et al., 1992)	Lunar
		0.23 (Eastell et al., 1992)	McCue
Vértebra Lombar	0.72 (McCloskey, 1990a)		Walker-Sonix
	0.61 (Truscott, 1992)		Walker-Sonix
	0.64 (Naylor et al., 1991)		Walker-Sonix
	0.61 (Agren et al., 1991)		Walker-Sonix
	0.46 (Reid et al., 1991)		Walker-Sonix
	0.89 (Mazess et al., 1991a)	0.83 (Mazess, 1991b)	Lunar
	0.54 (Lees et al., 1992)	0.60 (Lees et al., 1992)	Lunar
	0.51 (Eastell et al., 1992)		McCue
Calcânhar	0.66 (Waud et al., 1992)	0.74 (Waud et al., 1992)	Walker-Sonix
	0.88 (Mazess, 1991a)	0.86 (Mazess, 1991a)	Lunar

Legenda: * pacientes normais; ** pacientes osteoporóticos

Há um grande interesse em se avaliar o potencial do ultra-som em prever o risco de fratura em um paciente. Um estudo com 840 mulheres com mais de 65 anos, 32 das quais tiveram fratura na cólo femoral durante o período de estudo, determinou que a atenuação média neste grupo de mulheres foi significativamente menor que no grupo onde não ocorreu fraturas (Miller, 1987). Resultados similares foram obtidos em outro estudo envolvendo pacientes osteoporóticos, onde se determinou que valores de atenuação menores ou iguais que 50 dB/MHz diferenciaram em 80% dos casos os pacientes que apresentavam fratura na cólo femoral (Baran, 1988). Em um estudo prospectivo com 1414 mulheres mostrou-se que o risco de ocorrência de fratura da cólo femoral foi maior entre aquelas com os valores mais baixos de BUA (Porter et al., 1990).

Tabela 3.3 - Correlação (r) entre medidas ultra-sônicas no calcânhar e BMD medida por QCT, DPA e SPA em diversos sítios anatômicos

Sítio de medida da BMD	BUA/QCT	BUA/DPA	BUA/SPA	Velocidade/DPA	Velocidade/SPA	Instrumento
Cólo Femoral		0.45-0.59 (Baran, 1988) 0.41 (Rossman, 1989)		0.52		Walker-Sonix Protótipo Lunar
Vértebras Lombares	0.25 (Resch, 1990) 0.92 (Kaufman, 1992)	0.77 (Porter, 1990) 0.48-0.61 (Baran, 1988) 0.66 (Rossman, 1989) 0.69 (Kaufman, 1992)		0.63 (Rossman, 1989)		Walker-Sonix Walker-Sonix Protótipo Lunar Protótipo
Calcânhar	0.56 (Zagzebsky, 1991) 0.80 (McCloskey, 1990b) 0.50 (Evans, 1987)		0.68 (Gluer, 1991)	0.72 (Zagzebsky, 1991)		NE Walker-Sonix Walker-Sonix
Ante-braço	0.85^A (Hosie, 1987) 0.66^{AD} (Hosie, 1987)	0.56^{TMR} (Evans, 1987)	0.38^{TMR} (Evans, 1987) 0.14 (Resch, 1990) 0.64^A (Rossman, 1989) 0.81^A (Palmer, 1988)	0.80^{AD} (Poll, 1986)	0.66^A (Rossman, 1989)	Walker-Sonix Walker-Sonix Walker-Sonix Walker-Sonix Protótipo Lunar NE

Legenda: A - antebraço; AD - antebraço distal; TMR - terço médio distal; NE - não especificado

A correlação entre medidas densitométricas e medidas ultra-sônicas foi investigada em estudos com osso animal (Gluer et al., 1993; Tavakoli et al., 1992; Tavakoli et al., 1991). No estudo de Tavakoli foram usados 44 amostras de osso trabecular femoral bovino, e a correlação entre densidade física com velocidade e com a BUA foram $r=0.85$ e $r=0.33$, respectivamente.

Estudos in-vitro foram realizados com o objetivo de deduzir a relação entre velocidade ultra-sônica e parâmetros biomecânicos. Utilizando o modo de transmissão em amostras de osso cortical humano e bovino, Abdenshein e Hyatt observaram uma elevada correlação entre módulo elástico determinado

ultrasonicamente e mecanicamente (*Abdenshein, 1970*). Os resultados foram comprovados por Ashman ao estudar as propriedades elásticas de osso cortical (*Ashman, 1984*). Estudos mais recentes com amostras de osso trabecular humano e bovino obtiveram correlações entre a velocidade e a máxima resistência à compressão (S_u) de 0.71 a 0.75 (*Ashman, 1988; Turner, 1991*).

Um estudo animal (*Langton et al., 1990*) e outro clínico (*Herd et. al., 1993*), utilizando a técnica de contato investigaram o uso de gel, em lugar da água, nas medidas ultra-sônicas. O estudo de Langton, no terceiro metacarpo equino, determinou a velocidade do ultra-som em osso cortical (diáfise media) e trabecular (metáfise) com e sem a contribuição do tecido mole. As medidas com a contribuição do tecido mole utilizaram a tecnica de transmissão. A contribuição do tecido mole foi determinada através de medidas com a técnica de pulso-eco. Os valores médios de velocidade, com e sem a contribuição do tecido mole, são significativamente diferentes tanto no sítio anatômico cortical quando trabecular. O estudo de Herd, utilizando o instrumentação do fabricante McCue (Inglaterra), determinou que a reprodutibilidade média da medida de BUA e velocidade, 6.3% e 1.04% , respectivamente, é pior que a dos sistemas que utilizam a água como meio acoplante. Herd e demais autores do trabalho atribuem a dois fatores os resultados obtidos: o número de medidas realizadas não foi suficiente, e o posicionamento do calcânhar entre os transdutores não foi satisfatório.

A influência da medula óssea (tecido que preenche o espaço entre as trabéculas ósseas) nas medidas ultra-sônicas no calcânhar foi investigada em um estudo in-vitro com calcâneo humano, com phantoms e com pacientes (*Kotzki et al., 1994*). Utilizando-se a instrumentação do fabricante Lunar (EUA) os resultados mostraram que a medula óssea altera o valor da velocidade mas não o valor da BUA, e que não há uma correlação significativa entre BUA e a largura do calcânhar. Esta correlação não significativa foi também confirmada por outro estudo in-vitro (com osso trabecular do humero bovino) e clínico (*Wu et al., 1995*).

Os fatores que afetam a reprodutibilidade das medidas ultra-sônicas (tempo de imersão, altura da coluna de água, temperatura da água, concentração de um detergente adicionado a água, rotação do calcânhar , translação ao longo do tanque, ...) foram avaliados em estudo clínico que utilizou instrumentação da Walker-Sonix (EUA) em que a água é o meio acoplante (*Evans et al., 1995*). Os autores concluíram que o posicionamento do calcânhar é o fator mais limitante.

4. RESULTADOS EXPERIMENTAIS

4.1 *Estudo In-Vitro I com Osso Bovino e Humano*

A literatura mostra que estudos in-vitro sobre a caracterização ultra-sônica de tecido ósseo utilizaram amostras ósseas cujas densidades variam em um intervalo relativamente pequeno. No estudo a seguir descrito (ver Apêndice), e que foi recentemente divulgado (*Alves et al.*, 1995a) e publicado (*Alves et al.*, 1996a), a utilização de amostras ósseas extraídas do terço distal de fêmur bovino e da vértebra lombar de cadáveres permitiu obter um intervalo maior de densidades. A atenuação da energia ultra-sônica foi investigada em um intervalo maior (300KHz-1.2MHz) que o normalmente citado na literatura (200KHz-600KHz). A correlação entre medidas densitométricas e ultra-sônicas foi determinada comparando-se modelos de regressão linear univariável e multivariável. Foi também analisada a viabilidade de usar o osso trabecular bovino como modelo do osso trabecular humano para investigar a caracterização ultra-sônica de tecido ósseo.

4.1.1 Preparo das amostras ósseas

a) Amostras Bovinas

Vinte e quatro amostras ósseas cilíndricas com de diâmetro de 2.7cm e espessura de 0.8 cm foram obtidas do côndilo medial e lateral da região distal do fêmur bovino jovem (Fig. 4.1, pg. 49) utilizando-se serra de fita, serra copo e serra circular sob constante irrigação (Fig. 4.2, pg. 49, e 4.3, pg. 50). Vários sítios anatômicos foram investigados para a retirada da amostra óssea. A placa de crescimento ósseo, presente nas regiões distal e proximal dos ossos longos bovinos, foi o maior obstáculo para a obtenção de amostras homogêneas e com diâmetro satisfatório. Os côndilos femurais foram escolhidos por satisfazerem essas duas condições. A medula óssea foi removida utilizando-se uma solução de etil-metil-isopropil e acetona na proporção 3:1 respectivamente. Recipientes plásticos contendo as amostras imersas na referida solução foram colocados e um tanque ultra-sônico de limpeza para acelerar a remoção da medula. Foram necessários 100 horas e 5 trocas da solução para a remoção da medula. As amostras foram mantidas em solução salina 0.9% e mantidas em refrigerador à 4°C (Fig. 4.4 pg. 50) até a realização das medidas ultra-sônicas. Para garantir a total saturação dos poros as amostras foram submetidas à vacuo antes das medidas ultra-sônicas

b) Amostras Humanas

Amostras ósseas de um estudo in-vitro foram emprestadas para a realização do estudo descrito a seguir (*Lin et al.*, 1993). As amostras foram extraídas de vértebras lombares de cadáveres no intervalo máximo de 3 horas após a morte. Foram obtidas 27 vértebras de 14 cadáveres, com idade entre 35 e 93 anos. Um cilindro ósseo de 2.1 cm de diâmetro foi retirado da região central da vértebra com o uso de serra copo sob constante irrigação. As corticais ósseas de pequena espessura presentes em ambas as extremidades da amostra foram removidas para obtenção de amostra trabecular, usando-se uma serra de baixa rotação (Buehler Isomet).

A medula óssea foi então removida enxaguando-se as amostras em água morna, mantendo-as em xileno por aproximadamente 48 horas, e enxaguando-as novamente em água. Elas foram mantidas à -20°C até a realização das medidas ultra-sônicas. O estudo de Lin mostrou que a manutenção das amostras em formalina ou baixa temperatura têm pequena influência nas medidas ultra-sônicas.

4.1.2 Densitometria Óssea

A densidade mineral das amostras foi medida pelo absorvômetro de um fóton (modelo 2780, Norland Corp, WI, EUA) mostrado na Fig.2.2, pg 12. A técnica de medida da BMD é descrito a seguir:

1) A área da amostra óssea, mostrada proporcionalmente na Fig. 4.5, pg. 51, foi dividida em 8 regiões, para a medida das amostras bovinas, e em 6 regiões, para a medida das amostras humanas, devido ao diâmetro do colimador. A área menor à esquerda e à direita da Fig. 4.5 foram consideradas com a mesma densidade da área adjacente.

2) A amostra óssea foi posicionada entre a fonte e o detetor de radiação com a superfície circular perpendicular à direção de radiação. A medida da BMD é realizada com a amostra imersa em um recipiente com água especialmente projetado para medida de amostras ósseas. A amostra óssea é mantida fixa no interior do recipiente.

3) A linha cheia de cada região de medida da Fig. 4.5 representa a linha percorrida pelo centro do colimador à medida que o colimador se movimenta ao longo área de medida. As linhas tracejadas delimitam a área medida. Após a medida de uma determinada área a amostra óssea é deslocada 3.2cm para à esquerda utilizando-se um parafuso micrométrico cujo deslocamento é medido com precisão de 1/100mm.

4) A partir da BMD de cada área (g/cm²) calculou-se a BMD da amostra óssea utilizando-se uma média ponderada com base na área de cada região de medida. A densidade mineral óssea em g/cm³ (BD) é obtida dividindo-se a BMD da amostra pela espessura da mesma.

4.1.3 Medidas Ultra-Sônicas

O desenho esquemático da vista lateral e superior do dispositivo para as medidas ultra-sônicas, confeccionado com lucite, é mostrado nas Figs. 4.6 e Fig. 4.7, pg. 52. O dispositivo é mergulhado em um tanque de água à temperatura ambiente.

Cada amostra óssea foi medida ultrasonicamente com a técnica de transmissão. A amostra foi colocada em um tanque com água entre dois transdutores não focalizados de 0.75" (1.9 cm) de diâmetro com frequência nominal de 0.5 MHz (modelo V318-SU, Panametrics Inc, MA, EUA).

Fig. 4.1 - Sítio anatômico bovino de retirada das amostras

Fig. 4.2 - Etapas de obtenção da amostra de osso trabecular bovino

Fig. 4.3 - Etapa final de obtenção da amostra óssea com serra circular

Fig. 4.4 - Amostras ósseas trabeculares bovinas sem medula óssea em solução salina

Fig. 4.5 - Esquematização da técnica de medida da BMD das amostras ósseas

A amostra foi posicionada à 3 cm do transdutor transmissor, o que corresponde a transição entre o campo acústico próximo e distante, e coaxialmente posicionada entre os transdutores. Os transdutores foram mantidos a uma distância de 6.9cm. Uma placa geradora de pulso do tipo *plug-in* para microcomputadores (modelo SR9000, Matec Inc, MA, EUA) foi utilizada para excitar o transdutor transmissor (Fig. 4.8, pg. 53) e receber o sinal do transdutor receptor.

Os sinais recebidos foram coletados em outra placa tipo *plug-in* (Fig. 4.9, pg. 53) que é osciloscópio digital (modelo Compuscope 220, Gage Applied Science Inc, Montreal, Canada). Os sinais foram amostrados com uma frequência de 40MHz, e armazenados em microcomputador portátil (486DX-66MHz) para posterior processamento. Na Fig. 4.10, pg. 53, é mostrado o sistema portátil de medidas ultra-sônicas que inclui o dispositivo de alinhamento e contenção dos transdutores e da amostra óssea, e o microcomputador contendo as placas *plug-in*.

Os sinais recebidos foram processados através de rotinas escritas em linguagem de um aplicativo de cálculo numérico (Matlab 4.0, The Mathworks Inc., MA, EUA). O cálculo da atenuação diferencial específica (*DSA*) foi determinada no domínio da frequência usando-se a transformada discreta de Fourier (ver item 2.3.2a). A velocidade do ultra-som na amostra foi calculada no domínio do tempo usando-se o tempo de chegada/técnica de inserção (ver item 2.3.3a). Três medidas ultra-sônicas em cada amostra óssea foram realizadas, com reposicionamento da amostra em cada uma delas.

Legenda: 1) transdutor receptor; 2) transdutor transmissor; 3) amostra óssea; 6) cilindro para alinhamento do transdutor receptor; 7) cilindro para alinhamento do transdutor transmissor; 8) câmara de medida; 9) parafuso de fixação do transdutor; 10) cabo do transdutor; 11) parafuso de compressão; 13) dispositivo de alinhamento da amostra óssea.

Fig. 4.6 - Desenho esquemático da vista lateral do dispositivo de medidas ultra-sônicas

Legendas: 3) amostra óssea; 6) cilindro para alinhamento do transdutor receptor; 7) cilindro para alinhamento do transdutor transmissor; 8) câmara de medida; 11) parafuso de compressão; 13) dispositivo de alinhamento da amostra óssea.

Fig. 4.7 - Desenho esquemático da vista superior do dispositivo de medidas ultra-sônicas

Fig. 4.8 - Desenho esquemático da placa *plug-in* do gerador de pulso

Fig. 4.9 - Desenho esquemático da placa *plug-in* do osciloscópio digital

As medidas ultra-sônicas foram também realizadas com um segundo par de transdutores não focalizados com diâmetro de 1.9 cm e frequência nominal de 1MHz (modelo V314-SU, Panametrics). A amostra foi posicionada à 6 cm do transdutor transmissor, o que corresponde a transição entre o campo acústico próximo e distante, e coaxialmente posicionada entre os transdutores.

Dois intervalos de frequência foram escolhidos para determinação da *DSA*: o intervalo 300KHz-700KHz para sinais coletados com o par de transdutores de 0.5 MHz, e o intervalo 800KHz-1.2MHz para sinais coletados com o par de transdutores de 1MHz.

A influência das paredes da câmara de medidas ultra-sônicas na propagação do ultra-som foi determinada comparando-se formas de ondas do sinal de referência (água) com e sem a presença da câmara. Nenhuma diferença foi observada.

Fig. 4.10 - Sistema portátil de medidas ultra-sônicas

4.1.4 Análise de Correlação e Estatística

Técnicas de regressão linear univariável e multivariável foram utilizadas para determinar os coeficientes de correlação. A significância das regressões foi determinada por um aplicativo estatístico (SigmaPlot, Jandel Scientific, CA, EUA). Por exemplo, a equação de regressão multivariável que permite calcular a densidade (BD) como função da velocidade (v) e da atenuação (DSA) é baseada na equação 4.1 a seguir:

$$BD = A + Bv + C DSA \quad (4.1)$$

onde A , B e C são os coeficientes de regressão determinados pelo método dos mínimos quadrados. A eficiência da regressão é avaliada pelo erro médio absoluto percentual (AAPE) entre o valor real da densidade e o valor estimado pela equação de regressão.

4.1.5 Resultados

A Fig. 4.11 (a)-(e), pg. 57, mostra os sinais recebidos e os respectivos espectros, com e sem a amostra óssea, e a curva de atenuação usando-se o par de transdutores 0.5MHz/0.75". A Fig. 4.12 (a)-(e), pg.58, mostra os sinais recebidos e os respectivos espectros, com e sem a amostra óssea, e a curva de atenuação usando-se o par de transdutores 1MHz/0.75".

a) Amostras Ósseas Humanas

A densidade das amostras humanas variaram de 0.057 à 0.142 g/cm³. A Tabela 4.1 (Anexo) descreve as densidades medidas das amostras humanas. Para o par de transdutores de 0.5 MHz (0.75") a velocidade variou de 1447 à 2019 m/s (Fig. 4.13, pg. 59) e a de atenuação variou de 8.5 à 47 dBcm⁻¹MHz⁻¹ (Fig. 4.14, pg. 59). Os coeficientes de correlação foram $r=0.91$ ($P<0.0001$) e $r=0.89$ ($P<0.0001$)

para a velocidade e DSA, respectivamente. Para o par de transdutores de 1 MHz (0.75") a velocidade variou de 1469 à 2343 m/s (Fig. 4.15, pg. 59) e a atenuação variou de 2.6 à 22 dBcm⁻¹MHz⁻¹ (Fig. 4.16, pg. 59). Os coeficientes de correlação foram r=0.89 (P<0.0001) e r=0.81 (P<0.001) para a velocidade e DSA, respectivamente.

A Tabela 4.2, abaixo, descreve o erro médio absoluto percentual (AAPE) na determinação da BD em dois intervalos de frequência.. No intervalo 300KHz-700KHz a regressão multivariável, utilizando-se a velocidade e a DSA, reduziu em 11% o erro AAPE em relação a regressão univariável de menor erro, enquanto que no intervalo 0.8MHz-1.2MHz esta redução foi de 19%.

b) Amostras Ósseas Bovinas

A densidade das amostras bovinas variaram de 0.19 à 0.45 g/cm³. A Tabela 4.3 (Anexo) descreve as densidades medidas das amostras bovinas. Para o par de transdutores de 0.5 MHz (0.75") a velocidade variou de 1510 à 1867 m/s (Fig. 4.17, pg. 60) e a de atenuação variou de 12 à 35 dBcm⁻¹MHz⁻¹ (Fig. 4.18, pg. 60). Os coeficientes de correlação foram r=0.85 (P<0.0001) e r=-0.17 (P<0.44) para a velocidade e DSA, respectivamente. Para o par de transdutores de 1 MHz (0.75") a velocidade variou de 1521 à 1914 m/s (Fig. 4.19, pg. 60) e a atenuação variou de 42 à 76 dBcm⁻¹MHz⁻¹ (Fig. 4.20, pg. 60). Os coeficientes de correlação foram r=0.90 (P<0.0001) e r=0.31 (P<0.15) para a velocidade e DSA, respectivamente.

Tabela 4.2 - Erro médio absoluto percentual na determinação da BD através de regressão linear univariável e multivariável (amostras ósseas de vértebra lombar)

Transdutor (intervalo de frequência)	Análise Univariável (Velocidade versus BD)	Análise Univariável (Atenuação versus BD)	Análise Multivariável (Velocidade e Atenuação versus BD)
500KHz/0.75" (300KHz-700KHz)	9.4	10.5	8.4
1MHz/0.75" (0.8MHz-1.2MHz)	9.5	16.1	7.7

A Tabela 4.4, pg. 56, descreve o erro médio absoluto percentual (AAPE) em ambos os intervalos de frequência.. No intervalo 300KHz-700KHz a regressão multivariável, utilizando-se a velocidade e a DSA, reduziu em 3% o erro AAPE em relação a regressão univariável de menor erro, enquanto que no intervalo 0.8MHz-1.2MHz esta erro foi 1% maior.

Tabela 4.4 - Erro médio absoluto percentual na determinação da BD através de regressão linear univariável e multivariável(amostras ósseas de côndilo femural Bovino)

Transdutor (intervalo de frequência)	Análise Univariável (Velocidade versus BD)	Análise Univariável (Atenuação versus BD)	Análise Multivariável (Velocidade e Atenuação versus BD)
500KHz/0.75" (300KHz-700KHz)	9.4	18.7	9.1
1MHz/0.75" (0.8MHz-1.2MHz)	7.9	18.2	8.0

(a) Sinal no domínio do tempo típico de uma amostra de osso trabecular de vértebra humana (transdutor: 500KHz/0.75")

(c) Sinal no domínio do tempo da medida de referência (transdutor: 500KHz/0.75")

(b) Espectro do sinal em (a)

(d) Espectro do sinal em (c)

(e) Pontos da curva de atenuação e reta de regressão relativa aos sinais em (a) e (c)

Fig.4.11 - Sinais recebidos no domínio do tempo e da frequência (amostras ósseas humanas).

(a) Sinal no domínio do tempo típico de uma amostra de osso trabecular bovino de côndilo femoral (transdutor: 1MHz/0.75")

(d) Espectro do sinal em (c)

(b) Espectro do sinal em (a)

(e) Pontos da curva de atenuação e reta de regressão relativa aos sinais em (a) e (c)

(c) Sinal no domínio do tempo da medida de referência (transdutor: 1MHz/0.75")

Fig.4.12 - Sinais recebidos no domínio do tempo e da frequência (amostras ósseas bovinas).

Fig. 4.13 - Correlação entre BD e velocidade (vértebras humanas)

Fig. 4.16 - Correlação entre BD e DSA (vértebras humanas)

Fig. 4.14 - Correlação entre BD e DSA (vértebras humanas)

Fig. 4.15 - Correlação entre BD e velocidade (vértebras humanas)

Fig. 4.17 - Correlação entre BD e velocidade
(côndilo femural bovino)

Fig. 4.20 - Correlação entre BD e DSA
(côndilo femural bovino)

Fig. 4.18 - Correlação entre BD e DSA
(côndilo femural bovino)

Fig. 4.19 - Correlação entre BD e velocidade
(côndilo femural bovino)

4.2 *Estudo In-Vitro II com Osso Bovino*

Há relativamente pouco conhecimento sobre como o ultra-som interage com o osso trabecular. A interação é complexa e poucos modelos a descreve. Um dos modelos caracteriza a interação considerando o osso como um meio poroso preenchido com fluido, e em alguns estudos (*Williams et al.*, 1992; *Xu et al.*, 1994) algum progresso foi obtido com este modelo (*Biot*, 1962). Mostra-se analiticamente que a propagação do ultra-som depende de vários fatores, inclusive das propriedades do fluido que satura os poros do osso trabecular (*Johnson*, 1986).

Uma questão natural no caso da propagação do osso é como a presença da medula óssea afeta as medidas de velocidade e atenuação. Esta questão é abordada no estudo a seguir descrito (ver Apêndice), que foi recentemente divulgado (*Alves et al.*, 1995b) e publicado (*Alves et al.*, 1996b). Esta investigação além de tentar contribuir para esclarecer os mecanismos de interação do ultra-som com osso trabecular, poderá ser útil para entender resultados de estudo clínicos e de estudos in-vitro onde a medula é removida.

Um segundo objetivo deste estudo é comparar as medidas ultra-sônicas em osso trabecular bovino utilizando-se a técnica de inserção convencional (o meio de transmissão é água) e a técnica de contato (o meio de transmissão é gel). A maioria dos estudos clínicos dos estudo in-vitro com osso humano e dos estudos com osso animal foram realizados com a técnica convencional. No caso de medidas clínicas o uso da água como meio de transmissão é inconveniente pois é maior o número de fatores que influenciam a reprodutibilidade das medidas.

Vinte e quatro amostras trabeculares bovinas foram medidas densitometricamente (SPA) e ultrasonicamente nos modos de inserção e de contato com a medula óssea intacta. Após a remoção da medula, todas as amostras foram medidas novamente no modo de inserção.

4.2.1 *Preparo das amostras ósseas*

Vinte e quatro amostras ósseas cilíndricas com de diâmetro de 2.7cm e espessura de 0.8 cm foram obtidas do côndilo medial e lateral da região distal do fêmur bovino utilizando-se o mesmo procedimento descrito no item 4.1.1a. As amostras foram mantidas em solução salina 0.9% e em refrigerador à 4°C. Para garantir a total saturação dos poros as amostras foram submetidas à vacuo antes das medidas ultra-sônicas.

4.2.2 *Densitometria Óssea*

Na medida da densidade mineral óssea em g/cm^3 (BD) das amostras ósseas utilizou-se o mesmo procedimento descrito no item 4.1.2.

4.2.3 Medidas Ultra-Sônicas

As medidas foram realizadas com os mesmos transdutores descritos no item 4.1.3, e os mesmos intervalos de frequência foram utilizados no cálculo da atenuação (*DSA* ou *SDA*). Nas medidas de inserção convencional a distância entre transdutores foi de 6.9 cm devido ao uso de dispositivo para manter as amostras coaxialmente alinhadas com os transdutores. O sistema de medidas ultra-sônicas foi o mesmo descrito no item 4.1.3.

Nas medidas de contato a distância entre transdutores foi de 4.4 cm. Duas almofadas de gel (Aquaflex, Parker Laboratories, NJ, EUA) foram posicionadas em contato direto com a superfície do transdutor e da amostra óssea, conforme Fig. 4.21 e 4.22, pg. 64. Gel ultra-sônico foi usado entre a superfície do transdutor e da almofada, e entre a superfície da almofada e da amostra.

As Fig. 4.23 e 4.24, pg. 65, mostram o dispositivo de medidas ultra-sônicas para a técnica de contato quando desmontado e montado, respectivamente.

Três medidas independentes de velocidade e atenuação em cada amostra óssea foram realizadas, com reposicionamento da amostra em cada uma delas. O cálculo da atenuação utilizou o procedimento descrito no item 2.3.2b. A velocidade do ultra-som na amostra foi calculada no domínio do tempo usando-se o tempo de trânsito/técnica de contato (ver item 2.3.3b).

4.2.4 Análise de Correlação e Estatística

O mesmo aplicativo descrito no item 4.1.4 foi usado para determinar os coeficientes de correlação e a significância estatística das regressões univariáveis.

4.2.5 Resultados

a) Influência da Medula Óssea na Atenuação e Velocidade

A Tabela 4.6, abaixo, compara a velocidade e atenuação média nas amostras ósseas, com e sem a medula óssea, para os pares de transdutores de 500KHz (intervalo de frequência de 300KHz-700KHz) e de 1MHz (intervalo de frequência de 0.8MHz-1.2MHz).

Tabela 4.6 - Influência da Medula Óssea na Atenuação e Velocidade

Transdutor		Com medula óssea	Sem medula óssea	Diferença	Coefficiente de correlação
500 KHz	SDA ($\pm$ sd)	31 ($\pm$ 3.3)	29 ($\pm$ 2.6)	-2	0.90 (P<0.0001)
	Velocidade ($\pm$ sd)	1607 ($\pm$ 53)	1642 ($\pm$ 55)	+35	0.96 (P<0.0001)
1MHz	SDA ($\pm$ sd)	57 ($\pm$ 7.3)	52 ($\pm$ 6.3)	-5	0.97 (P<0.0001)
	Velocidade ($\pm$ sd)	1687 ($\pm$ 67)	1735 ($\pm$ 70)	+48	0.97 (P<0.0001)

Como demonstrado na Tabela 4.6 a substituição da medula pela água aumentou a velocidade média em 35m/s (+2.1%) e 48m/s (+2.9) usando-se os pares de transdutores de

500KHz e 1MHz, respectivamente. Quanto a atenuação houve um decréscimo de 2 dBcm⁻¹MHz⁻¹ (-6.5%) e de 5 dBcm⁻¹MHz⁻¹ (-8.8%) usando-se os pares de transdutores de 500KHz e 1MHz, respectivamente. Os coeficientes de correlação linear entre as medidas com e sem a medula são também mostrados. Os valores de velocidade e de atenuação (DSA ou SDA), com e sem medula óssea, estão plotados nas Figs. 4.25 à 4.28, pg. 66.

b) Comparação entre a Técnica de Inserção e de Contato

A Tabela 4.7, abaixo, compara a velocidade e atenuação média nas amostras ósseas sem medula óssea, usando-se as técnicas de inserção e de contato, para os pares de transdutores de 500KHz (intervalo de frequência de 300KHz-700KHz) e de 1MHz (intervalo de frequência de 0.8MHz-1.2MHz). Os valores de velocidade e de atenuação (DSA ou SDA), com ambas as técnicas, estão plotados nas Figs. 4.29 à 4.32, pg. 67.

Tabela 4.7 - Comparação entre a Técnica de Inserção e de Contato

Transdutor		Inserção	Contato	Diferença	Coefficiente de correlação
500 KHz	SDA (± sd)	31 (± 3.3)	32 (± 2.9)	+1	0.91 (P<0.0001)
	Velocidade (± sd)	1607 (± 53)	1612 (± 53)	+5	0.99 (P<0.0001)
1MHz	SDA (± sd)	57 (± 7.3)	56 (± 7.0)	-1	0.93 (P<0.0001)
	Velocidade (± sd)	1687 (± 67)	1699 (± 67)	+12	0.99 (P<0.0001)

Observa-se na Tabela 4.7 que não há diferença significativa nas medidas ultrassônicas entre as duas técnicas.

c) Correlação entre Medidas Ultra-Sônicas e Densidade Óssea

A Tabela 4.8, abaixo, sumariza a correlação linear entre velocidade e atenuação com densidade óssea em g/cm³ (BD), nos intervalos de frequência 300KHz-700KHz e 0.8MHz-1.2MHz, para as duas técnicas de medida.

Tabela 4.8 - Correlação entre Medidas Ultra-Sônicas e Densidade Óssea

		Densidade Óssea		
		Inserção	Inserção	Contato
		Com Medula	Sem Medula	Com Medula
500khz	SDA	r = - 0.50 (P=0.013)	r = -0.41 (P=0.048)	r = -0.32 (P=0.125)
	Velocidade	r = 0.79 (P<0.0001)	r = 0.86 (P<0.0001)	r = 0.80 (P<0.0001)
1MHz	SDA	r = 0.22 (P=0.307)	r = 0.16 (P=0.436)	r = 0.28 (P=0.180)
	Velocidade	r = 0.86 (P<0.0001)	r = 0.89 (P<0.0001)	r = 0.86 (P<0.0001)

A Tabela 4.8 mostra que não há diferença significativa nas correlações obtidas com ambas as técnicas de medida.

Finalmente a reprodutibilidade das medidas de velocidade e atenuação foram de 0.55% e 1.44%, respectivamente, para a técnica de inserção, e de 0.39% e 2.1%, respectivamente, para a técnica de contato.

Legenda: 1) transdutor receptor; 2) transdutor transmissor; 3) amostra óssea; 4) almofada de gel; 5) espaçador; 6) cilindro para alinhamento do transdutor receptor; 7) cilindro para alinhamento do transdutor transmissor; 8) câmara de medida; 9) parafuso de fixação do transdutor; 10) cabo do transdutor; 11) parafuso de compressão.

Fig. 4.21 - Desenho esquemático da vista lateral do dispositivo de medidas ultra-sônicas (técnica de contato)

Legenda: 5) espaçador; 6) cilindro para alinhamento do transdutor receptor; 7) cilindro para alinhamento do transdutor transmissor; 8) câmara de medida; 11) parafuso de compressão.

Fig. 4.22 - Desenho esquemático da vista superior do dispositivo de medidas ultra-sônicas (técnica de contato)

Fig. 4. 23 - Dispositivo desmontado de medidas ultra-sônicas para a técnica de contato: 1) transdutor receptor; 2) transdutor transmissor; 3) amostra óssea; 4) almofada de gel; 5) espaçador; 6) cilindro para alinhamento do transdutor receptor; 7) cilindro para alinhamento do transdutor transmissor; 8) câmara de medida.

Fig. 4. 24 - Dispositivo montado de medidas ultra-sônicas para a técnica de contato

Fig. 4.25 - Velocidade (com e sem medula óssea)

Fig. 4.28 - Atenuação (com e sem medula óssea)

Fig. 4.26 - Atenuação(com e sem medula óssea)

Fig. 4.27 - Velocidade (com e sem medula óssea)

Fig. 4.29 - Velocidade
(técnica de inserção x técnica de contato)

Fig. 4.32 - Atenuação
(técnica de inserção x técnica de contato)

Fig. 4.30 - Atenuação
(técnica de inserção x técnica de contato)

Fig. 4.31 - Velocidade
(técnica de inserção x técnica de contato)

4.3 *Estudo In-Vitro III com Osso Humano*

Na técnica de caracterização de tecido ósseo por ultra-som para o diagnóstico de osteoporose os parâmetros de atenuação (BUA - dB/MHz) e velocidade tem sido amplamente utilizado em estudos clínicos para diagnosticar pacientes normais e osteoporóticos. A instrumentação utilizada nestes estudos não permite medir o valor da densidade mineral óssea no mesmo sítio anatômico em que são realizadas as medidas ultra-sônicas. Considerando-se a importante contribuição da densidade para a resistência mecânica do tecido ósseo, e que não há relações analíticas entre os parâmetros ultra-sônicos e a densidade, uma patente foi publicada propondo que a densidade em um determinado sítio anatômico seja calculada a partir das medidas ultra-sônicas no mesmo sítio, utilizando-se o algoritmo de rede neural (*Kaufman et al.*, 1993b).

No estudo in-vitro a seguir descrito com calcâneo de cadáveres, investigou-se a correlação entre medidas ultra-sônicas e densidade mineral óssea. Um segundo objetivo do estudo foi comparar a eficiência de modelos lineares de regressão (univariável e multivariável) e de redes neurais, no cálculo da densidade mineral (BMD) de amostras ósseas do calcâneo, a partir de medidas ultra-sônicas nessas amostras.

4.3.1 *Preparo das amostras ósseas*

Noventa e nove calcâneos limpos e desidratados, provenientes de cadáveres com idade desconhecida, foram usados no estudo. Cada calcâneo foi radiografado com filme mamográfico de alta-resolução. As radiografias, conforme mostrado na Fig. 4.33, pg. 67, foram utilizadas para se definir a região de onde seria retirada a amostra óssea. Medidas obtidas da imagem radiográfica foram posteriormente utilizadas no posicionamento dos ossos no instante da retirada das amostras.

Para que amostras ósseas pudessem ser retiradas dos calcâneos eles foram hidratados durante 10 dias em uma solução buffer (0.75M NaCl, 0.05M NaHCO₃, pH=7.2) cinco vezes concentrada. Os ossos foram então mantidos por 24 horas na mesma solução uma vez concentrada.

Uma broca vazada com parede diamantada e diâmetro interno de 0.6" (1.5cm), girando a uma rotação de 360rpm e sob constante irrigação com água, foi utilizada para se retirar uma amostra óssea na direção latero-medial perpendicular ao eixo antero-posterior do calcâneo. Uma solução detergente (0.1% de Triton X-100) foi continuamente irrigada no sítio de operação da broca com o objetivo de evitar danos a amostra óssea. O procedimento de obtenção de uma amostra é ilustrado nas Figs. 4.34 e 4.35, pg. 72.

Fig. 4.33 - Radiografia de alta resolução de calcâneo

4.3.2 Densitometria Óssea

A massa mineral óssea em gramas (BMM) foi medida utilizando-se o absorptômetro de um fóton (modelo 2780, Norland Corp, WI, EUA) mostrado na Fig. 2.2, pg 12. Na Fig. 4.36, pg. 73, observa-se uma amostra óssea imersa em solução salina 0.9% com o eixo longitudinal perpendicular ao feixe de radiação. O feixe é deslocado ao longo da amostra com um passo de 1.6mm e em cada passo é medida a BMC em g/cm. A soma dos valores de BMC ao longo da amostra multiplicado pela espessura do feixe é igual à BMM. A densidade mineral de área (BMD) em g/cm^2 é obtida dividindo-se a BMM pela seção transversal da amostra. A densidade mineral volumétrica é obtida dividindo-se a BMM pelo volume da amostra.

A Tabela 4.9 (Anexo) descreve os valores de medidas densitométricas e ultra-sônicas nas amostras.

4.3.3 Medidas Ultra-Sônicas

As amostras ósseas foram mantidas sob vácuo (-96 KPa) por 24 horas antes das medidas ultra-sônicas. As medidas foram realizadas com um par de transdutores com frequência nominal de 1MHz e 0.5 polegada de diâmetro (modelo V303-SU), Panametrics, EUA). Um dispositivo de medida da velocidade e atenuação ultra-sônica foi projetado conforme as Figs. 4.37, pg. 73, e 4.38, pg. 74. As duas superfícies do suporte da amostra óssea, que a mantem coaxialmente alinhada com os transdutores, foram revestidas com um material de alto coeficiente de atenuação do ultra-som. Este material amortece a energia não incidente na amostra. Na Fig. 4.38 observa-se o dispositivo de medida mergulhado em tanque de água e uma amostra posicionada entre os transdutores.

Os sinais recebidos foram processados por rotinas escritas em linguagem Matlab. Os seguintes parâmetros foram extraídos dos sinais recebidos (ver item 2.3): velocidades de grupo V^1 (m/s) e $V^{0.1}$ (m/s), atenuação (BUA - dB/MHz), energia do sinal da amostra (E_s), energia do sinal de referência (E_r), duração do envelope do sinal da amostra em uma determinada janela (τ_s), duração do envelope do sinal de referência em uma determinada janela (τ_r), frequência instantânea média do sinal da amostra (MIF) e frequência instantânea média do sinal de referência (MIF_{ref}). A atenuação foi calculada no intervalo de frequência 300KHz-1MHz.

4.3.4 Análise de Correlação e Estatística

Técnicas de regressão linear univariável e multivariável foram utilizadas na determinação das correlações entre medidas ultra-sônicas e densitométricas. Na determinação das equações de correlação entre a BMD ou BD e as variáveis ultra-sônicas utilizou-se os dados relativos à 99 amostras ósseas. Na determinação da BMD das amostras, a partir de medidas ultra-sônicas nas mesmas, foram usados os dados relativos à 82 amostras para determinação das equações de correlação e para treinamento das redes neurais. Os dados das 17 amostras restantes foram usados na determinação do erro médio absoluto percentual do teste (AAPET). O AAPET é calculado a partir do valor de densidade medida por SPA, e do valor obtido através das equações de correlação ou por rede neural. O critério de seleção das 17 amostras foram os valores da BMD. Estes valores deveriam estar uniformemente distribuídos entre o mínimo (0.1580 g/cm^2) e o máximo (0.6350 g/cm^2) valor medido. Os seguintes valores de BMD foram escolhidos para teste: 0.2070, 0.2420, 0.2710, 0.2860, 0.3050, 0.3140, 0.3410, 0.3640, 0.3740, 0.3910, 0.4050, 0.4120, 0.4320, 0.4520, 0.4730, 0.4810, 0.4930.

4.3.5 Processamento por Redes Neurais

Redes neurais foram treinadas pelo algoritmo de Levenberg-Marquat (variação do algoritmo de backpropagation) para se determinar a densidade mineral de uma amostra (BMD) a partir de medidas ultra-sônicas. Os seguintes parâmetros foram utilizados no processamento das redes:

- Variáveis de entrada: velocidades de grupo (V^1 e $V^{0.1}$) ; atenuação (BUA); quociente entre a duração do envelope do sinal da amostra e a duração do envelope do sinal de referência, em uma determinada janela (PDR); quociente entre a energia do sinal da amostra e a energia do sinal de referência (ER), mediana de três medidas do comprimento da amostra (MC).
- Variável de saída: densidade mineral óssea em g/cm^2 (BMD).
- Número de layers igual à 3, sendo linear (purelin) a função de transferência da layer de saída. Funções de transferência tansigmóides (tansig) e logsigmóides (logsig) foram usadas nas layer 1 e 2.

- Número de amostras para treinamento: 82 (as mesmas amostras usadas na determinação dos coeficientes das equações de correlação linear).
- Número de amostras para teste: 17 (as mesmas amostras usadas na determinação do erro AAPET com base nas equações de correlação linear).

O aplicativo *Neural Network Toolbox* (versão 2.0, The Mathworks Inc., MA, EUA) e um microcomputador (Pentium, 133MHz/16 Mb RAM) foram usados no processamento por redes neurais. Programas escritos em linguagem MATLAB permitiram alterar a arquitetura da rede, armazenando-se o erro AAPE do treinamento (AAPEL) e do teste (AAPET), sem interrupção do processamento para que uma nova arquitetura de rede fosse testada. Para a execução dos programas o valor das seguintes variáveis foram especificadas:

- Número de neurônios da layer 1: $nhu1$. Por exemplo, $nhu1=[1\ 2\ 3\ 4\ 5]$, isto é, $nhu1$ variou segundo a sequência 1, 2, 3, 4 e 5.
- Número de neurônios da layer 2: $nhu2$. Por exemplo, $nhu2=[1\ 2\ 3\ 4\ 5]$, isto é, $nhu2$ variou segundo a sequência 1, 2, 3, 4 e 5.
- Número de epochs. Por exemplo, $epochs=[10\ 20\ 30\ 40\ 100]$, isto é, o número de epochs variou segundo a sequência 10, 20, 30, 40, 100.
- Funções de transferência da layer 1 e da layer 2.

Com base nas variáveis acima especificadas foram treinadas redes neurais cujas arquiteturas foram definidas para cada combinação dos valores de $nhu1$, $nhu2$, epochs, e para cada tipo de função de transferência das layers intermediárias e de saída.

Fig. 4.34 - Retirada de amostra de calcâneo sob irrigação

Fig. 4.35 - Amostra óssea retirada de calcâneo

Fig. 4.36 - Densitometria óssea por SPA de uma amostra de calcâneo

Fig. 4.37 - Desenho esquemático do dispositivo de medidas ultra-sônicas

Fig. 4.38 - Tanque acústico para medidas ultra-sônicas em amostras de calcâneo

4.3.6 Resultados

A Tabela 4.9 (Anexo) lista as medidas ultra-sônicas de algumas amostras ósseas. As Tabelas 4.10, abaixo, e as Tabelas 4.11 e 4.12, pg.75 sumarizam os resultados relativos a regressão linear univariável e multivariável e ao erro AAPET na determinação da BMD por regressão linear e por rede neurais. Nas Figs. 4.39 e 4.40, pg. 76, um novo parâmetro β , baseado na média da frequência instantânea do sinal da amostra (MIF) e do sinal de referência (MIF_{ref}), é correlacionado com os valores medidos de BUA e DSA.

Tabela 4.10 - Regressão univariável entre medidas ultra-sônicas e BMD ou BD

Variável Dependente	Variável Independente	Coefficiente de Correlação (r)
$V^{0.1}$	BMD	0.72 ($P < 0.0001$)
$V^{0.1}$	BD	0.81 ($P < 0.0001$)
BUA	BMD	0.77 ($P < 0.0001$)
DSA	BD	0.76 ($P < 0.0001$)

Tabela 4.11 - Erro médio absoluto percentual na determinação da BMD do calcâneo
(regressão linear univariável e multivariável)

Variável dependente	Variáveis independentes	AAPET (%)
BMD	BUA	10.10
BMD	$V^{0.1}$	12.14
BMD	BUA e $V^{0.1}$	9.11
BMD	BUA, $V^{0.1}$, V^1 , PDR, ER, MC	9.17

Tabela 4.12 - Erro médio absoluto percentual na determinação da BMD do calcâneo
(redes neurais)

Função de Tranf. (Layer 1)	Números de neurônios na Layer 1 (nhu1)	Função de Tranf. (Layer 2)	Números de neurônios na Layer 2 (nhu2)	Número de Epochs	Melhor resultado no treinamento	Melhor resultado no teste
tansig	[1 2 325]	tansig	[1 2 320]	[100]	nhu1=16 nhu2=18 AAPEL = 2.26% AAPET = 47.71%	nhu1 = 7 nhu2 = 9 AAPET = 4.99% AAPEL = 9.90%
logsig	[1 2 3 ... 20]	logsig	[1 2 3 ... 25]	[500]	nhu1=2 nhu2=19 AAPEL =1.98% AAPET= 225.31%	nhu1 = 15 nhu2 = 6 AAPET = 6.19% AAPEL =12.12%
tansig	[1 2 3 ... 20]	logsig	[1 2 3 ... 20]	[500]	nhu1=17 nhu2=18 AAPEL = 2.29% AAPET = 25.59%	nhu1 = 12 nhu2 = 13 AAPET = 6.56% AAPEL =7.81%
logsig	[1 2 3 ... 15]	tansig	[1 2 3 ... 15]	[500]	nhu1 =5 nhu2 =5 AAPEL =2.19% AAPET =100.42%	nhu1 = 7 nhu2 = 2 AAPET = 7.13% AAPEL =9.50%

Fig. 4.39 - Correlação entre BUA e média da frequência instantânea

Fig. 4.40 - Correlação entre DSA e média da frequência instantânea

4.4 *Estudo In-Vitro IV com Osso Humano*

Os efeitos da cortical óssea nas medidas ultra-sônicas em calcâneo foi pouco investigado. No estudo in-vitro a seguir descrito este efeito foi investigado no calcâneo de cadáveres cuja idade é desconhecida.

4.4.1 **Metodologia**

Um total de onze amostras trabeculares foram usadas neste estudo. As amostras foram selecionadas entre as noventa e nove do estudo descrito no item 4.3. A metodologia de preparo das amostras e das medidas ultra-sônicas foi a mesma descrita no itens 4.3.1 e 4.3.3. A medida de densidade óssea (BD) foi realizada com e sem a presença das corticais ósseas lateral e medial, segundo a metodologia descrita no item 4.3.2. As corticais ósseas foram retiradas usando-se uma serra circular diamantada e um dispositivo como mostrado na Fig. 4.41a e 4.41b, pg.78.

4.4.2 **Resultados**

Tabela 4.13 - Correlação entre medidas ultra-sônicas e densidade mineral óssea (com e sem cortical óssea)

	Variável Dependente	Variável Independente	Coefficiente de Correlação
Com cortical	velocidade	BD	r=0.85, P=0.0009
	DSA	BD	r=0.93, P<0.0001
Sem cortical	velocidade	BD	r=0.61, p=0.0459
	DSA	BD	R=0.93, P<0.0001

Tabela 4.14 - Correlação entre medidas ultra-sônicas (com e sem cortical óssea)

Variável Dependente	Variável Independente	Coefficiente de Correlação
DSA (com cortical)	DSA (sem cortical)	r=0.94, P<0.0001
velocidade (com cortical)	velocidade (sem cortical)	r=0.79, p=0.0039

(a)

SAMPLE DIAMETER $\phi.594 = 15.09\text{MM}$
 DIMENSIONS SHOWN IN MM
 MATERIAL: LEXAN

(b)

Fig. 4.41 - a) - Retirada da cortical óssea; b) dispositivo para retenção das amostras ósseas de calcâneo

4.5 Estudo Clínico

Nos estudos clínicos sobre a caracterização de tecido ósseo por ultra-som para o diagnóstico de osteoporose a determinação da densidade mineral óssea (BMD), a partir de medidas ultra-sônicas, não tem sido investigada. No estudo a seguir descrito, medidas de densidade óssea em pacientes femininas foram realizadas pela técnica DEXA. Foi solicitada autorização escrita às pacientes para que medidas ultra-sônicas fossem realizadas no calcânhar. As medidas ultra-sônicas foram realizadas pela técnica de contato.

O objetivo do estudo foi investigar o erro cometido por redes neurais na determinação da BMD do cólo femoral medida por DEXA, utilizando-se medidas ultra-sônicas realizadas no calcânhar. O erro médio absoluto percentual de teste (AAPET) foi determinado para cada arquitetura de rede testada, e comparado com o mesmo erro calculado por regressão linear univariável e multivariável.

4.5.1 Escolha dos Pacientes

As medidas densitométricas e ultra-sônicas foram realizadas em pacientes normais e osteoporóticas com idade entre 24 e 87 anos. Os dados foram colhidos em 10 pacientes e os relativos a outros 144 pacientes foram emprestados de um estudo em andamento nos EUA. As medidas densitométricas e ultra-sônicas em todos as pacientes foram realizadas no *Osteoporosis and Metabolic Bone Disease Program*, The Mount Sinai Medical Center, New York, NY, EUA. Às pacientes foi solicitado que preenchessem um histórico clínico. A elas foi entregue um documento esclarecendo o objetivo do estudo em que estavam voluntariamente participando. Após a leitura assinavam o consentimento de participação.

4.5.2 Densitometria Óssea

A densidade mineral óssea (BMD) por densitômetro DEXA (modelo QDR-2000, Hologic Inc, EUA) foi medida no cólo femoral, vértebras lombares L1 à L4 e região distal de rádio/ulna. A densitometria de uma das pacientes do estudo é exemplificada no Anexo.

4.5.3 Medidas Ultra-Sônicas

Um dispositivo clínico de medidas ultra-sônicas, conforme mostrado na Fig. 4.42, pg. 80, foi projetado (OrthoLogic Corp, Phoenix, AZ, EUA) para que medidas de contato fossem realizadas no calcânhar de pacientes. A técnica de contato (modo de transmissão) foi escolhida devido aos inconvenientes da técnica convencional cujo meio de referência das medidas é a água. Um par de transdutores com frequência nominal de 1MHz e 0.5 polegadas de diâmetro são posicionados em contato direto com a pele do paciente (Fig. 4.43, pg. 82). Um paquímetro digital acoplado ao dispositivo mede a espessura do calcânhar do paciente.

Uma placa geradora de pulso do tipo *plug-in* para microcomputadores (modelo SR9000, Matec Inc, MA, EUA) foi utilizada para excitar o transdutor

transmissor (Fig. 4.8, pg. 53) e receber o sinal do transdutor receptor. Os sinais recebidos foram coletados em outra placa tipo *plug-in* (Fig. 4.9, pg. 53) que é osciloscópio digital (modelo Compuscope 220, Gage Applied Science Inc, Montreal, Canada). Os sinais foram amostrados com uma frequência de 40MHz, e armazenados em microcomputador portátil (486DX-66MHz) para posterior processamento. Na Fig. 4.44, pg. 83, é mostrado o sistema portátil clínico de medidas ultra-sônicas que inclui o dispositivo de alinhamento e contenção dos transdutores, e o microcomputador contendo as placas *plug-in*.

Os sinais recebidos foram processados através de rotinas escritas em linguagem Matlab. O cálculo da atenuação foi determinado no domínio da frequência usando-se a transformada discreta de Fourier (ver item 2.3.2a). O intervalo de frequência para a medida da atenuação foi de 300KHz à 700KHz.. A velocidade do ultra-som na amostra foi calculada no domínio do tempo através do tempo de chegada (ver item 2.3.3a). Três medidas ultra-sônicas foram realizadas em cada paciente, com reposicionamento do calcânhar em cada uma delas.

Um bloco de acrílico foi usado como padrão para a medida do sinal de referência. O procedimento das medidas ultra-sônicas no bloco padrão foi o mesmo do calcânhar, isto é, utilizou-se uma camada de gel ultra-sônico entre a superfície dos transdutores e as superfícies do meio de medida (bloco ou calcânhar).

4.5.4 Análise de Correlação e Estatística

Técnicas de regressão linear univariável e multivariável foram utilizadas na determinação das correlações entre medidas ultra-sônicas e densitométricas. Na determinação das equações de correlação entre a BMD e as variáveis ultra-sônicas utilizou-se os dados relativos às 154 pacientes. Na determinação da BMD no cólo femoral a partir de medidas ultra-sônicas no calcânhar foram usados os dados relativos à 137 pacientes para determinação das equações de correlação e para treinamento das redes neurais. Os dados dos 17 pacientes restantes foram usados na determinação do erro médio absoluto percentual do teste (AAPET). O AAPET é calculado a partir do valor de densidade medida por DEXA, e do valor obtido através das equações de correlação ou por rede neural. O critério de seleção dos 17 pacientes do teste foram os valores da BMD do cólo femoral. Estes valores deveriam estar uniformemente distribuídos entre o mínimo (0.2830 g/cm^2) e o máximo (1.3180 g/cm^2) valor medido. Os seguintes valores de BMD foram escolhidos para teste: 0.2930, 0.3710, 0.4080, 0.4660, 0.5240, 0.5840, 0.6390, 0.6480, 0.7080, 0.7660, 0.8320, 0.8720, 0.9580, 0.9790, 1.1010, 1.1050, 1.1690.

4.5.5 Processamento por Redes Neurais

Redes neurais foram treinadas pelo algoritmo de Levenberg-Marquat (variação do algoritmo de backpropagation) para se determinar a densidade mineral (BMD) no cólo femoral dos pacientes a partir de medidas ultra-sônicas. Os seguintes parâmetros foram utilizados no processamento das redes:

- Variáveis de entrada: idade, peso, altura, largura do calcanhar, velocidades de grupo (V^1 e V^5 , [m/s]), atenuação (BUA, [dB/MHz]), média da frequência instantânea (em uma determinada janela) do sinal do calcanhar (MIF, [KHz]), quociente entre a duração do envelope do sinal do calcanhar e a duração do envelope do sinal de referência (em uma determinada janela), quociente entre a energia do sinal do calcanhar e a energia do sinal de referência, existência ou não de fratura (FX, sendo FX=0 se não havia fratura, FX=1 se houvesse fratura do cólo femoral, FX=2 se houvesse fratura de terço distal de rádio/ulna, FX=3 se houvesse fratura do cólo femoral e do terço distal de rádio/ulna, e FX=-1 se desconhecido).
- Variável de saída: densidade mineral do cólo femoral em g/cm^2 (BMD).
- Número total de layers igual à 2 ou 3, sendo linear (purelin) a função de transferência da layer de saída. Funções de transferência tansigmóides (tansig) e logsigmóides (logsig) foram usadas nas layers intermediárias.
- Número de pacientes cujos dados foram usados no treinamento: 137 (os mesmos pacientes usados na determinação dos coeficientes das equações de correlação linear).
- Número de pacientes cujos dados foram usados no teste: 17 (os mesmos pacientes usados na determinação do erro AAPET com base nas equações de correlação linear).

O aplicativo *Neural Network Toolbox* (versão 2.0, The Mathworks Inc., MA, EUA) foi usado no processamento por redes neurais. Programas escritos em linguagem MATLAB permitiram alterar a arquitetura da rede, armazenando-se o erro do treinamento (AAPEL) e do teste (AAPET), sem interrupção do processamento para que uma nova arquitetura de rede fosse testada. Para a execução dos programas o valor das seguintes variáveis foram especificadas:

- Número de neurônios da layer 1: nhu1 . Por exemplo, $\text{nhu1}=[1\ 2\ 3\ 4\ 5]$, isto é, nhu1 variou segundo a sequência 1, 2, 3, 4 e 5.
- Número de neurônios da layer 2: nhu2 . Por exemplo, $\text{nhu2}=[1\ 2\ 3\ 4\ 5]$, isto é, nhu2 variou segundo a sequência 1, 2, 3, 4 e 5.
- Número de epochs. Por exemplo, $\text{epochs}=[10\ 20\ 30\ 40\ 100]$, isto é, o número de epochs variou segundo a sequência 10, 20, 30, 40, 100.
- Funções de transferência das layers intermediárias e de saída.

Com base nos parâmetros acima especificados foram treinadas redes neurais cujas arquiteturas foram definidas para cada combinação dos valores de nhu1 , nhu2 , epochs, e para cada tipo de função de transferência das layers intermediárias e de saída.

Fig. 4.42 - Dispositivo clínico de medidas ultra-sônicas pela técnica de contato

Fig.4.43 - Medidas ultra-sônicas em calcanhar pela técnica de contato

Fig. 4.44 - Sistema portátil clínico de medidas ultra-sônicas

4.5.6 Resultados

Os dados parciais sobre as medidas densitométricas e ultra-sônicas realizadas nos pacientes estão listados na Tabela 4.15 (Anexo). Os valores da Tabela representam a média de três medidas consecutivas realizadas em cada paciente. A reprodutibilidade das medidas de BUA e velocidade foram de 6.7% e 0.51%, respectivamente. As Tabelas 4.16 à 4.18 sumarizam os resultados relativos a regressão linear univariável e multivariável e ao erro AAPET na determinação da BMD por regressão linear e por rede neurais.

Tabela 4.16 - Regressão linear univariável entre medidas ultra-sônicas e BMD no fêmur

Variável Dependente	Variável Independente	Coefficiente de Correlação (r)
BUA	BMD	0.59 (P<0.0001)
V ^l	BMD	0.55 (P<0.0001)
V ^s	BMD	0.50 (P<0.0001)
BUA	Heel Thickness	0.11 (P=0.184)
BUA	1-(MIF/MIFref)	0.86 (P<0.0001)

Tabela 4.17 - Erro médio absoluto percentual na determinação da BMD do cólo femoral (correlação linear univariável e multivariável)

Variável Dependente	Variáveis independentes	AAPET (%)
BMD	BUA	25.05
BMD	V ¹	31.58
BMD	BUA e V ¹	25.00
BMD	V ⁵	30.42
BMD	BUA e V ⁵	25.01
BMD	Todas as variáveis de entrada	17.58

Tabela 4.18 - Erro médio absoluto percentual na determinação da BMD do cólo femoral (redes neurais)

Número de Neurônios da Layer 1 (nhu1)	Função de Transferência (Layer 1)	Número de Neurônios da Layer 2 (nhu2)	Função de Transferência (Layer 2)	Número máximo de epochs	Melhor Resultado no <u>treinamento</u>	Melhor Resultado no <u>teste</u>
[1 2 3 .. 20]	tansig	[1 2 3 ...20]	tansig	[100]	nhu1 = 15 nhu2 = 20 AAPEL = 0.51% AAPET = 40.38%	nhu1 = 6 nhu2 = 1 AAPET = 15.46% AAPEL = 10.64%
[1 2 3 ... 15]	logsig	[1 2 3 ...15]	logsig	[100]	nhu1 = 13 nhu2 = 14 AAPEL =0.80% AAPET = 23.73%	nhu1 = 1 nhu2 = 8 AAPET = 15.65% AAPEL = 10.53%
[1 2 3 ... 15]	tansig	[1 2 3 ...15]	logsig	[100]	nhu1 = 14 nhu2 = 15 AAPEL =1.20% AAPET =22.49%	nhu1 = 2 nhu2 = 3 AAPET=15.98% AAPEL =9.37%
[1 2 3 ... 15]	logsig	[1 2 3 ...15]	tansig	[100]	nhu1 = 15 nhu2 = 15 AAPEL = 0.36% AAPET =23.68%	nhu1 = 2 nhu2 = 10 AAPET = 15.71% AAPEL =7.31%
[1 2 3 .. 20]	tansig	-	-	[100]	nhu1 = 20 AAPEL = 1.95% AAPET =46.47%	nhu1 = 7 AAPET = 13.71% AAPEL =8.65%
[1 2 3 .. 25]	logsig	-	-	[100]	nhu1 = 21 AAPEL = 1.24% AAPET =30.09%	nhu1 = 3 AAPET =15.52 % AAPEL=9.95%

5. DISCUSSÃO

O estudo in-vitro comparativo com osso trabecular bovino e osso trabecular humano permitiu investigar as correlações entre medidas ultra-sônicas e de densidade mineral (BD) em um intervalo maior de valores de densidade. Os resultados mostram que a velocidade é um estimador da BD mais consistente e de maior precisão. Os dados bovinos e humanos mostram que é alta a correlação entre velocidade e BD, com coeficientes de correlação da ordem de 0.9. Isto é verdade tanto em baixa frequência (300KHz-700KHz) quanto em alta frequência (0.8MHz-1.2MHz). O mesmo não foi observado com relação à atenuação (DSA, $\text{dB.cm}^{-1}.\text{MHz}^{-1}$). Ainda que seja alta a correlação com a BD em amostras humanas, com valores maiores que 0.8, a correlação em amostras bovinas de maior densidade foi muito inferior. Tanto no intervalo de baixa frequência quanto no de alta frequência a correlação foi pequena e negativa.. Assim sendo a atenuação é fortemente correlacionada com a densidade em amostras de baixa densidade, mas a correlação é insignificante em densidades maiores. Conclui-se que existe uma relação não linear entre atenuação e densidade quando amostras trabeculares bovinas e humanas são consideradas. Este resultado é consistente com um estudo recentemente divulgado (Serpe et al., 1995).

Uma observação interessante e possivelmente relacionada ao anteriormente citado é a não linearidade entre superfície óssea e porosidade (Martin, et al, 1984). Se a atenuação é resultante do espalhamento da onda ultra-sônica na estrutura óssea, e for proporcional a área da superfície presente então a dependência não linear da atenuação com a densidade é consistente com aquela observação. Outros estudos são necessários para investigar a relação entre o observado por Martin e dependência em frequência da DSA. Em particular, talvez seja possível identificar uma frequência de transição, isto é, uma frequência na qual a dependência da DSA com a densidade muda de uma inclinação positiva para uma negativa, e isto possa ser usado para caracterizar o tamanho médio do poro trabecular.

Há uma superposição nos intervalos dos valores de velocidade e atenuação observando-se os dados bovinos e humanos. Por esta razão não foi possível analisar conjuntamente os dados. É possível que as diferenças na arquitetura trabecular entre osso bovino e humano justifiquem a diferença nos valores obtidos.

Uma questão importante que o estudo permitiu responder é se a combinação dos valores de velocidade e atenuação é capaz de melhor estimar a densidade mineral do que cada um destes parâmetros isoladamente. O erro AAPET foi usado para responder esta questão. No caso do osso bovino, esta combinação não resultou em uma melhoria significativa devido a fraca correlação entre DSA e a BD. No osso humano, entretanto, houve uma melhora de 11% e 19% no cálculo da densidade, nas baixas (300KHz-700KHz) e altas frequências (0.8MHz-1.2MHz), respectivamente.

Com base nas correlações entre medidas ultra-sônicas e densidade óssea em osso trabecular bovino, apesar da sua fácil aquisição e baixo custo, não se pode usar este tecido como modelo do osso trabecular humano para investigar a caracterização de tecido ósseo por ultra-som.

Os resultados indicam que medidas ultra-sônicas são altamente correlacionadas com medidas de densidade em amostras de osso trabecular. Esta relação é mais consistente em ossos de menor densidade. Outros estudos deverão investigar se isto ocorre apenas devido à densidade ou a uma combinação de densidade e diferenças na arquitetura do tecido.

No estudo in-vitro com osso bovino que investigou a influência da medula óssea nas medidas ultra-sônicas observa-se que as correlações entre medidas ultra-sônicas e densidade não afetadas pela remoção da medula e substituição pela água. Assim, com relação a presença ou ausência de medula óssea, os resultados de estudos in-vitro e clínicos podem ser comparados quando o estudo em questão envolver a estimativa da densidade. Ainda que as equações de regressão sejam diferentes, a informação contidas em ambos os casos parece ser a mesma.

Um resultado importante deste estudo é o das mudanças causadas pela remoção da medula óssea nos parâmetros ultra-sônicos. O aumento na velocidade após a remoção é consistente com o fato de que a velocidade do ultra-som na água é maior do que gordura (Hill, 1986). Na água a velocidade é 1495 m/s e na gordura é 1450 m/s, o que representa uma diferença de 3.1%, não muito diferente das diferenças observadas após a remoção da medula, nominalmente de 2.1% e 2.8%, nos intervalos de baixa e alta frequência, respectivamente.

A atenuação diferencial específica (DSA) decresce após a remoção da medula. Isto é atribuído ao fato da atenuação na medula é significativamente maior do que na água. A atenuação na medula é da ordem de $1\text{dB}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{MHz}^{-1}$ (Hill, 1986). As mudanças observadas de $-2\text{dB}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{MHz}^{-1}$ e $-5\text{dB}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{MHz}^{-1}$, no intervalo de baixa e alta frequência, respectivamente, são muito maiores do que o esperado considerando-se as diferenças na atenuação do ultra-som na água e na gordura. Este questão precisa ser melhor investigada para melhor entender a interação entre osso trabecular e ultra-som.

As diferenças nas medidas ultra-sônicas causadas pela remoção da medula foi muito maior na velocidade do que na atenuação. Isto é consistente com um estudo in-vitro e clínico que determinou que a medula óssea altera o valor da velocidade mas não o valor da BUA (Kotzki et al., 1994).

É necessário salientar que comparações entre estudos in-vitro e clínicos devam ser cuidadosamente consideradas, uma vez que outros fatores como efeito das corticais ósseas e do tecido mole adjacente devam ser levados em conta.

A comparação entre as técnicas ultra-sônicas de inserção e de contato mostrou que as correlações entre medidas ultra-sônicas e de BD não são significativamente afetadas pelo uso da técnica de contato. Além disso, as correlações entre medidas realizadas pelas duas técnicas são altamente correlacionadas. Assim a mesma informação parece estar presente nas duas técnicas de medida. Os parâmetros de precisão e reprodutibilidade, no entanto, não foram

devidamente explorados no estudo e dependem fortemente da instrumentação utilizada (Herd et al., 1993).

O estudo in-vitro com amostras de calcâneo confirmou a significativa correlação entre medidas ultra-sônicas e densitométricas (BD). Na determinação da densidade mineral óssea, a partir de medidas ultra-sônicas, utilizando-se o modelo de regressão linear, um erro menor é obtido quando a abordagem multivariável é utilizada (AAPET = 9.17%). O “*melhor resultado no treinamento*” (como mostrado na tabela 4.12, pg.75) deve ser utilizado para comparar o desempenho das redes neurais com relação ao modelo linear. Com a rede neural de melhor desempenho foram obtidos os erros AAPEL=2.29% e AAPET=25.59%. O modelo linear, portanto, comparativamente ao modelo de redes neurais, reduziu em 64.2% o erro de teste. Quando redes neurais são treinadas com um número suficiente de dados e usando-se técnicas de otimização do seu desempenho, o erro AAPEL deve ser no mínimo igual ao de modelos lineares. No estudo in-vitro, portanto, um número insuficientes de amostras ósseas foi utilizado para treinar as redes neurais e técnicas de otimização, se utilizadas, deverão melhorar o desempenho das redes. No “*melhor resultado no teste*” observa-se, inexplicavelmente, que AAPEL > AAPET.

No estudo in-vitro com amostras de calcâneo e no estudo clínico um novo parâmetro β , baseado na média da frequência instantânea (MIF) dos sinais recebidos, foi calculado. O parâmetro $\beta = 1 - \text{MIF} / \text{MIF}_{\text{ref}}$ apresenta alta correlação com a atenuação (BUA ou DSA). Este resultado é significativo pois a MIF pode ser calculada com circuitos analógicos e portanto sem a necessidade de amostragem e da transformada de Fourier (Luckey et al., 1996). Dessa maneira existe a possibilidade de computação em tempo real e redução na complexidade e custo da instrumentação.

A investigação sobre o efeito da cortical óssea do calcâneo nas medidas ultra-sônicas revelou que há uma alta correlação (0.94) entre medidas com e sem a cortical. Entretanto a atenuação é aproximadamente 20% maior em amostras ósseas com a cortical, mostrando que a contribuição da cortical não é desprezível, ainda que a espessura deste tecido seja pequena no calcâneo. A correlação entre atenuação (DSA) e densidade (BD) é maior do que a correlação entre velocidade e densidade. Como esperado a velocidade em amostras com a cortical óssea é maior do que sem, pois a velocidade no osso cortical é maior do que no osso trabecular. É desconhecido a razão do decréscimo em correlação entre velocidade e BD em amostras sem as corticais ósseas.

No estudo clínico a determinação da densidade mineral óssea, a partir de medidas ultra-sônicas, utilizando-se o modelo de regressão linear, um erro menor é obtido quando a abordagem multivariável é utilizada (AAPET = 17.58%). O “*melhor resultado no treinamento*” (como mostrado na tabela 4.18, pg. 84) deve ser utilizado para comparar o desempenho das redes neurais com relação ao modelo linear. Com a rede neural de melhor desempenho foram obtidos os erros AAPEL=1.20% e AAPET=22.49%. O modelo linear, portanto, comparativamente ao modelo de redes neurais, reduziu em 21.8% o erro de teste. Conforme citado anteriormente, quando redes neurais são treinadas com um número suficiente de dados e usando-se técnicas de otimização do seu desempenho, o erro AAPEL deve

ser no mínimo igual ao de modelos lineares. No estudo clínico, portanto, um número insuficientes de pacientes foi utilizado para treinar as redes neurais e técnicas de otimização, se utilizadas, deverão melhorar o desempenho das redes. No “*melhor resultado no teste*” observa-se que $AAPEL < AAPET$, conforme esperado.

Os baixos valores de correlação (em torno de 0.5) entre medidas densitométricas no calcânhar e a BMD no cólo femoral confirmam os resultados de estudos clínicos já publicados. Não há uma correlação significativa entre BUA e a largura do calcânhar, conforme também observado em outro estudo clínico (Kotzki et al., 1994). O parâmetro $(1-MIF/MIF_{ref})$ apresenta boa correlação com BUA (0.86). Em outro estudo clínico recentemente divulgado a correlação obtida foi de 0.96 (Luckey et al., 1996).

A reprodutibilidade média das medidas de atenuação (6.7%) foi muito inferior as de velocidade (0,51%) o que deve estar associado ao problema de reposicionamento do calcânhar entre medidas. Outra contribuição importante para a reprodutibilidade são os efeitos de difração do campo acústico produzido por transdutores. Estudos recentemente publicados demonstram que os efeitos da difração do campo podem ser significantes nas medidas de atenuação quando materiais de alta atenuação, como o osso, são investigados (Xu et al., 1993). Este fato deve estar relacionado com a menor reprodutibilidade das medidas de atenuação observadas em estudos in-vitro e clínicos. As medidas de velocidade são menos afetadas pela difração (Kaufman et al, 1995). Os modelos de correção dos efeitos da difração são propostos nos referidos estudos e poderão ser implementados na técnica ultra-sônica de caracterização de tecido ósseo e talvez contribuir para uma melhor reprodutibilidade das medidas.

O intervalo de frequência normalmente utilizado nas investigações clínicas para medida da BUA é de 300-800KHz. É possível que importantes informações estruturais existam em outros intervalos de frequência.

Os dados do estudo clínico em andamento nos EUA, que foram preliminarmente divulgados neste trabalho, permitirão determinar a correlação entre medidas ultra-sônicas no calcânhar e densitométricas por DEXA em diversos sítios anatômicos. São particularmente promissores os resultados do estudo in-vitro com calcâneo e do estudo clínico aqui relatados, bem como de um outro estudo clínico recentemente divulgado (Luckey et al., 1996), que mostram que o parâmetro $\beta=1-MIF/MIF_{ref}$ fornece a mesma informação que o parâmetro BUA, devido a alta correlação entre eles. Segundo Luckey e colaboradores o parâmetro β pode ser calculado por hardware analógico, dispensando o uso de processamento de sinal e consequentemente diminuindo o custo da instrumentação associada à técnica ultra-sônica. Os mesmos autores mostram que a correlação entre o parâmetro β e a velocidade do ultra-som no calcânhar poderá criar uma classificação mais precisa de osteoporose.

Um potencial das redes neurais a ser explorado em experimentos futuros é o de que não há limitação quanto ao número de variáveis de saída da rede, sendo possível, portanto, investigar o erro cometido quando ambos BMD e resistência

mecânica forem as variáveis de saída. Este erro pode ser determinado através de experimentos in-vitro com amostras ósseas, onde a resistência mecânica pode ser medida por técnicas de ensaio destrutivas (ensaio mecânico de compressão) ou não destrutivas (ensaios ultra-sônicos).

6. CONCLUSÃO

As correlações entre medidas ultra-sônicas e densitométricas em osso trabecular bovino dos côndilos femorais são diferentes das existentes no osso trabecular humano de vértebras lombares. A velocidade é fortemente correlacionada com a densidade em amostras de baixa (humanas) e alta (bovinas) densidade. A atenuação é fortemente correlacionada com a densidade em amostras de baixa densidade (humanas). A relação entre atenuação e densidade é não linear. É necessário investigar a contribuição da arquitetura óssea nestes resultados. Uma abordagem multivariável (velocidade + atenuação) diminuiu o erro na determinação da densidade mineral óssea em amostras de vértebras lombares a partir de medidas ultra-sônicas nas mesmas amostras. O osso trabecular bovino dos côndilos femorais não pode ser utilizado como substituto do osso trabecular humano de vértebras lombares para se investigar a técnica ultra-sônica de caracterização de tecido ósseo para o diagnóstico de osteoporose.

As correlações entre medidas ultra-sônicas e densitométricas não são afetadas pela presença ou ausência da medula óssea. A remoção da medula óssea causa aumento na velocidade e decréscimo na atenuação do ultra-som.

As correlações entre medidas ultra-sônicas e densitométricas em amostras de osso trabecular bovino não são significativamente afetadas pela técnica de medida (em água ou por contato). As correlações entre medidas ultra-sônicas no calcânhar e densitométricas no cólo femoral utilizando-se a técnica de inserção por contato são próximas das obtidas em outros estudos com a técnica de inserção em água, mostrando que não há diferença significativa entre as técnicas. As vantagens do uso da técnica de inserção por contato recomendam a sua utilização em aplicações clínicas.

A remoção das corticais ósseas em amostras de calcâneo diminui a atenuação e a velocidade do ultra-som e, portanto, é relevante a contribuição das corticais ósseas nas medidas ultra-sônicas.

É baixa a correlação entre medidas ultra-sônicas no calcânhar e medidas densitométricas na cabeça femural. É baixa a correlação entre a atenuação (BUA) do ultra-som no calcânhar e a largura do calcânhar.

Na determinação da densidade mineral óssea em um sítio anatômico a partir de medidas ultra-sônicas no calcâneo ou no calcânhar, investigada nos estudos in-vitro com amostras de calcâneo e clínico, respectivamente, utilizando-se modelos lineares de regressão univariável e multivariável e um modelo não-linear baseado em redes neurais, o desempenho do modelo linear foi melhor que o de redes neurais. O erro do modelo linear no cálculo da densidade é menor quando uma abordagem multivariável é utilizada. O erro do modelo linear é menor no estudo in-vitro do que no clínico devido ao fato das medidas densitométricas e ultra-sônicas naquele estudo terem sido realizadas em um mesmo sítio anatômico. Para que a contribuição das redes neurais possa ser melhor avaliada são necessários um número maior de amostras ósseas e um número maior de pacientes do que os utilizados nos estudos

in-vitro e clínico, respectivamente, e o uso de técnicas de otimização do desempenho de redes neurais.

O estudo in-vitro com amostras ósseas de calcâneo e o estudo clínico comprovaram que um novo parâmetro $\beta=1-MIF/MIF_{ref}$, proposto por Kaufman (Luckey, 1996) e baseado na média da frequência instântanea (MIF) dos sinais recebidos, tem alta correlação com a atenuação. Este parâmetro pode ser calculado com circuitos analógicos e dessa maneira existe a possibilidade de computação em tempo real da atenuação e, portanto, redução na complexidade e custo da instrumentação para a caracterização de tecido ósseo por ultra-som para o diagnóstico de osteoporose.

Um dos fatores limitantes da técnica ultra-sônica é a reprodutibilidade das medidas. É necessário investigar quais fatores são relevantes na melhoria da reprodutibilidade como, por exemplo, a contribuição da correção dos efeitos da difração do campo acústico.

A relação entre arquitetura trabecular, resistência mecânica e medidas ultra-sônicas precisa ser investigada. A análise qualitativa e quantitativa da arquitetura óssea por tomografia 3D (Feldkamp et al, 1989; Kuhn et al, 1990; Odgaard et al., 1993; Goldstein et al, 1993; Kinney et al, 1995) têm dado uma importante contribuição na caracterização do tecido ósseo. Os dados sobre arquitetura provenientes dessa análise, e de resistência mecânica do tecido ósseo, devem ser incorporados na tecnologia ultra-sônica. O objetivo é a determinação da densidade óssea e da resistência mecânica de um sítio anatômico a partir de medidas ultra-sônicas e de arquitetura. A combinação dessas variáveis em uma mesma tecnologia poderá determinar com muito maior precisão o risco de ocorrência de fraturas. O processamento de todas estas informações não poderá prescindir do potencial das redes neurais.

É promissora a perspectiva de aprimorar a técnica de caracterização de tecido ósseo por ultra-som para o diagnóstico de osteoporose, não-ionizante e de menor custo, para determinação da densidade mineral óssea a partir de medidas ultra-sônicas no calcânhar.

ANEXO

Nota: A listagem dos resultados experimentais e clínicos disponíveis neste anexo é parcial. Inúmeras planilhas eletrônicas contendo os resultados completos de todos os estudos relatados nesta tese estão disponíveis para consulta. As várias rotinas em linguagem MATLAB, usadas no processamento dos sinais para determinação das medidas ultra-sônicas, foram propositamente omitidas do anexo para evitar um exemplar de tese excessivamente volumoso.

Tabela 4.1 - Densidade das amostras humanas
(vértebra lombar)

Amostra #	BMC (SPA) (g/cm ³)	Aparente Densidade (g/cm ³)	Espessura (cm)	Diâmetro (cm)
C001L1	0.122	0.232	1.89	2.15
C002L1	0.066	0.13	1.9	2.15
C002L5	0.057	0.105	1.82	2.12
C003L3	0.136	0.275	1.71	2.15
C004L3	0.057	0.09	1.58	2.15
C008L1	0.062	0.122	1.83	2.15
C009L5	0.101	0.196	2.12	2.15
C012L3	0.083	0.18	2.05	2.05
C013L1	0.056	0.116	1.7	2.11
C013L2	0.062	0.117	1.57	2.12
C013L3	0.063	0.115	1.77	
C013L4	0.063	0.102	1.5	2.1
C014L1	0.126	0.253	1.66	2.12
C014L3	0.119	0.239	2.1	2.11
C014L4	0.110	0.235	2.02	2.12
C017L3	0.066	0.133	1.81	2.09
C017L5	0.069	0.121	2.01	2.12
C019L4	0.086	0.132	1.35	2.13
C023L2	0.131	0.285	1.87	2.13
C023L3	0.142	0.288	1.7	2.13
C023L4	0.135	0.295	2	2.13
C024L2	0.106	0.206	1.95	2.13
C025L4	0.106	0.214	2.03	2.15
C025L1	0.116	0.212	1.85	2.16
C025L5	0.099	0.186	1.6	2.19
C028L2	0.101	0.19	2.31	2.08

Tabela 4.3 - Densidade das amostras ósseas
bovinas (côndilo femoral)

Amostra #	Densidade (g/cm ³)	Amostra #	Densidade (g/cm ³)
27	0.185	133	0.230
39	0.252	127	0.240
33	0.253	129	0.284
23	0.256	131	0.284
13	0.290	134	0.302
24	0.304	125	0.312
28	0.307	124	0.316
31	0.333	132	0.361
26	0.381	130	0.380
40	0.384	128	0.402
14	0.427	126	0.441
32	0.450		

Tabela 4.9- Medidas ultra-sônicas e densitométricas em amostras ósseas de calcâneo.
(média de três medidas).

Sample #	BUA (dB/MHz)	V(0.1) (m/s)	V(1) (m/s)	Pulse Duration Ratio (PDR)	Energy Ratio (ER)	Sample Length (cm) (MC)	BMD (g/cm ²)
1	33.180	1610.000	1531.000	1.210	0.031	2.097	0.302
2	34.940	1610.000	1533.670	1.230	0.026	2.122	0.345
3	34.700	1605.670	1529.000	1.200	0.018	2.224	0.357
4	76.460	1787.000	1607.000	1.760	0.003	2.245	0.635
5	56.490	1635.000	1545.330	1.470	0.009	2.640	0.405
6	40.230	1631.000	1523.000	1.240	0.014	2.124	0.364
7	13.240	1528.670	1491.670	1.100	0.228	2.323	0.177
8	61.510	1666.000	1533.330	1.520	0.005	2.260	0.431
9	67.660	1731.000	1578.330	1.520	0.002	2.435	0.493
10	29.830	1572.670	1508.000	1.160	0.045	2.489	0.228
11	47.160	1624.670	1525.000	1.330	0.013	2.480	0.381
12	43.960	1573.000	1501.000	1.300	0.022	2.915	0.367
13	39.960	1614.670	1508.670	1.230	0.011	2.461	0.391
14	43.620	1602.670	1516.000	1.300	0.015	2.583	0.421
15	41.030	1648.000	1566.330	1.270	0.012	2.201	0.402
16	42.510	1622.330	1526.330	1.280	0.015	2.133	0.332
17	42.780	1594.330	1517.330	1.310	0.020	2.465	0.350
18	59.790	1634.000	1535.000	1.540	0.005	2.751	0.463
19	57.600	1645.000	1518.330	1.470	0.006	2.318	0.379
20	28.260	1565.670	1515.000	1.190	0.043	2.453	0.260
21	50.730	1628.330	1535.000	1.410	0.011	2.399	0.372
22	48.870	1649.000	1566.000	1.340	0.004	2.556	0.456
23	46.310	1585.670	1512.670	1.330	0.008	3.037	0.410
24	46.860	1591.670	1515.000	1.360	0.017	2.510	0.303
25	49.480	1614.000	1520.000	1.330	0.009	2.621	0.388
26	34.670	1559.330	1497.000	1.140	0.020	2.672	0.323
27	48.430	1593.000	1511.670	1.360	0.010	2.724	0.404
28	55.110	1689.000	1519.000	1.440	0.003	2.390	0.461
29	30.970	1622.000	1552.000	1.100	0.013	2.135	0.305
30	20.980	1530.000	1488.000	1.100	0.095	2.653	0.280
31	45.620	1595.670	1505.000	1.270	0.009	2.636	0.422
32	27.120	1562.670	1511.000	1.210	0.074	2.196	0.274
33	45.030	1631.000	1554.330	1.370	0.013	2.259	0.397
34	40.720	1588.000	1528.000	1.330	0.023	2.390	0.371
35	21.130	1576.000	1532.000	1.130	0.074	1.968	0.176
36	66.060	1665.000	1543.000	1.540	0.005	2.620	0.473
37	23.240	1556.000	1511.330	1.110	0.051	2.756	0.311
38	31.820	1572.000	1509.000	1.160	0.037	2.555	0.271
39	31.520	1583.000	1506.330	1.170	0.039	2.212	0.291
40	35.730	1583.000	1518.000	1.190	0.026	2.483	0.272
41	50.200	1581.670	1502.670	1.350	0.013	2.267	0.360
42	27.180	1572.000	1522.000	1.170	0.047	2.249	0.242
43	32.520	1577.670	1523.670	1.180	0.021	2.760	0.370
44	31.900	1603.000	1535.000	1.160	0.014	2.644	0.421
45	80.180	1706.670	1553.000	1.690	0.002	2.596	0.481

46	54.690	1641.000	1540.000	1.380	0.004	2.693	0.474
47	36.140	1577.000	1513.670	1.210	0.025	2.520	0.306
48	41.370	1741.000	1605.670	1.200	0.004	2.289	0.540
49	51.100	1565.000	1492.670	1.350	0.012	2.621	0.404
50	58.410	1672.000	1566.670	1.410	0.004	2.655	0.405
51	42.160	1616.670	1537.000	1.240	0.010	2.547	0.406
52	40.790	1599.670	1535.000	1.290	0.020	2.566	0.520
53	39.620	1604.670	1529.000	1.260	0.026	2.318	0.406
54	57.800	1633.670	1530.670	1.400	0.003	2.877	0.434
55	53.570	1629.330	1541.000	1.400	0.005	2.531	0.468
56	18.190	1532.670	1496.000	1.110	0.132	2.520	0.202
57	43.790	1601.670	1528.000	1.280	0.016	2.793	0.374
58	38.180	1581.000	1510.670	1.290	0.036	2.305	0.309
59	40.330	1580.670	1515.000	1.300	0.032	2.399	0.385
60	27.010	1539.670	1496.000	1.180	0.039	2.467	0.312
61	40.580	1594.000	1522.000	1.260	0.029	2.523	0.270
62	47.430	1645.000	1566.000	1.310	0.007	2.530	0.430
63	46.470	1604.000	1529.670	1.330	0.015	2.861	0.408
64	25.750	1588.670	1547.000	1.110	0.011	2.471	0.286
65	28.120	1563.000	1514.000	1.120	0.052	2.455	0.187
66	25.240	1554.000	1505.000	1.120	0.076	2.387	0.207
67	65.550	1687.000	1561.000	1.500	0.001	2.502	0.467
68	33.910	1584.330	1521.000	1.160	0.017	2.609	0.313
69	29.680	1616.000	1555.000	1.100	0.017	2.059	0.307
70	40.200	1607.000	1524.000	1.250	0.019	2.416	0.326
71	41.940	1633.000	1549.670	1.210	0.008	2.438	0.257
72	25.310	1550.670	1511.000	1.140	0.060	2.852	0.297
73	57.700	1613.000	1535.000	1.400	0.005	3.295	0.436
74	38.730	1600.000	1531.330	1.210	0.016	2.459	0.341
75	43.260	1605.000	1524.000	1.290	0.018	2.379	0.415
76	35.650	1626.000	1535.330	1.190	0.023	2.044	0.252
77	39.710	1575.000	1500.330	1.350	0.002	2.727	0.265
78	20.130	1538.000	1495.000	1.120	0.128	2.393	0.158
79	54.310	1631.670	1538.000	1.400	0.011	2.584	0.409
80	63.710	1645.330	1531.000	1.490	0.006	2.753	0.432
81	41.150	1601.000	1521.000	1.250	0.013	2.375	0.349
82	68.870	1735.670	1541.000	1.580	0.002	2.246	0.426
83	50.530	1619.000	1521.000	1.310	0.007	2.664	0.407
84	38.370	1583.670	1502.000	1.200	0.019	2.285	0.257
85	37.840	1572.000	1511.000	1.270	0.034	2.454	0.320
86	53.460	1657.330	1534.000	1.380	0.006	2.329	0.351
87	34.670	1577.000	1506.330	1.190	0.037	2.451	0.244
88	48.390	1608.330	1536.000	1.340	0.014	2.786	0.322
89	54.780	1607.670	1517.000	1.370	0.007	3.033	0.408
90	42.400	1599.000	1522.670	1.330	0.023	2.432	0.284
91	57.950	1649.000	1539.330	1.500	0.009	2.383	0.387
92	42.670	1617.330	1533.670	1.250	0.005	2.792	0.382
93	35.100	1620.330	1556.670	1.200	0.010	2.706	0.452
94	55.330	1627.670	1532.000	1.500	0.004	2.589	0.412
95	52.520	1642.000	1531.670	1.390	0.007	2.520	0.358

96	63.040	1626.670	1529.670	1.540	0.009	2.745	0.436
97	44.110	1608.000	1527.000	1.310	0.014	2.397	0.314
98	51.660	1620.000	1522.000	1.360	0.005	2.913	0.530
99	42.500	1591.000	1529.000	1.290	0.014	2.841	0.451

Mt. Sinai School of Medicine

k = 1.215 d0 = 104.1(1.000H) 6.439

Apr 7 14:32 1995 [113 x 144]
 Hologic QDR-2000 (S/N 2623)
 Array Spine Medium V4.66A:1

V04079508 Fri Apr 7 14:27 1995
 Name: MACKLER, ANNE D.
 Comment: VISIT # 1/2000
 I.D.: Sex: F
 S.S.#: - - Ethnic: W
 ZIP Code: 10023 Height: 5' 7"
 Scan Code: WF Weight: 123
 BirthDate: 06/05/41 Age: 53
 Physician: LUCKEY, M.
 Image not for diagnostic use

TOTAL BMD CV FOR L1 - L4 1.0%

C.F. 0.983 0.989 1.000

Region	Est.Area (cm ²)	Est.BMC (grams)	BMD (gms/cm ²)
L1	12.06	10.76	0.892
L2	14.01	14.43	1.030
L3	14.79	15.19	1.027
L4	15.97	15.43	0.966
TOTAL	56.83	55.82	0.982

 HOLOGIC

Mt. Sinai School of Medicine

A Lumbar Spine Reference Database •

BMD(L1-L4) = 0.982 g/cm²

Region	BMD	T(30.0)		Z	
L1	0.892	-0.30	96%	+0.56	107%
L2	1.030	+0.02	100%	+0.98	112%
L3	1.027	-0.52	95%	+0.50	106%
L4	0.966	-1.36	87%	-0.32	96%
L1-L4	0.982	-0.59	94%	+0.40	105%

♦ Age and sex matched

T = peak bone mass

Z = age matched

TK 11/04/91

U04079508 Fri Apr 7 14:27 1995
 Name: MACKLER, ANNE D.
 Comment: VISIT # 1/2000
 I.D.: Sex: F
 S.S.#: - Ethnic: W
 ZIP Code: 10023 Height: 5' 7"
 Scan Code: WF Weight: 123
 BirthDate: 06/05/41 Age: 53
 Physician: LUCKY, M.

 HOLOGIC

Mt. Sinai School of Medicine

k = 1.229 d0 = 109.5(1.000H) 5.585

Apr 7 14:17 1995 [111 x 98]
Hologic QDR-2000 (S/N 2623)
Array Left Hip Medium V4.66A:1

V04079506 Fri Apr 7 14:12 1995
Name: MACKLER, ANNE D.
Comment: VISIT # 1/2000
I.D.: Sex: F
S.S.#: - - Ethnic: W
ZIP Code: 10023 Height: 5' 7"
Scan Code: WF Weight: 123
BirthDate: 06/05/41 Age: 53
Physician: LUCKEY, M.
Image not for diagnostic use

TOTAL BMD CV 1.0%

C.F. 0.983 0.989 1.000

Region	Est.Area (cm ²)	Est.BMC (grams)	BMD (gms/cm ²)
Neck	5.28	3.83	0.726
Troch	12.18	9.30	0.764
Inter	16.77	19.04	1.136
TOTAL	34.22	32.17	0.940
Ward's	1.06	0.60	0.571

Midline (112,110)-(194, 60)

Neck -51 x 15 at [26, 5]

Troch 11 x 47 at [0, 0]

Ward's -11 x 11 at [5, 3]

HOLOGIC

Mt. Sinai School of Medicine

A Left Hip

Reference Database •

BMD(Neck[L]) = 0.726 g/cm²

Region	BMD	T	Z
Neck	0.726	-1.69 81% (22.0)	-0.48 94%
Troch	0.764	+0.46 106% (30.0)	+1.15 116%
Inter	1.136	-0.08 99% (29.0)	+0.58 108%
TOTAL	0.940	-0.29 96% (28.0)	+0.44 106%
Ward's	0.571	-2.04 72% (20.0)	-0.11 98%

♦ Age and sex matched

T = peak bone mass

Z = age matched

TK

10/25/91

U04079506

Fri Apr 7 14:12 1995

Name:

MACKLER, ANNE D.

Comment:

VISIT # 1/2000

I.D.:

Sex: F

S.S.#:

- -

Ethnic: W

ZIP Code:

10023

Height: 5' 7"

Scan Code:

WF

Weight: 123

BirthDate: 06/05/41

Age: 53

Physician:

LUCKEY, M.

HOLOGIC

Mt. Sinai School of Medicine

k = 1.286 d0 = 127.4(1.000)[4]

Apr 7 14:09 1995 [176 x 101]
Hologic QDR-2000 (S/N 2623)
■Left Forearm V5.67

V04079505 Fri Apr 7 13:57 1995
Name: MACKLER, ANNE D.
Comment: VISIT # 1/2000
I.D.: Sex: F
S.S.#: - - Ethnic: W
ZIP Code: 10023 Height: 5' 7"
Scan Code: WF Weight: 123
BirthDate: 06/05/41 Age: 53
Physician: LUCKEY, M.
Forearm Length: 27.0 cm
Image not for diagnostic use

TOTAL BMD CV IS LESS THAN 1.0%
C.F. 1.002 1.066 1.000

RADIUS + ULNA	Area (cm ²)	BMC (grams)	BMD (gms/cm ²)
UD	5.69	2.26	0.398
MID	13.22	8.80	0.666
1/3	4.82	3.80	0.789
TOTAL	23.73	14.87	0.626

HOLOGIC

Mt. Sinai School of Medicine

L.Forearm

Reference Database •

BMD(Radius+Ulna[L] 1/3) = 0.789 g/cm²

Region	BMD	T	Z
1/3	0.789	+1.81 115% (20.0)	+2.75 125%
MID	0.666	+1.46 113% (20.0)	+2.46 124%
UD	0.398	-0.28 97% (20.0)	+0.42 106%
TOTAL	0.626	+1.22 111% (20.0)	+2.16 121%

♦ Age and sex matched

T = peak bone mass

Z =age matched

PS

10/25/91

V04079505

Fri Apr 7 13:57 1995

Name:

MACKLER, ANNE D.

Comment:

VISIT # 1/2000

I.D.:

Sex: F

S.S.#:

- -

Ethnic: W

ZIP Code: 10023

Height: 5' 7"

Scan Code: WF

Weight: 123

BirthDate: 06/05/41

Age: 53

Physician: LUCKEY, M.

HOLOGIC

Tabela 4.15- Medidas ultra-sônicas e densitométricas no calcânhar. (média de três medidas).

Patient #	Age	Weight (lbs)	Height (inches)	Hip Neck T-score	Fracture (FX)	Heel (Thickness) (inches)	MIF (KHz)	MIFref (KHz)	1-(MIF/MIFref) (R=MIF/MIFref)	Pulse Duration Ratio	Energy Ratio	V(1) (m/s)	V(5) (m/s)	BUA (dB/MHz)	BMD (g/cm ²)
1	44	114	62	-0.96	0	4.569	295	785	0.624	2.5	0.071	1500	1695	106.89	0.798
2	58	171	67	-1.86	2	4.1	372	785	0.526	1.85	0.045	1523	1697	76.487	0.708
3	77	183	61	-3.39	2	5.988	388	785	0.506	1.65	0.093	1474	1584	67.445	0.556
7	75	125	61	-3.19	2	3.656	426	785	0.457	1.35	0.309	1479	1672	53.261	0.575
8	24	116	66	-0.24	0	3.896	272	785	0.654	2.6	0.039	1501	1746	117.937	0.871
9	50	106	62	-0.42	0	4.462	333	785	0.576	2.05	0.02	1530	1795	97.485	0.553
10	53	123	67	-1.69	0	4.09	332	785	0.577	2.05	0.004	1556	1762	93.643	0.726
11	75	120	57	-2.77	0	4.26	303	785	0.614	2.2	0.072	1513	1727	99.577	0.617
12	51	110	64	-1.48	0	4.287	263	785	0.665	2.5	0.011	1509	1714	114.84	0.747
13	46	165	61	-1.53	0	4.63	321	785	0.591	1.9	0.041	1491	1686	84.256	0.741
14	37	146	67	-0.32	0	4.509	285	785	0.637	3	0.114	1526	1716	107.594	0.862
15	65	118	64	-2.15	0	4.083	275	785	0.650	2.85	0.046	1509	1714	130.91	0.68
16	54	170	67	-2.49	0	5.025	321	785	0.591	2.2	0.198	1476	1636	94.265	0.645
17	54	120	67	-2.39	0	3.827	324	785	0.587	2.1	0.14	1513	1738	92.643	0.656
19	43	178	70	2.1	0	4.484	292	785	0.628	2.45	0.007	1514	1707	116.263	1.105
20	50	122	65	-1.66	0	4.322	330	785	0.580	2	0.227	1491	1658	83.898	0.729
21	53	116	61	-2.53	2	4.169	318	785	0.595	2	0.073	1493	1711	88.825	0.642
22	38	102	62	-2.54	0	4.259	407	785	0.482	1.55	0.053	1529	1647	57.882	0.64
23	49	132	66	4.23	0	4.489	250	785	0.682	3.2	0.014	1569	1770	88.498	1.318
25	50	115	64	-2.74	0	3.725	332	785	0.577	2	0.372	1535	1741	80.559	0.621
26	51	135	62	-1.94	2	4.756	309	785	0.606	2.3	0.165	1500	1689	91.824	0.701
27	67	101	60	-3.09	0	4.393	408	785	0.480	1.6	0.658	1503	1637	63.522	0.586
28	61	144	67	-1.6	0	4.904	281	785	0.642	2.7	0.127	1504	1631	79.113	0.735
29	50	155	71	-1.06	0	4.397	282	785	0.641	2.55	0.105	1503	1722	115.839	0.788
30	75	155	65	-2.05	0	4.322	369	785	0.530	2.05	0.245	1521	1658	84.25	0.69
31	51	153	67	-1.65	0	4.621	325	785	0.586	2.15	0.065	1517	1695	103.24	0.729
32	42	120	64	-1.75	0	4.277	274	785	0.651	2.7	0.415	1534	1748	123.431	0.72
33	67	106	65	-5.08	3	4.627	466	785	0.406	1.55	0.76	1486	1576	45.959	0.387
34	45	182	65	2.74	0	4.679	259	785	0.670	3.1	0.051	1554	1788	121.47	1.169
35	54	166	68	-1.67	2	5.053	279	785	0.645	2.4	0.044	1501	1685	102.075	0.728
36	50	158	65	2.06	0	4.517	286	785	0.636	2.6	0.029	1541	1748	110.933	1.101

37	69	118	64	-1.97	0	4.018	313	785	0.601	2.05	0.211	1507	1702	85.453	0.697
38	66	153	65	-3.3	0	5	326	785	0.585	1.9	0.066	1503	1666	81.753	0.564
39	62	145	66	-3.49	2	4.452	282	785	0.641	2.4	0.004	1491	1665	103.554	0.546
40	87	138	65	-6.12	-1	4.494	458	785	0.417	1.4	1.176	1466	1568	49.805	0.283
41	73	88	56	-4.24	0	3.844	352	785	0.552	1.9	0.07	1517	1734	78.153	0.471
42	55	118	63	-3.22	0	4.079	389	785	0.504	1.65	0.782	1483	1611	65.831	0.573
43	68	142	64	-3.88	2	5.161	387	785	0.507	1.6	0.236	1472	1600	64.271	0.507
45	62	145	66	-1.6	0	5.069	379	785	0.517	1.65	0.233	1501	1614	67.729	0.734
46	52	130	64	-1.28	0	4.379	339	785	0.568	2.05	0.265	1497	1663	85.366	0.768
47	57	133	60	-2.68	0	4.461	284	785	0.638	2.6	0.038	1519	1738	111.993	0.627
48	71	88	58	-5.23	2	4.098	399	785	0.492	1.65	0.886	1493	1655	63.611	0.371
49	69	95	64	-5.26	0	4.909	409	785	0.479	1.5	0.3	1492	1622	58.833	0.369
50	61	139	61	-3.7	2	4.598	443	785	0.436	1.5	0.083	1512	1656	45.589	0.524
51	67	128	59	-3.02	0	4.309	322	785	0.590	2.1	0.196	1522	1734	91.419	0.593
52	50	130	62	-3.8	-1	4.017	326	785	0.585	1.85	0.119	1462	1710	80.414	0.514
53	51	135	66	-0.58	0	4.287	263	785	0.665	2.5	0.011	1509	1714	114.84	0.836
54	56	140	65	-1.4	0	4.72	373	785	0.525	1.45	0.104	1513	1650	67.486	0.754
55	53	98	63	-2.95	0	4.093	383	785	0.512	1.5	0.091	1466	1656	63.142	0.6
56	38	172	62	-0.67	0	4.543	299	785	0.619	2	0.039	1530	1485	83.731	0.827
57	52	157	65	-0.91	0	4.497	320	785	0.592	2.2	0.127	1501	1662	89.875	0.807
58	59	115	63	-1.83	0	3.947	321	785	0.591	2.25	0.091	1543	1764	104.154	0.71
59	48	133	67	-1.1	2	4.508	304	785	0.613	2.5	0.221	1535	1700	85.62	0.785
60	48	190	65	-1.18	0	6.199	244	785	0.689	3.75	0.011	1481	1638	66.714	0.776
61	67	145	63	-3.47	0	4.131	443	785	0.436	1.3	0.024	1492	1599	50.213	0.548
62	66	121	62	-3.52	0	3.89	385	785	0.510	1.6	0.095	1498	1713	68.218	0.543
64	51	103	60	-3.26	0	3.958	365	785	0.535	1.8	0.161	1519	1680	77.663	0.569
65	47	128	65	-1.69	0	4.359	310	785	0.605	2.4	0.004	1518	1712	109.184	0.725
66	47	178	62	-1.72	0	5.319	341	785	0.566	2.1	0.083	1515	1632	85.086	0.723
68	56	235	68	-0.96	0	5.589	307	785	0.609	2.4	0.052	1514	1664	100.689	0.799
70	48	117	63	-2.36	0	4.447	244	785	0.689	2.55	0.011	1505	1811	92.081	0.658
71	44	145	69	-2.13	0	4.198	293	785	0.627	2.6	0.066	1534	1689	84.122	0.681
72	51	140	62	-4.57	0	4.544	292	785	0.628	2.35	0.028	1505	1731	114.889	0.438
73	61	130	67	-2.97	0	4.223	348	785	0.557	1.9	0.149	1529	1705	78.951	0.598
74	62	150	64	-2.31	0	5.137	352	785	0.552	1.8	0.158	1476	1628	78.235	0.663
75	51	122	63	-0.78	0	3.202	308	785	0.608	2.7	0.057	1540	1902	99.543	0.816
76	42	145	69	2.4	0	4.446	236	785	0.699	3.7	0.008	1548	1875	105.945	1.135

77	45	116	62	-2.37	0	4.248	299	785	0.619	2.4	0.032	1536	1788	103.509	0.658
78	59	145	71	-3.29	0	4.702	465	785	0.408	1.3	0.638	1479	1599	47.367	0.565
79	63	136	65	-1.92	2	4.714	337	785	0.571	1.95	0.029	1483	1676	92.439	0.703
80	48	145	61	-2.62	0	4.562	329	785	0.581	2.05	0.014	1498	1701	100.01	0.632
81	53	177	66	-1.61	0	4.578	305	785	0.611	2.2	0.032	1513	1724	101.324	0.733
82	65	140	64	-3.14	2	4.397	360	785	0.541	1.65	0.12	1471	1650	75.215	0.581
84	63	120	65	-3.65	2	4.51	343	785	0.563	1.85	0.08	1482	1670	85.102	0.529
87	90	500	61	-4.6	2	6.235	433	785	0.448	1.55	0.063	1500	1600	61.061	0.442
94	71	135	64	-2.35	0	4.294	299	785	0.619	2.25	0.177	1474	1680	106.888	0.66
95	54	140	62	-1.87	0	4.998	335	785	0.573	2.15	0.111	1498	1688	86.207	0.708
96	62	130	60	-3.22	0	4.391	256	785	0.674	2.5	0.052	1506	1742	75.195	0.572
97	51	139	62	-0.54	0	4.434	215	785	0.726	3.6	0.054	1519	1813	112.135	0.841
98	51	137	68	-1.47	0	4.627	211	785	0.731	3.4	0.013	1560	1846	103.202	0.748
99	55	116	65	-3.74	0	4.56	327	785	0.583	1.55	0.258	1483	1733	82.453	0.521
100	27	128	67	0.49	0	4.805	255	785	0.675	3.1	0.005	1579	1894	117.494	0.944
103	67	114	64	-3.74	0	4.081	336	785	0.572	1.95	0.322	1488	1695	82.872	0.521
104	65	126	66	-1.92	0	4.504	404	785	0.485	1.4	0.124	1493	1676	56.861	0.702
105	70	128	62	-3.11	0	5.979	283	785	0.639	2.75	0.014	1506	1659	104.527	0.584
107	68	129	66	-1.88	0	4.682	303	785	0.614	2.45	0.053	1532	1727	107.982	0.706
108	55	110	63	-2.61	0	5.263	257	785	0.673	2.85	0.015	1482	1718	92.278	0.633
109	49	134	65	-0.92	0	4.79	247	785	0.685	3.15	0.068	1503	1777	130.786	0.803
110	60	100	61	-3.73	0	4.453	296	785	0.623	2.15	0.134	1467	1704	90.826	0.522
111	56	129	66	-2.47	0	4.401	308	785	0.608	2	0.129	1489	1707	88.801	0.648
113	60	108	65	-4.28	1	4.427	315	785	0.599	2.15	0.131	1481	1662	96.087	0.466
114	58	149	65	-2.88	0	5.633	322	785	0.590	2.2	0.045	1510	1644	91.693	0.607
115	72	128	62	-3.58	1	5.288	313	785	0.601	2.35	0.217	1480	1585	92.009	0.537
116	25	155	65	0.84	0	4.883	285	785	0.637	2.5	0.029	1523	1736	116.457	0.979
117	27	130	62	-0.44	2	4.563	267	785	0.660	2.75	0.069	1536	1767	115.919	0.851
118	58	125	63	-1.79	0	4.118	310	785	0.605	2.25	0.085	1505	1704	97.42	0.715
119	50	127	63	-1.54	0	4.165	319	785	0.594	2.25	0.307	1502	1666	89.211	0.741
120	52	113	63	-1.35	0	4.184	355	785	0.548	1.75	0.158	1518	1696	74.258	0.76
121	76	140	65	-2.34	0	5.224	356	785	0.546	1.95	0.059	1486	1627	85.25	0.66
122	49	120	66	-2.55	0	4.062	321	785	0.591	1.85	0.051	1480	1717	79.821	0.639
123	63	150	64	-0.63	0	4.559	291	785	0.629	2.25	0.025	1497	1701	96.782	0.832
124	41	141	60	-2.22	0	5.19	294	785	0.625	3	0.086	1493	1632	80.962	0.673
125	39	185	64	0.63	0	4.689	333	785	0.576	2.2	0.019	1554	1719	94.756	0.958

126	65	160	66	-2.93	0	4.882	300	785	0.618	2.3	0.135	1472	1646	105.923	0.602
127	50	145	67	-1.89	0	5.126	314	785	0.600	2.1	0.009	1541	1711	95.437	0.706
128	57	112	63	-3.11	2	4.128	374	785	0.524	1.85	0.367	1509	1674	73.23	0.583
129	60	145	66	-1.24	0	5.46	284	785	0.638	2.5	0.129	1489	1635	97.156	0.77
130	52	124	67	-2.66	0	5.095	364	785	0.536	1.8	0.202	1496	1635	74.399	0.629
131	55	122	64	-2.31	0	4.133	395	785	0.497	1.5	0.117	1516	1686	62.086	0.664
132	57	130	68	-1.98	0	4.268	309	785	0.606	2.1	0.174	1501	1705	83.33	0.696
133	53	155	67	0.85	0	4.717	312	785	0.603	2.2	0.078	1504	1687	103.155	0.98
134	55	136	68	-2.33	0	4.579	328	785	0.582	1.9	0.031	1493	1680	80.797	0.661
135	70	118	65	-4.14	2	4.508	333	785	0.576	1.85	0.152	1465	1632	82.443	0.481
136	51	155	64	-1.62	0	4.863	282	785	0.641	1.95	0.03	1484	1651	89.093	0.733
137	67	145	65	-4.04	0	4.95	364	785	0.536	1.95	0.01	1484	1609	84.12	0.491
138	57	135	60	-1.09	0	4.263	350	785	0.554	1.95	0.203	1513	1686	74.461	0.786
139	43	120	60	-2.2	0	5.171	301	785	0.617	2.5	0.085	1510	1657	94.712	0.674
140	39	150	66	-0.78	0	5.172	335	785	0.573	2.2	0.148	1519	1647	81.207	0.817
141	50	122	64	-1.2	0	4.197	313	785	0.601	2.3	0.257	1503	1695	90.939	0.774
142	51	130	64	-0.51	2	4.547	333	785	0.576	1.95	0.172	1478	1627	84.508	0.843
144	52	134	63	-1.86	0	4.17	317	785	0.596	2.3	0.165	1535	1721	93.862	0.708
145	54	113	62	-3	0	4.397	336	785	0.572	2.15	0.07	1521	1720	86.662	0.595
146	53	106	63	-2.35	0	4.593	379	785	0.517	1.65	0.329	1497	1637	68.011	0.66
147	50	128	63	-0.22	0	4.402	311	785	0.604	2.45	0.289	1499	1683	100.461	0.872
148	80	180	62	-2.23	0	5.74	342	785	0.564	2.05	0.096	1478	1610	85.359	0.671
149	56	125	61	-3.45	0	4.618	365	785	0.535	1.7	0.027	1506	1676	75.257	0.549
150	58	163	65	-2.84	0	5.352	342	785	0.564	1.9	0.011	1480	1615	82.841	0.611
151	51	135	64	-2.43	0	4.799	312	785	0.603	2.4	0.177	1503	1675	96.566	0.652
152	81	154	62	-3.91	2	5.62	403	785	0.487	1.6	0.203	1460	1533	59.259	0.504
153	71	161	59	-2.94	0	5.313	371	785	0.527	2	0.074	1500	1632	79.228	0.601
154	77	124	62	-4.88	3	5.828	458	785	0.417	1.4	0.587	1477	1559	52.495	0.407
155	76	112	60	-4.87	2	4.584	456	785	0.419	1.3	1.149	1493	1611	49.519	0.408
156	86	123	64	-3.77	0	5.175	431	785	0.451	1.55	0.147	1502	1623	54.036	0.517
157	68	155	64	-2.73	0	5.327	349	785	0.555	2.15	0.062	1511	1647	89.048	0.622
158	62	133	63	-2.87	0	4.959	418	785	0.468	1.5	0.798	1482	1579	61.671	0.608
159	29	145	69	0.21	0	4.096	311	785	0.604	2.55	0.098	1520	1743	115.577	0.915
160	62	115	61	-3.23	0	4.372	387	785	0.507	1.75	0.38	1484	1646	68.909	0.572
161	78	133	66	-3.86	0	5.74	357	785	0.545	1.8	0.139	1473	1601	74.408	0.509
162	84	102	58	-4.38	2	4.553	455	785	0.420	1.45	1.063	1487	1586	50.845	0.456

163	38	154	64	-2.99	0	5.084	327	785	0.583	2.5	0.138	1480	1597	87.559	0.595
164	68	125	61	-3.17	2	5.168	445	785	0.433	1.6	0.32	1507	1618	51.534	0.577
165	70	135	65	-3.77	1	5.522	344	785	0.562	2	0.031	1478	1607	88.618	0.517
166	57	160	65	-1.75	0	4.7	295	785	0.624	2.45	0.05	1558	1750	112.536	0.728
167	67	112	65	-3.89	0	4.564	411	785	0.476	1.6	0.607	1518	1626	60.774	0.505
168	80	120	60	-4.14	0	4.514	374	785	0.524	1.9	0.155	1503	1670	75.496	0.48
169	68	116	61	-3.81	0	3.9	397	785	0.494	1.65	0.108	1490	1660	65.917	0.514
170	60	82	57	-6.02	3	5.161	455	785	0.420	1.35	0.399	1502	1607	49.192	0.293
171	47	124	70	-3.31	0	4.568	338	785	0.569	2	0.125	1492	1663	93.685	0.564
172	47	115	62	-2.92	0	4.576	331	785	0.578	2.1	0.293	1510	1661	83.092	0.603
173	66	112	66	-3.42	1	4.347	403	785	0.487	1.55	0.578	1521	1643	61.852	0.552
174	66	155	63	-3.94	0	4.766	377	785	0.520	1.85	0.092	1475	1618	75.183	0.5
175	75	143	61	-4.12	2	4.373	347	785	0.558	2.1	0.02	1520	1681	92.699	0.482
176	50	145	67	-0.64	0	5.393	294	785	0.625	2.45	0.029	1540	1698	106.41	0.83
178	52	145	69	-1.29	0	5.094	296	785	0.623	2.3	0.066	1501	1653	88.817	0.766

8. BIBLIOGRAFIA

- Abdenshein W, Hyatt GW **Ultrasonics and selected physical properties of bone.** *Clinical Orthopaedics*, 49:294-301, 1970.
- Agren M, Karellas A, Leahey D, Marks S, Baran D **Ultrasound attenuation of the calcaneus: a sensitive and specific discriminator of osteopenia in postmenopausal women.** *Calcified Tissue International*, 48:240-244, 1991.
- Alves JM, Xu W, Lin D, Siffert RS, Ryaby JT, Kaufman JJ **Ultrasonic assessment of human and bovine trabecular bone: a comparison study.** *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 43(3):249-258, 1996a.
- Alves JM, Ryaby JT, Kaufman JJ, Magee FP, Siffert RS **Influence of marrow on ultrasonic velocity and attenuation in bovine trabecular bone.** *Calcified Tissue International*, 58:362-367, 1996b.
- Alves, J.M.; Kaufman, J.J.; Xu W.; Lin, D.; Siffert, R.S.; Ryaby, J.T.; Magee, F.P. **Ultrasonic assessment of human and animal trabecular bone: a comparison study** *2nd Combined Meeting of the Orthopaedic Research Societies of USA, Japan, Canada and Europe*, November 5-8, San Diego, California, USA, 1995a.
- Alves, J.M.; Ryaby, J.T.; Siffert, R.S.; Magee, F.P.; Kaufman, J.J. **Comparison of a contact and insert ultrasonic assessment technique** *17th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research*, September 9-13, Baltimore, Maryland, USA, 1995b.
- Ashman RB, Rho JY **Elastic modulus of trabecular bone material.** *Journal of Biomechanics*, 21:177-181, 1988
- Ashman B, Cowin SC, Van Burskirk WC, Rice JC **A continuous wave technique for the measurement of the elastic properties of cortical bone.** *Journal of Biomechanics*, 17:349-361, 1984.
- Baylink DJ **Glucocorticoid-induced osteoporosis.** *New England Journal of Medicine*, 309(5): 306-308, 1983.
- Baran DT **Quantitative ultrasound: a technique to target women with low bone mass for preventive therapy.** In: Delmas, PD (editor) **Osteoporosis: who should be treated ?** Proceedings of the Second International Conference on Osteoporosis, Paris, 1994 *The American Journal of Medicine*, 27:2A-1S, 1995.
- Baran DT, McCarthy CK, Leahey D, Lew R **Broadband ultrasound attenuation of the calcaneus predicts lumbar and femoral neck density in Caucasian women: a preliminary study.** *Osteoporosis International*, 1:110-113, 1991.

- Baran DT, Kelly AM, Karellas A, Gionet M, Price M, Leahey D, Steuterman S, McSherry B, Roche J **Ultrasound attenuation of the os calcis in women with osteoporosis and hip fractures.** *Calcified Tissue International*, 43:138-142, 1988.
- Blake GM, Herd Rjm, Miller CG, Fogelman I **Should broadband ultrasonic attenuation be normalized for the width of the calcaneus.** *The British Journal of Radiology*, 67:1206-1209, 1994.
- Biot MA **Generalized theory of acoustic propagation in porous dissipative media.** *Journal of Acoustical Society of America*, 34:1254-1264, 1962.
- Cameron JR, Sorenson J **Measurement of bone mineral in vivo: an improved method.** *Science*, 142:230-232, 1963.
- Carter DR, Hayes WC **The compressive behavior of bone as a two-phase porous structure** *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 59-A(7): 954-962, 1977.
- Chesney RW, Shore RM **The noninvasive determination of bone mineral content by photon absorptiometry** *American Journal of Disabled Child*, 136:578-580, 1982.
- Chiabrera A, Bianco B, Siffert RS, Kaufman JJ **Ultrasound measures both bone mass and architecture: theoretical results for an idealized model of trabecular bone.** Proceedings of 42nd Annual Meeting , Orthopaedic Research Society, February 19-22, Atlanta, Georgia: 600, 1996.
- Citron JT, Ettinger B, Genant HK **Prediction of peak premenopausal bone mass using a scale of weighted clinical variables.** In: Christiansen, C., Johansen, J.S., Riis, B.J., eds. *Osteoporosis*, Viborg, Denmark, Norhaven A/S, 146-149, 1987.
- Cummings SR, Nevitt MC **Epidemiology of hip fractures and falls.** In: Kleerekoper, M., Krane, S.M., eds. *Clinical Disorders of Bone and Mineral Metabolism*. New York, Mary Ann Liebert, Inc. Publishers, 231-236, 1989.
- Cummings SR, Kelsey JL, Nevitt MC, O'Dowd KJ **Epidemiology of osteoporosis and osteoporotic fractures.** *Epidemiology Review*, 7:178-208, 1985.
- Damilakis JE, Dretakis E, Gourtsoyiannis NC **Ultrasound attenuation of the calcaneus in the female population: normative data.** *Calcified Tissue International*, 51:180-183, 1992.
- Delmas PD **Introduction** In: Delmas, PD (editor) **Osteoporosis: who should be treated ?** Proceedings of the Second International Conference on Osteoporosis, Paris, 1994 *The American Journal of Medicine*, 27:2A-1S, 1995.

- Demuth H, Beale M **Neural network toolbox for use with MATLAB - User's Manual** The Matworks, Inc., Natick, Massachusetts, USA, 1992.
- Eastell R, Riggs BL, Wahner HW, O'Fallon WM, Amadio PC, Melton LJ. **Colle's fracture and bone density of the ultradistal radius.** *Journal of Bone and Mineral Research*, 4: 607-613, 1989.
- Eastell R, Naylor KE, Abdulrahmen A, Smith TWD, Langton CM **Comparison of ultrasound with DEXA. Ultrasonic assessment of osteoporosis and bone development.** *An Expert Workshop*, Cologne, 5-6th March, 1992.
- Evan WD, Jones EA, Owen GM **Factors affecting the in-vivo precision of broadband ultrasonic attenuation.**
- Evans WD, Crawley EO, Compton JE **Broadband ultrasonic attenuation and bone mineral density.** *Clinical Physics and Physiological Measurements*, 9:163-165, 1988.
- Evans WD, Crawley EO, Compston JE, Evans C, Owen GM **A comparison of broadband ultrasonic attenuation with single photon absorptiometry and quantitative computed tomography for the measurement of the bone mineral content.** *Proceedings of Physical Acoustic, IOP Short Meetings Series*, 6:27, 1987.
- Feldkamp LA, Goldstein SA, Parfitt AM, Jesion G, Kleerekoper M **The direct examination of the three-dimensional bone architecture in vitro by computed tomography.** *Journal of Bone and Mineral Research*, 4:3-11, 1989.
- Golstein SA, Goulet R, McCubbrey D **Measurement and significance of three-dimensional architecture to the mechanical integrity of trabecular bone.** *Calcified Tissue International*, 53 (Supplement 1): 127-133, 1993.
- Gluier CC, Wu CY, Jergas M, Goldstein SA, Genant HK **Three quantitative ultrasound parameters reflect bone structure.** *Calcified Tissue International*, 55:46-52, 1994.
- Gluier CC, Wu CY, Genant HK **Broadband ultrasound attenuation signals depend on trabecular orientation: an in vitro study.** *Osteoporosis International*, 3:185-191, 1993.
- Gluier CC, Vahlensieck M, Faulkner KG, Engelke K, Black D, Genant HK **Site matched calcaneal measurements of broadband ultrasound attenuation and single x-ray absorptiometry: do they measure different skeletal properties ?** *Journal of Bone and Mineral Research*, 7:1071-1079, 1992.
- Gluier CC, Faulkner KG, Engelke K, Black D, Genant HK **Broadband ultrasound attenuation of the heel versus single photon absorptiometry of the heel: do**

- these techniques measure different entities ?.** *Proceedings of American Society for Bone and Mineral Research*, pg. 343, 1991.
- Hagan MT, Demuth, HB, Beale M **Neural Network Design.** PWS Publishing Company, Boston, 1996.
- Hagan MT, Menhaj M **Training feedforward networks with the Marquadt algorithm.** *IEEE Transactions on Neural Networks*, 5(6), 1994.
- Hans D. Schott AM, Meunier PJ **Ultrasonic assessment of bone: a review.** *The Europeans Journal of Medicine*, 2(3):157-163, 1993.
- Heaney RP, Avioli LV, Chesnut CH, Lappe JR, Brandenburger GH **Osteoporotic bone fragility. Detection by ultrasound transmission velocity.** *Journal of American Medical Association*, 261:2986-2990, 1989.
- Herd RJM, Blake GM, Ramalingam t, Miller CG, Ryan PJ, Fogelman I **Measurements of postmenopausal bone loss with a new contact ultrasound system.** *Calcified Tissue International*, 53:153-157, 1993;
- Hornik KM, Stinchcombe M, White H **Multilayer feedforward networks are universal approximators.** *Neural Networks*, 2(5):359-366, 1989.
- Hosie CJ, Smith DA, Deacon AD, Langton CM **Comparison of broadband ultrasound attenuation of the os calcis and quantitative computed tomography of distal radius.** *Clinical Physics and Physiological Measurements*, 8:303-308, 1987.
- Houde JP, Marchetti M, Baran DT **Changes in broadband ultrasound attenuation of the calcaneus and bone density in early postmenopausal women.** *Clinical Research*, 42:210A, 1994.
- Hui SL, Slemenda CW, Johnston **Age and bone mass as predictors of fracture in a prospective study.** *Journal of Clinical Investigation*, 81:1804-1809, 1988.
- Johnson DL **Recent developments in the acoustic properties of porous media.** In: *Frontiers in physical acoustics*, XCIII Corso. Soc. Italiana di Fisica, Bologna, Italy, pg:255-290.
- Johnston Jr CC, Melton JM **Bone Density Measurement and the Management of Osteoporosis.** In: Favus, M.J. ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism.* New York, Raven Press, 138 1993.
- Jones PRM, Langton CM, Carr H **Broadband ultrasonic attenuation studies in sedentary and active young male adults and in bovine cancellous and cortical bone.** *IOP Short Meetings*, series #6:37-45, 1987.

- Kanis JA, Melton III LJ, Christiansen C, Johnston CC, Khaltsev N **Perspective: The diagnosis of Osteoporosis.** *Journal of Bone and Mineral Research*, 9(8):1137-1141, 1994.
- Kaplan FS **Osteoporosis: Pathology and Prevention** *Clinical Symposia*, 39 (1), 1987.
- Kaufman JJ, Xu Wei, Chiabrera AE, Siffert RS **Diffraction effects in insertion mode estimation of ultrasonic group velocity.** *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, 42(2):232-242, 1995.
- Kaufman JJ, Einhorn TA **Perspectives: Ultrasound Assessment of Bone,** *Journal of Bone and Mineral Research*, 8(5): 518-525, 1993a.
- Kaufman JJ, Chiabrera AE **Ultrasonic bone assessment apparatus and method.** *United States Patent # 5,259,384*, November, 1993b.
- Kaufman JJ, Chiabrera A, Fallot S, Alves JM, Hermann G, Siffert RS, Grabowski G **Ultrasonic bone tissue characterization in Gaucher disease type I.** In: Ermet, H., Harjes, H.P. eds. *Acoustical Imaging*, vol.19, Plenum Press, New York, 399-402, 1992.
- Keaveny TM **A 20-Year Perspective on the Mechanical Properties of Trabecular Bone,** *Journal of Biomechanical Engineering*, 115:534-542, 1993.
- Kelsey JL **Osteoporosis: Prevalence and incidence.** In: *Osteoporosis*, Proceedings of the National Institute of Health Consensus Development Conference, April 2-4, 25-28, 1984.
- Kanis JA **Assessment of Fracture Risk and its Application to Screening for Postmenopausal Osteoporosis: Synopsis of a WHO Report,** *Osteoporosis International*, 4:368-381, 1994.
- Kinney JH, Lane NE, Haupt DL **In-vivo, three-dimensional microscopy of trabecular bone.** *Journal of Bone and Mineral Research*, 10(2). 1995.
- Kleerekoper M, Avioli LV **Evaluation and Treatment of Postmenopausal Osteoporosis.** In: Favus, M.J. ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism.* New York, Raven Press, 223. 1993
- Kleerekoper M, Villanueva AR, Stanciu J, Rao DS, Parfitt AM. **The role of three-dimensional trabecular microstructure in the pathogenesis of vertebral compression,** *Calcified Tissue International*, 37:594-597, 1985.
- Kolsky H **Stress Waves in Solids,** Dover, New York, 1963.

- Kotzki PO, Buyck D, Hans D, Thomas E, Bonnel F, Favier F, Meunier PJ, Rossi M **Influence of fat on ultrasound measurements of the os calcis.** *Calcified Tissue International*, 54:91-95, 1994.
- Kuhn JL, Goldstein S.A., Feldkamp LA, Goulet RW, Jesion G. **Evaluation of a microcomputed tomography system to study trabecular bone structure** *Journal of Orthopaedic Research*, 8(6):833-842, 1990.
- Lakes R, Yoon HS, Katz JL **Ultrasonic wave propagation and attenuation in wet bone.** *Journal of Biomedical Engineering*, 8:143-148, 1986.
- Langton CM, Evans GP **Dependence of ultrasonic velocity and attenuation on the material properties of cancellous bone (abstract).** *Osteoporosis International*, 1:194, 1991.
- Langton CM, Ali AV, Riggs CM, Evan GP, Bonfield W **A contact method for the assessment of ultrasonic velocity and broadband attenuation in cortical and cancellous bone.** *Clinical Physics and Physiological Measurements*, 11:243-249, 1990.
- Langton CM, Palmer SB, Porter RW **The measurement of broadband ultrasonic attenuation in cancellous bone.** *Eng. Med.*, 13: 89-91, 1984.
- Lees B, Stevenson JC **Preliminary evaluation of a new ultrasound bone densitometer.** *Calcified Tissue International*, 53:149-152, 1993.
- Lees B, Stevenson JC **Performance of a new ultrasound bone densitometer.** *Current Research in Osteoporosis and Bone Mineral Measurement II*, Bath Conference, pg.44, 1992.
- Lin D, Xu W, Klein M, Einhorn T, Pilla AA, Siffert RS, Kaufman JJ **Effect of physical factors on ultrasound attenuation and velocity in bone (abstract).** *Proceedings of 39th Annual Meeting, Orthopaedic Research Society, February 15-18, San Francisc, CA, USA, 1993.*
- Luckey M, Murphy G, Fitzpatrick D, Figueroa W, DiPerna C, Magee F, Ryaby JT, Alves JM, Einhorn TA, Kaufman JJ **A new and simplified ultrasonic system for clinical bone assessment.** *Proceedings of 42nd Annual Meeting, Orthopaedic Research Society, Atlanta, GA, EUA, 1996.*
- Marone MS, Lewin S, Bianco AC, Correa PHS, **Diagnóstico de osteoporose através da densitometria de dois fótons.** *Revista da Associação Médica Brasileira*, 35(2), 1989.
- Martin RB, **Porosity and Specific Surface of Bone.** *CRC Critical Reviews in Biomedical Engineering*, Vol 10, Issue 3, pp. 179-222, 1984.

- Mautalen C, Vega E, Gonzales D, Carrilero P, Otano A, Silberman F **Ultrasound and dual x-ray absorptiometry densitometry in women with hip fracture.** *Calcified Tissue International*, 57:165-168, 1995.
- Massie A, Reid DM, Porter RW **Screening for osteoporosis: dual energy x-ray absorptiometry and broadband ultrasound attenuation in 1000 perimenopausal women.** *Bone and Tooth Society*, Spring Meeting, March 23rd, 1992.
- Mazess RB, Hanson J, Bonnicksen SL **Ultrasound measurement of the os calcis.** *British Bone and Tooth Society*, 1991a.
- Mazess RB, Wahner HW **Nuclear medicine and densitometry.** In: Riggs B.L., Melton L.J., eds. *Osteoporosis: Etiology, Diagnosis and Management*. New York, Raven Press, 25: 281-288, 1988.
- McCloskey EV, Murray SA, Miller C, Charlesworth D, Tindale W, O'Doherty DP, Bickerstaff DR, Handley NAT, Kanis JA. **Broadband ultrasound attenuation in the os calcis: relationship to bone mineral at other skeletal sites.** *Clinical Science*, 78:227-233, 1990a.
- McCloskey EV, Murray SA, Charlesworth D **Assessment of broadband ultrasound attenuation in the os calcis in vitro.** *Clinical Science*, 78:221-225, 1990b.
- McCulloch W, Pitts, W **A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity.** *Bulletin of Mathematical Biophysics*, 5:115-133, 1943.
- McKelvie ML, Fordham J, Clifford C, Palmer SB **In-vitro comparison of quantitative computed tomography and broadband ultrasonic attenuation in the os calcis in vitro.** *Bone*, 10:101-104, 1989.
- Melton LJ **Epidemiology of fractures** In: Riggs B.L., Melton L.J., eds. *Osteoporosis: Etiology, Diagnosis and Management*. New York, Raven Press, 133-154, 1988a
- Melton LJ, Chao EYS, Lane J **Biomechanical aspects of fractures. Chapter 4.** In: Riggs B.L., Melton L.J., eds. *Osteoporosis: Etiology, Diagnosis and Management*. New York, Raven Press, 111-131, 1988b
- Melton LJ, Cummings SR **Heterogeneity of age-related fractures: Implications for epidemiology.** *Bone Mineral*, 2: 321-331, 1987
- Melton, LJ, Wahner, H.W **Osteoporosis and the risk for hip fracture.** *American Journal of Epidemiology*, 124: 254-261, 1986.

- Miller CG, Porter RW **The prediction of fracture of the proximal femur by broadband ultrasonic attenuation.** In: Christiansen, C., Johansen, J.S., Riis, B.J. eds. *Osteoporosis*, Osteopress ApS, Copenhagen, 414, 1987.
- Naylor KE, Langton CM, Smith TWD, Eastell R **Broadband ultrasound attenuation of the calcaneus: relationship to bone mineral density measured by dual energy x-ray absorptiometry at several sites.** *Proceedings of American Society of Bone and Mineral Research*, pg. 352, 1991.
- Odgaard A, Gundersen JG **Quantification of connectivity in cancellous bone, with special emphasis on 3-D reconstructions** *Bone*, 14:173-182, 1993.
- Palacios S, Menendez C, Calderon J, Rubio S **Spine and femur density and broadband ultrasound attenuation of the calcaneus in normal Spanish women.** *Calcified Tissue International*, 52:99-102, 1993.
- Palmer SB, Langton CM **Ultrasonic studies of the os calcis.** In: *Ultrasonic studies of bone*, 71:452-460, 1988
- Poll V, Cooper C, Cawley MID **Broadband ultrasonic attenuation in the os calcis and single photon absorptiometry in the distal forearm: a comparative study.** *Clinical Physics and Physiological Measurements*, 7:375-379, 1896.
- Porter RW, Miller CG, Grainger D, Palmer SB **Prediction of hip fracture in elderly women: a prospective study.** *British Medical Journal*. 301:638-641, 1990.
- Reed GW, Atkinson PJ **Studies on bone mineralization.** *British Empire Cancer Campaign Annual Report*, 43:465, 1965.
- Reid DM, Massie A, Porter RW **Bone mineral density and structure: comparison of hip and spine dual energy x-ray absorptiometry with broadband ultrasound attenuation for osteoporosis screening (abstract).** *Osteoporosis International*, 1:194, 1991.
- Resch H, Pietschmann P, Bernecker P, Krexner E, Willvonseder R **Broadband ultrasound attenuation: a new diagnostic method in osteoporosis.** *AJR*, 155:825-828, 1990.
- Rice JC, Cowin SC, Bowman JA **On the dependence of the elasticity and strength of cancellous bone on apparent density,** *Journal of Biomechanics*, 21:155-168, 1988.
- Richardson ML, Pozzi-Mucelli RS, Kanter AS, Kolb FO, Ettinger B, Genant HJ **Bone mineral changes in primary hyperparathyroidism.** *Skeleton Radiology*, 15: 85-95, 1986.

- Riggs BL, Wahner HW **Changes in bone mineral density of the proximal femur and spine with aging: Differenced between the postmenopausal and senile osteoporosis syndromes.** *Journal of Clinical Investigation*, 70:716-723, 1982.
- Riggs BL **Differential changes in bone mineral density of the appendicular and axial skeleton with aging.** *Journal of Clinical Investigation*, , 67:330, 1981.
- Ross PD , Wasnich RD, Vogel JM. **Detection of prefracture spinal osteoporosis using bone mineral absorptiometry.** *Journal of Bone and Mineral Research*, 3:1-11,1988.
- Rossman P, Zagzebski J, Mesina C, Sorenson J, Mazess R **Comparison of speed of sound and ultrasound attenuation of the os calcis to bone density of the radius, femur and lumbar vertebrae.** *Clinical Physics and Physiological Measurements*, 4:353-360, 1989.
- Roux C, Lemonnier E, Kolta S, Charpentier S, Dougados M, Amor B, Veins-Bitker C **Broadband ultrasound attenuation of the calcaneus and bone density measurements.** *Revue du Rheumatisme*, 60:771-780, 1993.
- Salamone LM, Krall EA, Harris S, Dawson-Hughes B **Comparison of broadband ultrasound attenuation to single x-ray absorptiometry measurements at the calcaneus in postmenopausal women.** *Calcified Tissue International*, 54:87-90, 1994.
- Schott AM, Hand D, Sornay-Rendu E, Delmas PD, Meunier PJ **Ultrasound measurements on os calcis: precision and age-related changes in a normal female population.** *Osteoporosis International*, 3:249-254, 1993.
- Serpe L, Rho J **The nonlinear dependence of broadband ultrasound attenuation on bone mineral density: an in-vitro study.** *Proceedings of 41st Annual Meeting, Orthopaedics Research Society*, 20(2):541, 1995.
- Smith CB, Smith DA **Relations between age, mineral density, and mechanical properties of human femoral compacta.** *Acta of Orthopaedic Scandinavia*, 47:496-502, 1976.
- Tavakoli MB, Evans JA **The effect of bone structure on ultrasonic attenuation and velocity.** *Ultrasonics*, 30(6):389-395, 1992.
- Tavakoli MB, Evans JA **Dependence of the velocity and attenuation of ultrasound in bone on the mineral content.** *Physics and Medicine and Biology*, 36(11):1529-1537, 1991.
- Truscott JG, Simpson M, Stewart SP **Bone ultrasonic attenuation in women: reproductibility, normal variation and comparison with photon**

- absorptiometry.** *Clinical Physics and Physiological Measurements*, 13:29-36, 1992.
- Turner CH, Rho JH, Ashman RB, Cowin SC **The dependence of the elastic constants of cancellous bone upon structural density and fabric.** *Transactions 34th Annual Meeting Orthopaedic Research Society*, 13:74, 1988.
- Turner CH, Eich M **Ultrasonic velocity as a predictor of strength in bovine cancellous bone.** *Calcified Tissue International*, 49:116-119, 1991.
- VanDaele PLA, Burger H, Algra D **Age-associated changes in ultrasound measurements of the calcaneus in men and women: the Rotterdam study.** *Journal of Bone and Mineral Research*, 9:1751-1757, 1994.
- Zagzebski JA, Rossman PJ, Mesina C, Sorenson J, Mazess RB **Ultrasound transmission measurements through the os calcis** *Calcified Tissue International*, 49:107-111, 1991.
- Wahner HW, Steiger P, Stetten EV **Instruments and Measurement Techniques**
In: Wahner, Hw, FogelmanI (eds) *The Evaluation of osteoporosis: Dual energy X-ray absorptiometry in clinical practice*, Martin Dunitz Ltd, London, New York, first edition/1st reprinted, pg. 16, 1995
- Wahner HW, Dunn WL **Bone mineral analysis**, In: Williams, LE (ed.) *Nuclear Medicine Physics*, Vol.III, CRC Press, Boca Raton, Florida, 1987.
- Wahner HW **Bone mineral density of the radius: where do we stand ? 2** *Journal of Nuclear Medicine*, 26:1339-1341, 1985.
- Wahner HW, Dunn WL, Riggs BL **Assessment of Bone Mineral. Part 2** *Journal of Nuclear Medicine*, 25:1241-1253, 1984.
- Wasnich RD, Ross PD, Heilbrun LK, Vogel JM **Selection of the optimal site for fracture risk prediction.** *Clinical Orthopedics*, 216:262-268, 1987a.
- Wasnich RD, Ross PD, Vogel JM, Maclean CJ **The relative strenghts of osteoporotic risk factors in a prospective study of postmenopausal osteoporosis.** *Journal of Bone and Mineral Research*, 2 (Supplement 1): 343, 1987b.
- Waud CE, Lew R, Baran DT **The relationship between ultrasound and densitometric measurements of bone mass at the calcaneus in women.** *Calcified Tissue International*, 51:415-418, 1992.
- Waud CE, Lew R, Baran DT **Broadband ultrasound attenuation of the calcaneus correlates with density of the calcaneus: potential radiation free**

- technique to assess fracture risk.** *Proceedings of American Society for Bone and Mineral Research*, pg. 349, 1991.
- Werbos PJ Beyond regression: new tools for prediction and analysis in the behavioral sciences.** Ph.D. thesis, Harvard University, Cambridge, MA, 1974.
- Widrow B, Stearns, SD Adaptive Signal Processing,** Englewood Cliffs, NJ., Prentice Hall, 1985.
- Williams JL Ultrasonic wave propagation in cancellous and cortical bone: prediction of some experimental results by Biot's theory.** *Journal of Acoustical Society of America*, 91(2):1106-1112, 1992.
- Wu CY, Gluer CC, Jergas M, Bendavid E, Genant HK The impact of bone size on broadband ultrasound attenuation.** *Bone*, 16(1):137-141, 1995.
- Xu W, Siffert RS, Kaufman JJ Application of wavelet analysis to ultrasonic characterization of bone.** In: Singh A, *Conference Record of the 20th Asilomar Conference on Signals, Systems and Computers*. IEEE Computer Society Press, pg:1090-1094.
- Xu W, Kaufman JJ Diffraction correction methods for insertion ultrasound attenuation estimation.** *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 40(6): 563-569, 1993.

APÊNDICE

Ultrasonic Assessment of Human and Bovine Trabecular Bone: A Comparison Study

José M. Alves, Wei Xu, David Lin, Robert S. Siffert, James T. Ryaby, and Jonathan J. Kaufman,* *Member, IEEE*

Abstract—A comparison study is reported on the ultrasonic assessment of human trabecular and bovine trabecular bone samples. Both ultrasonic velocity and ultrasonic attenuation were evaluated through a transmission insertion technique and correlated with bone mineral density as determined with single photon absorptiometry. For a 1-MHz ultrasonic transducer pair and the human cancellous bone samples the correlations were 0.91 and 0.89 between density and velocity and attenuation, respectively. For a 500-kHz ultrasonic transducer pair the correlations were 0.89 and 0.81 between density and velocity and attenuation, respectively. For the bovine bone samples, the correlations were 0.90 and -0.31 for the velocity and attenuation, respectively, for the 1 MHz transducer pair. For the 500-kHz transducers, the correlations were 0.85 and -0.17 for the velocity and attenuation, respectively. By combining both velocity and attenuation in a multivariate regression, an improvement was achieved in the estimation of bone density in the human samples for both the 500-kHz and 1-MHz transducer pairs. No significant improvement was achieved in the multivariate regressions for the bovine bone samples. In conclusion, the results indicate that ultrasonic measurements are in general highly correlated with bone mineral density in trabecular bone samples. This correlation is more consistent and strong in relatively low density human samples compared with the higher density bovine samples.

I. INTRODUCTION

ULTRASONIC assessment of bone for managing osteoporosis and other metabolic bone diseases has been proposed [1], [2] as an alternative to radiation-based bone densitometry technology, e.g., single photon absorptiometry or dual energy x-ray absorptiometry (DEXA). In contrast with the ionizing electromagnetic radiation of such clinical bone densitometric techniques, ultrasound is a mechanical wave and thus interacts with bone in a fundamentally distinct manner. Ultrasound is viewed as having great potential for assessing bone since its propagation is affected by the structure, composition, and mass of the bone tissue being interrogated [1]. Since

the risk of bone fracture is related to the combined interactions of these latter features [3], ultrasonic measurements may be able to provide important information on bone quality and more accurate estimates of the risk of bone fracture.

Numerous clinical [4]–[13] and *in-vitro* human [14]–[16] and animal [17]–[21] ultrasonic studies have been reported. For example, Evans and Tavakoli [20] measured the correlation between velocity of ultrasound and broadband ultrasound attenuation (BUA) with physical density in 44 samples of cancellous bovine femora. The results showed a correlation of $r = 0.85$ and $r = 0.33$, respectively. An *in vitro* study on the human *os calcis* by McKelvie *et al.* [15] compared bone density, as measured by quantitative computed tomography, to BUA and reported a correlation coefficient of $r = 0.92$, in the frequency range 200 kHz–600 kHz. In a clinical study, both ultrasonic velocity and BUA were measured in the *os calcis* in 64 subjects [8]. They found respective correlations of 0.66 ($P < 0.01$) and 0.74 ($P < 0.73$) with bone density at the same site using DEXA.

Most prior studies, for example those summarized above, have been carried out on bones for which the associated densities varied over relatively narrow ranges. Another aspect of these investigations was their respective use of univariate regression methods in establishing relationships between ultrasonic velocity and attenuation and bone density. This has produced less than optimal estimates of bone density since all the available data has not been used.

The objectives of this study were threefold. First, we wanted to explore in a comprehensive and consistent manner the interrelationships between ultrasonic velocity, ultrasonic attenuation, and bone density over a very broad range of density values. Both human and bovine cancellous bone samples were used in order to obtain a set of specimens with a wide range of bone densities. The second objective was to determine if the combined use of ultrasonic attenuation and velocity in multivariate regressions would lead to improved accuracy in the estimation of bone density, in comparison to using either ultrasonic attenuation or velocity alone. Finally, we wanted to see what effect different nominal ultrasonic transducer frequencies would have on the measured velocities and attenuations.

II. MATERIALS AND METHODS

A. Ultrasonic Setup and Analytic Framework

In the experimental setup, Fig. 1, two ultrasonic transducers are used, one acting as transmitter and the other as a

Manuscript received February 28, 1995; revised November 17, 1995. This work was supported by OrthoLogic Corp., Phoenix, AZ, NIH under Grant 1R43AR43045-01 and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brasília, Brazil. Asterisk indicates corresponding author.

J. M. Alves is with The School of Engineering of São Carlos, University of São Paulo, Brazil.

W. Xu, D. Lin, and R. S. Siffert are with Mount Sinai School of Medicine, New York, NY 10029 USA.

J. T. Ryaby is with OrthoLogic Corp., Phoenix, AZ 85034 USA.

*J. J. Kaufman is with the Department of Orthopaedics, The Mount Sinai Medical Center, One Gustave L. Levy Place, New York, NY 10029 USA and CyberLogic Inc., New York, NY 10012 USA (e-mail: kaufman@msvax.mssm.edu).

Publisher Item Identifier S 0018-9294(96)01672-2.

Fig. 1. The ultrasonic measurement apparatus: 1) receiver transducer, 2) transmitter transducer, 3) bone sample, 6) receiver transducer holder, 7) transmitter transducer holder, 8) plate, 9) set screw, 10) transducer cable, 11) compression screw, and 13) bone holder.

receiver of the ultrasound wave. In a typical experiment, a bone specimen of thickness d is placed between the two transducers. The transducers and bone are then submerged in water. In this configuration, there exist two water layers through which the ultrasonic wave propagates—one between the transmitter transducer and sample, the other between the receiver transducer and sample. The two transducers are coaxially positioned and separated by a fixed distance L . The transmitting transducer is excited by an input signal, $u(t)$, so that an ultrasound pulse is transmitted through the water, into and through the sample, and through the water to the receiving transducer. The output voltage of the receiving transducer is denoted either by $v_s(t)$ or $v_r(t)$, depending on whether the measurement is made with a bone sample present or absent. In the latter case, the signal is termed a reference signal and corresponds to a measurement made through the water bath only. In the former case, the signal, $v_s(t)$, corresponds to propagation through the water-sample-water path. The techniques for estimation of the ultrasonic attenuation and velocity are distinct and are carried out in the frequency and time domains, respectively. Each technique will be described in turn.

1) *Attenuation Estimation*: An expression for the Fourier transform magnitude, $|V_s(f)|$ associated with the bone sample signal, $v_s(t)$, is given by

$$|V_s(f)| = T_t(f)T_r(f)|H(f)||U(f)|. \quad (1)$$

In (1), $T_t(f)$ and $T_r(f)$ are the magnitude transfer functions of the transmitting and receiving transducers, respectively, $|U(f)|$ is the magnitude Fourier transform of the input excitation signal, $u(t)$, and $|H(f)|$ is the acoustic magnitude transfer function of the bone specimen.

The expression for the Fourier transform magnitude, $|V_r(f)|$, associated with the water-bath-only signal (i.e., without the bone sample present), $v_r(t)$, is given by

$$|V_r(f)| = T_t(f)T_r(f)|U(f)|. \quad (2)$$

An estimate of $|H(f)|$ may now be obtained by dividing (1) by (2). Thus we find that

$$|H(f)| = \left| \frac{V_s(f)}{V_r(f)} \right|. \quad (3)$$

The magnitude transfer function $|H(f)|$ can be written in terms of an attenuation function $\alpha(f)$ as follows:

$$|H(f)| = e^{-\alpha(f)}. \quad (4)$$

Note that in the above analysis, we have assumed that all reflection and transmission losses are included in the attenuation function $\alpha(f)$.

Alternatively, the specific attenuation function, $\mu(f) \equiv \alpha(f)/d$, may be used

$$|H(f)| = e^{-\mu(f)d}. \quad (5)$$

An estimate of $\mu(f)$ can then be obtained by taking the logarithm of $|H(f)|$ in (5) and using (3). Thus we find that

$$\mu(f) = \frac{[\ln |V_r(f)| - \ln |V_s(f)|]}{d}. \quad (6)$$

If $\mu(f)$ is modeled as an affine function, that is

$$\mu(f) = a + bf \quad (7)$$

then an estimate of the slope, b , of the specific attenuation can be obtained by a least squares regression curve fit of (7) to (6), over a specified frequency range. The frequency range is chosen according to the region where the specific attenuation function is approximately linear, as assessed by the mean squared error in the least squares curve fit and as shown in Section III. The constant, b , is known as the *differential specific attenuation* (DSA) and is expressed in units of $\text{dBcm}^{-1}\text{MHz}^{-1}$; in terms of the more commonly used BUA, it is given by $\text{DSA} = \text{BUA}/d$, where d is the thickness of the bone sample.

2) *Velocity Estimation*: The estimation of velocity is carried out in the time domain, according to the straightforward principle of time of arrival of signal energy. The estimation of velocity can also be achieved in the frequency domain, through the use of phase unwrapping and linear models, as described by Kaufman *et al.* [22]. However, since most prior studies have relied on the pulse transit time technique, we choose to use that method here as well.

The time of arrival of the reference and sample signal is defined to be the first time at which three consecutive absolute values of the signal remain above a prespecified amplitude level. In this study, this level is chosen to be three times (3σ) the standard deviation of the additive noise in the waveform from the portion of the acquired reference or sample data waveforms where no ultrasonic signal is present.

Using τ_s and τ_r to denote the time of arrival of the sample and reference signals, respectively, the ultrasonic velocity v , can be evaluated according to the following expression:

$$v = \frac{1}{\frac{1}{v_r} - \frac{(\tau_r - \tau_s)}{d}} \quad (8)$$

where v_r is the velocity of ultrasound in the reference medium, in this case water.

B. Bone Sample Preparation

1) *Human Bone Specimens*: Fresh lumbar vertebrae were acquired within three hours after extraction from human cadavers. In total, 27 vertebral bodies from 14 cadavers ranging in age from 35 to 93 years were employed in this study. A 2-cm diameter cylindrical core was cut from the central portion of each vertebral body using a drill with an attached drill corer. The cortical shell at both ends of the core was removed using a Buehler Isomet low-speed saw under constant irrigation, so that the samples consisted only of vertebral trabecular bone. The samples were then defatted using a warm water rinse, submerged in xylene for approximately 48 hours and then rinsed in water again. Bone samples were frozen at -20°C until ultrasonic and densitometric testing. Although xylene changes the properties of the bone matrix, the principal relationships between ultrasonic parameters and bone density are largely retained. This is due to the fact that these relationships arise primarily out of the interactions of the ultrasonic wave with the bone matrix-pore fluid structure and less from (changes in) the bone matrix material *per se*. This has been previously demonstrated in [23], which showed little effect on ultrasonic velocity and attenuation in fresh human trabecular bone treated with formalin fixation.

2) *Bovine Bone Samples*: Twelve fresh bovine femurs were used, and a 2.7-cm $\times$ 0.8-cm thickness cylinder of trabecular bone were cut from each distal medial and lateral condyle (Fig. 2), respectively, using a drill with an attached drill corer and a two blade saw with constant irrigation. The marrow was removed by placing a solution of ethyl-methyl-isopropyl and acetone with a 3:1 proportion in an ultrasonic cleaner for approximately 100 hours with five changes of alcohol/acetone solution. The samples were kept in 0.9% saline solution at 4°C until ultrasonic and densitometric testing.

C. Bone Densitometry

The samples' bone mineral densities were measured by single photon absorptiometry (Model 2780, Norland Corp, Fort Atkinson, WI, USA). The scanner was calibrated using the manufacturer's bone standard on a weekly basis. The bone sample's circular surface was divided into eight regions and rectilinear scans, with the sample submerged in water, were taken encompassing the entire sample. The area of each region was used to calculate the bone mineral density area weighted mean in g/cm^2 , which was divided by the sample thickness d to get a value of bone density (BD) in units of g/cm^3 . This BD, is closely related to that which would be obtained through direct physical weighing of the (dried) bone samples and dividing the weight by the associated sample volume [24].

D. Ultrasonic Measurements

Each trabecular sample was ultrasonically tested by an insertion technique as outlined earlier to obtain its associated velocity and attenuation values. The sample was placed in a water bath between two unfocussed ultrasound transducers of 1.9-cm diameter—each having a 0.5-MHz nominal center frequency and near-to-far field transition point of 3.0 cm (Model #V318-SU, Panametrics Inc., Waltham, MA, USA),

Fig. 2. Drilling and slicing of the trabecular bovine bone core. (1) Distal femur, (2) condyle slice, (3) raw core, and (4) final core.

coaxially located on either side of the core and 6.9 cm apart (Fig. 1). One transducer served to transmit an acoustic pulse driven by a pulser receiver card (Model SR-9000, Matec Inc., Hopkinton, MA, USA) directly into one surface of the sample and out the opposite side, where the signal was detected by the other transducer acting as receiver. The received ultrasound waveform was collected on a digital oscilloscope card (Model Compuscope 220, Gage Applied Science Inc., Montreal, Quebec, Canada) at a 40-MHz sampling rate and uploaded to a microcomputer for storage and subsequent off-line analysis. A waveform that propagated through the water only was also collected and served as a reference in the signal analysis.

The waveforms were processed using the discrete Fourier transform, and estimates of the sample's DSA were obtained using a least-squares straight line fit over the frequency range 300 kHz–700 kHz (Matlab 4.0, The MathWorks Inc., Natick, MA, USA). The ultrasonic velocity, v , was evaluated using a pulse transit time approach (8), in which the earliest arrival

Fig. 3. (a) Time domain signal for a typical human vertebral trabecular sample (Transducers: 500 kHz/0.75"). (b) Frequency domain spectrum for the signal in (a). (c) Time domain signal for a typical reference medium measurement (Transducers: 500 kHz/0.75"). (d) Frequency domain spectrum for the reference signal in (c). (e) Attenuation data points and least squares curve fit for the sample and reference signals in (a) and (c).

Fig. 4. (a) Time domain signal for a typical bovine femoral trabecular sample (Transducers: 1 MHz/0.75"). (b) Frequency domain spectrum associated with the signal in (a). (c) Time domain signal for a typical reference medium measurement (Transducers: 1 MHz/0.75"). (d) Frequency domain spectrum associated with the reference signal in (c). (e) Attenuation data points and least squares curve fit for the sample and reference signals in (a) and (c).

time of signal energy was recorded. Three independent sets of velocity and attenuation data from each sample were recorded and averaged to obtain the mean velocity and DSA for each sample. The ultrasonic measurements were repeated for all bone samples using another 1.9-cm diameter transducer pair, but with a 1-MHz nominal center frequency and a near-to-far field transition point of 6.0 cm (Model #V314-SU, Panametrics). In this case, the DSA was evaluated over the frequency range 0.8 MHz–1.2 MHz. The effect of the walls of the apparatus on the propagating acoustic pulse was determined to be negligible by comparing the reference waveforms to those obtained in absence of the apparatus (i.e., transducers only in water). No detectable difference in waveforms was observed.

Fig. 3(a)–(e) shows, for the 500-kHz transducer pair, respectively, an ultrasonic signal received after propagating through a human vertebral trabecular sample, the magnitude spectrum of the sample signal, a reference signal which propagated through water only, the magnitude spectrum of the reference signal, and the specific attenuation curve, $\mu(f)$. Similarly, Fig. 4(a)–(e) shows, for the 1-MHz transducer pair, respectively, an ultrasonic signal received after propagating through a bovine femoral condyle trabecular sample, the magnitude spectrum of the sample signal, a reference signal which propagated through water only, the magnitude spectrum of the reference signal, and the associated specific attenuation curve, $\mu(f)$.

E. Statistical and Correlation Analysis

Standard regression techniques were used to determine the correlation coefficients and statistical significance of the associated regressions [SigmaPlot, Jandel Scientific Software, San Rafael, CA]. The univariate and multivariate models for predicting bone density from the ultrasonic velocity and attenuation were evaluated using standard linear regression techniques. For example, the multivariate prediction of BD is based on the following regression equation:

$$BD = A + Bv + C DSA \quad (9)$$

where A , B , and C are regression coefficients to be chosen according to the principle of least squares. The quality of the regression was assessed using the average absolute percent error (AAPE) between the actual and estimated bone density values (MATLAB, The MathWorks, Inc., South Natick, MA).

III. RESULTS

A. Human Bone Data

The BD of the human vertebral samples ranged from 0.057 to 0.142 g/cm^3 . For the 500-kHz transducers the ultrasonic velocity ranged from 1447 to 2019 m/s (Fig. 5) and the differential specific attenuation from 8.5 to 47 $\text{dBcm}^{-1}\text{MHz}^{-1}$ (Fig. 6). The correlation coefficients were $r = 0.91$ ($P < 0.0001$) and $r = 0.89$ ($P < 0.0001$) for the velocity and attenuation, respectively. For the 1-MHz transducers the bone velocity ranged from 1469 to 2343 m/s (Fig. 7) and DSA from 2.6 to 22 $\text{dBcm}^{-1}\text{MHz}^{-1}$ (Fig. 8). The correlation coefficients

Fig. 5. Correlation between ultrasonic velocity and BD for the human vertebral trabecular samples. Transducer: 500 kHz/0.75". Frequency range: 300 kHz–700 kHz.

Fig. 6. Correlation between DSA and BD for the human vertebral trabecular samples. Transducer: 500 kHz/0.75". Frequency range: 300 kHz–700 kHz.

were $r = 0.89$ ($P < 0.0001$) and $r = 0.81$ ($P < 0.001$) for the velocity and DSA, respectively. For the 500-kHz transducer, the AAPE were 9.4% and 10.5% for the univariate velocity and attenuation estimates, respectively. Using both velocity and attenuation estimates, the multivariate AAPE reduced to 8.4%, or about 11% lower than the smaller univariate error. For the 1-MHz transducer pair, the univariate AAPE were 9.5% and 16.1% for the velocity and attenuation based estimates, respectively. Using both attenuation and velocity, the multivariate AAPE reduced to 7.7%, or about 19% lower than the smaller univariate error. Table I displays the AAPE for both transducer pairs and for the univariate and multivariate regression estimates.

B. Bovine Bone Data

The BD of the femoral condyle samples ranged from 0.19 to 0.45 g/cm^3 . For the 500-kHz transducers the bone velocity ranged from 1510 to 1867 m/s (Fig. 9) and the DSA from 12 to 35 $\text{dBcm}^{-1}\text{MHz}^{-1}$ (Fig. 10). The correlation coefficients for the 500-kHz transducers for the univariate regressions were $r = 0.85$ ($P < 0.0001$) and $r = -0.17$ ($P < 0.44$)

TABLE I
AVERAGE ABSOLUTE PERCENT ERROR FOR UNIVARIATE AND MULTIVARIATE ANALYSIS (HUMAN VERTEBRAL TRABECULAR BONE)

Transducer (Frequency Range)	Univariate Analysis (Velocity versus BM)	Univariate Analysis (Attenuation versus BM)	Multivariate Analysis (Velocity and Attenuation versus BM)
500 kHz/0.75"			
300 kHz-700 kHz	9.4	10.5	8.4
1 MHz/0.75"	9.5	16.1	7.7
(0.8 MHz-1.2 MHz)			

TABLE II
AVERAGE ABSOLUTE PERCENT ERROR FOR UNIVARIATE AND MULTIVARIATE ANALYSIS (BOVINE FEMORAL TRABECULAR BONE)

Transducer (Frequency Range)	Univariate Analysis (Velocity versus BM)	Univariate Analysis (Attenuation versus BM)	Multivariate Analysis (Velocity and Attenuation versus BM)
500 kHz/0.75"			
300 kHz-700 kHz	9.4	18.7	9.1
1 MHz/0.75"	7.9	18.2	8.0
(0.8 MHz-1.2 MHz)

Fig. 7. Correlation between ultrasonic velocity and BD for the human vertebral trabecular samples. Transducer: 1 MHz/0.75". Frequency range: 0.8 MHz-1.2 MHz.

Fig. 8. Correlation between DSA and BD for the human vertebral trabecular samples. Transducer: 1 MHz/0.75". Frequency range: 0.8 MHz-1.2 MHz.

for the velocity and attenuation, respectively. For the 1-MHz transducers the bone velocity ranged from 1521 to 1914 ms^{-1} (Fig. 11) and DSA from 42 to 76 $\text{dBcm}^{-1}\text{MHz}^{-1}$ (Fig. 12). The correlation coefficients were $r = 0.90$ ($P < 0.0001$) and $r = 0.31$ ($P = 0.15$) for the velocity and attenuation, respectively. For the 500-kHz transducer, the univariate AAPE were 9.4% and 18.7% for the velocity and attenuation based estimates, respectively. Using both velocity and attenuation, the multivariate AAPE reduced to 9.1%, or about 3% lower than the smaller of the univariate errors. For the 1-MHz transducer pair, the univariate AAPE were 7.9% and 18.2% for the velocity and attenuation based estimates, respectively. Using both attenuation and velocity, the multivariate AAPE reduced to 8.0%, or about 1% higher than the lower univariate error. Table II displays the AAPE for both transducer pairs and for the univariate and multivariate regression estimates.

IV. DISCUSSION AND CONCLUSION

The results presented display the relationship between ultrasonic velocity and attenuation and bone mineral density

of cancellous bone. Both bovine and human bone samples were used in order to investigate the relationship over a relatively broad range of densities. The results demonstrate several facts. It is clear that for the range of bone densities studied, velocity was a more consistent and accurate estimator of bone density. For both the bovine and human data, the ultrasonic velocity was highly correlated with density, having correlation coefficients in the range of 0.9. This was true for both the lower frequency range (500-kHz transducer pair) and for the higher frequency range (1-MHz transducer pair). The same cannot be stated about attenuation. Although attenuation was highly correlated with density for the human bone samples, with correlations greater than 0.8, the relationship for the higher density bovine samples was much less strong. For the low and high frequency ranges the correlation was small and also negative. Thus while attenuation is strongly correlated with density for samples of relatively low density, the correlation is significantly weakened in the case of higher densities. This indicates that a nonlinear relationship exists between the attenuation and bone density, at least when taking into account both the human and bovine sample data. This finding is consistent with the recent results of Serpe and

Fig. 9. Correlation between ultrasonic velocity and BD for the bovine femoral trabecular samples. Transducer: 500 kHz/0.75". Frequency range: 300 kHz–700 kHz.

Fig. 11. Correlation between ultrasonic velocity and BD for the bovine femoral trabecular samples. Transducer: 1 MHz/0.75". Frequency range: 0.8 MHz–1.2 MHz.

Fig. 10. Correlation between DSA and BD for the bovine femoral trabecular samples. Transducer: 500 kHz/0.75". Frequency range: 300 kHz–700 kHz.

Fig. 12. Correlation between DSA and BD for the bovine femoral trabecular samples. Transducer: 1 MHz/0.75". Frequency range: 0.8 MHz–1.2 MHz.

Rho [25]. An interesting and possibly related observation arises from the nonlinear relationship between bone specific surface and porosity, as reported by Martin [26]. If attenuation can be assumed to arise from the scattering of the ultrasonic wave in the bone structure, and if this scattering can be assumed to be proportional to the relative amount of specific surface area present, then a nonlinear dependence of attenuation on bone density is consistent with the above observations and assumptions. Future investigations can be directed toward investigating this phenomenon and the related frequency dependence of the differential specific attenuation. In particular, it may be possible to identify a transition frequency, that is a frequency at which the dependence of DSA on density changes from a positive to a negative slope, and this could be useful for characterizing the mean pore size.

The range of ultrasonic velocity and attenuation values overlap for the human and bovine bone data. Thus it was not possible to analyze the human and bovine data together. The reasons for this may be related to two basic factors. First, the inherent assumed differences in trabecular architecture could

lead to different absolute values in the acoustic parameters. Second, the experiments on the groups of samples were not carried out at the same time and therefore may be susceptible to some uncontrolled factors in the procedure. Although each set of data, i.e., human or bovine, was acquired rapidly (within one week), there was a significant time interval between the experiments on the two data sets. Thus it was possible that a factor related to a change in the measurement conditions could have occurred.

A natural question to ask is whether or not the combination of ultrasonic attenuation and velocity may be able to better estimate bone mineral density together than with either feature alone. As may be expected, since the correlations of attenuation with bone density were so weak in the bovine data case, combining it with velocity did not lead to any significant improvement in the ability to estimate bone density. In contrast, however, for the human bone data the combination of both attenuation and velocity did produce improvements, providing about an 11% improvement for the 500-kHz transducer pair data and about a 19% improvement for the 1-MHz transducer pair data. This improvement was assessed by the AAPE, which

provides a measure of the relative errors one might expect in using ultrasonic measurements to estimate bone density. This best average error was obtained for the 1-MHz data, producing an AAPE of 7.7%.

This study did not consider the relationship of trabecular architecture to the ultrasonic measurements. This is an important aspect of the interaction of ultrasonic waves with trabecular bone, particularly with respect to the human bone samples [1]. Additional studies should be carried out in order to elucidate the effects of age, architecture, and bone quality on ultrasonic attenuation and velocity. In this regard, several recent reports have related ultrasonic measurements to osteoporotic fractures [29], which suggest that ultrasound may be useful for characterization and prediction of fracture risk as well.

Our results indicate that ultrasonic measurements are, in general, highly correlated with bone density in trabecular bone samples. This correlation is more consistent and strong in relatively low density human samples compared with higher density bovine samples. Whether this is related to the density value alone, or a combination of the density with differences in microstructure (architecture) remains to be determined through further studies. Additionally, the combination of both ultrasonic velocity and attenuation as measured in human cancellous bone appears to offer a significant improvement in the accuracy of the bone density estimate. Studies are ongoing to investigate if the application of more complex multivariate estimation techniques, for example nonlinear neural network based methods, can further enhance the accuracy of bone density estimates [21]. Finally, the neural network approach is also being investigated to determine the ability of ultrasonic measurements to estimate bone architecture, strength, and clinical bone fracture risk.

ACKNOWLEDGMENT

The authors would like to acknowledge the technical contributions of A. Chiabrera to this study. They would also like to thank the anonymous reviewers for helpful comments and suggestions.

REFERENCES

- [1] J. J. Kaufman and T. A. Einhorn, "Perspectives: Ultrasound assessment of bone," *J. Bone Min. Res.*, vol. 8, no. 5, pp. 517-525, 1993.
- [2] D. Hans, A. M. Schott, and P. J. Meunier, "Ultrasonic assessment of bone: A review," *Eur. J. Med.*, vol. 2, no. 3, pp. 157-163, 1993.
- [3] M. Kleerekoper, A. R. Villanueva, J. Stanciu, D. S. Rao, and A. M. Parfitt, "The role of three-dimensional trabecular microstructure in the pathogenesis of vertebral compression fractures," *Calcif. Tissue Int.*, vol. 37, pp. 594-597, 1985.
- [4] L. M. Salamone, E. A. Krall, S. Harris, and B. Dawson-Hughes, "Comparison of broadband ultrasound to single x-ray absorptiometry measurements at the calcaneus in postmenopausal women," *Calcif. Tissue Int.*, vol. 54, pp. 87-90, 1994.
- [5] C. Roux, E. Lemonnier, S. Kolta, E. Charpentier, M. Dougados, B. Amor, and C. Viens-Bitker, "Broadband ultrasound attenuation of the calcaneus and bone density measurements," *Rev. du Rhumatisme, (Engl. Ed.)*, vol. 12, pp. 771-780, 1993.
- [6] R. J. M. Herd, G. M. Blake, T. Ramalingam, C. G. Miller, P. J. Ryan, and I. Fogelman, "Measurement of postmenopausal bone loss with a new contact ultrasound system," *Calcif. Tissue Int.*, vol. 53, pp. 153-157, 1993.
- [7] S. Palacios, C. Menéndez, J. Calderon, and S. Rubio, "Spine and femur density and broadband ultrasound attenuation of the calcaneus in normal Spanish Women," *Calcif. Tissue Int.*, vol. 52, pp. 99-102, 1993.
- [8] C. E. Waud, R. Lew, and D. T. Baran, "The relationship between ultrasound and densitometric measurements of bone mass at the calcaneus in women," *Calcif. Tissue Int.*, vol. 51, pp. 415-418, 1992.
- [9] C. C. Glüer, M. Vahlensieck, K. G. Faulkner, K. Engelke, D. Black, and H. K. Genant, "Site-matched calcaneal measurements of broadband ultrasound attenuation and single x-ray absorptiometry: Do they measure different skeletal properties?," *J. Bone Min. Res.*, vol. 7, no. 9, pp. 1071-1079, 1992.
- [10] J. A. Zagzebski, P. J. Rossman, C. Mesina, R. B. Mazess, and E. L. Madsen, "Ultrasound transmission measurements through the *os calcis*," *Calcif. Tissue Int.*, vol. 49, pp. 107-111, 1991.
- [11] M. Agren, A. Karellas, D. Leashey, S. Marks, and D. Baran, "Ultrasound attenuation of the calcaneus: A sensitive and specific discriminator of osteopenia in postmenopausal women," *Calcif. Tissue Int.*, vol. 48, pp. 240-244, 1991.
- [12] D. T. Baran, C. K. McCarthy, D. Leashey, and R. Lew, "Broadband ultrasound attenuation of the calcaneus predicts lumbar and femoral neck density in caucasian women: A preliminary study," *Osteoporosis Int.*, vol. 1, pp. 110-113, 1991.
- [13] D. T. Baran, A. M. Kelly, A. Karellas, M. Gionet, M. Price, D. Leashey, S. Steuterman, B. Mcsherry, and J. Roche, "Ultrasound attenuation of the *os calcis* in women with osteoporosis and hip fractures," *Calcif. Tissue Int.*, vol. 43, pp. 138-142, 1988.
- [14] E. V. McCloskey, S. A. Murray, D. Charlesworth, C. Miller, J. Fordham, K. Clifford, R. Atkins, and J. A. Kanis, "Assessment of broadband ultrasound attenuation in the *os calcis* *in vitro*," *Clin. Sci.*, vol. 78, pp. 221-225, 1990.
- [15] M. L. McKelvie, J. Fordham, C. Clifford, and S. B. Palmer, "*In vitro* comparison of quantitative computed tomography and broadband ultrasonic attenuation of trabecular bone," *Bone*, vol. 10, pp. 101-104, 1989.
- [16] M. L. McKelvie and S. B. Palmer, "The interaction of ultrasound with cancellous bone," *Phys. Med. Biol.*, vol. 36, no. 10, pp. 1331-1340, 1991.
- [17] C. C. Glüer, C. Y. Wu, and H. K. Genant, "Broadband ultrasound attenuation signals depend on trabecular orientation: An *in vitro* study," *Osteoporosis Int.*, vol. 3, pp. 185-191, 1993.
- [18] M. B. Tavakoli and J. A. Evans, "The effect of bone structure on ultrasonic attenuation and velocity," *Ultrason.*, vol. 30, no. 6, pp. 389-395, 1992.
- [19] ———, "Dependence of the velocity and attenuation of ultrasound in bone on the mineral content," *Phys. Med. Biol.*, vol. 36, no. 11, pp. 1529-1537, 1991.
- [20] J. A. Evans and M. B. Tavakoli, "Ultrasonic attenuation and velocity in bone," *Phys. Med. Biol.*, vol. 35, no. 10, pp. 1387-1396, 1990.
- [21] J. J. Kaufman, J. M. Alves, R. S. Siffert, F. P. Magee, and J. T. Ryaby, "Ultrasound assessment of trabecular bone density using neural networks," *J. Bone Min. Res.*, vol. 9, no. S1, p. 188, 1994.
- [22] J. J. Kaufman, W. Xu, A. E. Chiabrera, and R. S. Siffert, "Diffraction effects in insertion mode estimation of ultrasonic group velocity," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Contr.*, vol. 42, no. 2, pp. 232-242, Mar. 1995.
- [23] D. Lin, W. Xu, M. Klein, T. Einhorn, J. J. Kaufman, and R. S. Siffert, "Effect of physical factors on ultrasound attenuation and velocity in bone," *J. Bone Min. Res.*, vol. 8, Supp. 1, p. S319, Aug. 1993.
- [24] J. M. Alves, unpublished data, 1994.
- [25] L. Serpe and J. Rho, "The nonlinear dependence of broadband ultrasound attenuation on bone mineral density: An *in vitro* study," in *Proc. 41st Annu. Meet., Orthopaedic Res. Soc.*, 1995, vol. 20, no. 2, p. 541.
- [26] R. B. Martin, "Porosity and specific surface of bone," *CRC Critical Rev. Biomed. Eng.*, vol. 10, no. 3, pp. 179-222, 1984.
- [27] A. M. Schott, S. Weill-Engerer, D. Hans, F. Duboeuf, P. D. Delmas, and P. J. Meunier, "Ultrasound discriminates patients with hip fracture equally well as dual energy x-ray absorptiometry and independently of bone mineral density," *J. Bone Min. Res.*, vol. 10, no. 2, pp. 243-249, 1995.
- [28] M. Funke, L. Kropka, R. Vosschenrich, U. Fischer, A. Ueberschaer, J. W. Oestmann, and E. Grabbe, "Broadband ultrasound attenuation in the diagnosis of osteoporosis: Correlation with osteodensity and fracture," *Radiol.*, vol. 194, pp. 77-81, 1995.
- [29] P. Ross, C. Huang, J. Davis, K. Imose, J. Yates, J. Vogel, and R. Wasnich, "Predicting vertebral deformity using bone density at various skeletal sites and calcaneus ultrasound," *Bone*, vol. 16, no. 3, pp. 325-332, 1995.

José M. Alves received the undergraduate degree in electrical engineering in 1982 and the Master's degree in bioengineering in 1988 from the School of Engineering of Sao Carlos, University of Sao Paulo, Sao Carlos, Brazil, where he is currently an Assistant Professor. He is enrolled in a Ph.D. program in applied physics at Institute of Physics, University of Sao Paulo at Sao Carlos.

He was a Visiting Researcher at the Department of Orthopaedics, The Mount Sinai School of Medicine, New York, NY, from 1989 to 1990, and at OrthoLogic Corp., Phoenix, AZ, from 1993 to 1995. His research areas of interest are assessment of bone tissue by ultrasound for the diagnosis of osteoporosis, biophysical stimulation of bone fracture healing and 3-D X-ray tomography for bone tissue characterization.

James T. Ryaby received the undergraduate degree in chemistry at Hiram College, Ohio in 1980 and the Ph.D. degree in cellular biology at the Mount Sinai School of Medicine of the City University of New York, in 1991.

He is currently Director of Research at OrthoLogic Corp., Phoenix, AZ, and Adjunct Professor of Bioengineering at Arizona State University, Tempe, AZ. His current research interests are electromagnetic and acoustic field interactions with cells and tissues, molecular biology of bone fracture healing, and endocrinology of skeletal tissues. He is currently developing ultrasonic techniques for therapeutic treatment of bone fractures and cartilage funded in part by two National Institutes of Health SBIR grants, as well as continuing research on combined magnetic fields and growth factors in fracture healing and osteoporosis.

Wei Xu received the B.S. degree from Zhongshan University, China, in 1988, and the M.S. degree from the City College of the City University of New York in 1992, both in electrical engineering.

From 1991 to 1995, she worked in the Department of Orthopaedics at the Mount Sinai School of Medicine, New York, NY, where she applied digital signal and image processing techniques to orthopaedic problems, including bone fracture repair assessment and osteoporosis diagnosis. Currently, she is working at The Howard Hughes Medical Institute at New York University. Her current research interests include networking technology and parallel computing.

Jonathan J. Kaufman (S'79-M'82) received the undergraduate degree at City College of the City University of New York in 1975, and the Masters and Ph.D. degrees from Columbia University in 1978 and 1982, respectively, all in electrical engineering.

He has served as an Assistant Professor in the Department of Orthopaedics at The Mount Sinai School of Medicine, New York, since 1985, and has been a Visiting Professor of Electrical Engineering at Pratt Institute and The Cooper Union. He is the President and CEO of CyberLogic, Inc., an electrical and biomedical engineering research and development firm, and also a part-time Assistant Professor in the Department of Orthopaedics at The Mount Sinai Medical Center, both located in New York City. His main areas of interest are in applying system identification and signal processing techniques to biomedical problems, with special emphasis on diagnosis and treatment in orthopaedic applications. He is currently engaged in developing ultrasonic methods for therapeutically treating bone fractures and for assessing the degree of fracture risk in osteoporotic patients. He is also developing new techniques for early detection of breast cancer based on electromagnetic and ultrasonic inverse scattering techniques, as well as the development of a novel system for three-dimensional television.

Dr. Kaufman is a member of Sigma Xi, the Orthopaedic Research Society, and the American Society for Bone and Mineral Research.

David Lin received the B.S. degree in electrical engineering from Cornell University, New York, NY, in 1991. He completed the medical degree at Mount Sinai School of Medicine in New York City in May of 1995. Currently, he is a general surgery resident at Mount Sinai and will complete the medical training in orthopaedic surgery at Catholic Medical Center, New York.

Dr. Lin was an Eta Kappa Nu honor society member.

Robert S. Siffert has been a practicing orthopaedic surgeon for over 40 years. He was Chairman of the Department of Orthopaedics at The Mount Sinai School of Medicine in New York City from 1961 to 1987. He is currently Lasker Distinguished Service Professor at Mount Sinai. His current research interests include acoustic detection of fracture healing based on his application of clinical auscultatory techniques, digital image processing and pattern recognition techniques for assessment of bone architecture and osteoporotic fracture risk, ultrasonic

assessment of bone fracture risk, and ultrasound treatment of bone repair.

Influence of Marrow on Ultrasonic Velocity and Attenuation in Bovine Trabecular Bone

J. M. Alves,^{2,4} J. T. Ryaby,² J. J. Kaufman,^{1,3} F. P. Magee,² R. S. Siffert¹

¹Department of Orthopaedics, MS 1188, The Mount Sinai School of Medicine, One Gustave L. Levy Place, New York, New York 10029

²OrthoLogic Corp., 2850 South 36th St, Suite 16, Phoenix, Arizona 85034

³CyberLogic Inc., 611 Broadway, Suite 707, New York, New York 10012

⁴Department of Materials Engineering, School of Engineering of São Carlos, University of São Paulo, 13560-260 Av. Dr. Carlos Botelho, São Carlos, SP, Brazil

Received: 17 April 1995 / Accepted: 2 November 1995

Abstract. Measurements of ultrasonic velocity and specific differential attenuation (SDA) were obtained on 24 bovine trabecular bone specimens from the femoral condyles. The measurements were obtained using two pairs of ultrasonic transducers, one with a low nominal center frequency (500 kHz) and the other pair with a high nominal center frequency (1 MHz). The ultrasonic velocity and specific differential attenuation associated with the bone samples were determined both with and without marrow, i.e., replacing the marrow with water in the pores of the trabecular bone. Significant increases (2.1% and 2.9%) in the velocity of ultrasound were observed after removal of the marrow, for the low and high frequency transducer pairs, respectively. In contrast, significant decreases (–6.5% and –8.8%) in SDA were observed after removal of the marrow, for the low and high frequency transducer pairs, respectively. The bone densities (BD) of the samples were also determined using single photon absorptiometry (SPA). Correlations between ultrasonic parameters and bone densities for samples both with and without marrow were found to be similar. For example, for the 1 MHz transducer pair, the correlation between BD and velocity was $r = 0.86$ with marrow, and $r = 0.89$ without marrow. This study also compared the results obtained using a contact (no water bath) technique and an insertion (with a water bath) technique of ultrasonic measurements. For the high frequency transducer pair, the correlation coefficients between the two methods were $r = 0.99$ and $r = 0.93$, for the velocity and specific differential attenuation, respectively. Similar results were found for the low frequency transducer pair as well. In addition, approximately equal correlations between BD and ultrasonic velocity and SDA were also found, indicating that contact and insertion measurements provide essentially equivalent information.

Key words: Osteoporosis — Ultrasonic assessment — Specific differential attenuation — Ultrasonic velocity — Broadband ultrasound attenuation.

Ultrasonic assessment of bone for managing metabolic dis-

ease, especially osteoporosis, has been proposed [1, 2] as an alternative to radiation-based bone densitometry, as for example with dual energy X-ray absorptiometry (DXA). In contrast to current ionizing electromagnetic radiation-based densitometric methods, ultrasound is a mechanical wave and interacts with bone tissue in a fundamentally distinct manner. Therefore, ultrasound has the potential for providing information not only on bone mass but on architecture and overall bone “quality” as well [2].

Ultrasonic assessment of bone relies primarily on two fundamental measurements, namely, the velocity and attenuation of the ultrasonic wave. Velocity is a measure of the speed with which the ultrasound propagates through the bone tissue and is measured in meters per second (m/second). Attenuation, on the other hand, is a measure of the loss of energy after the ultrasonic wave has propagated through the bone tissue, and is measured in nepers or decibels (dB). Since for bone the attenuation is frequency dependent and may be reasonably well approximated by an affine function over a specified frequency range, it is usually quantified in terms of the average slope of the attenuation. This differential attenuation is measured in units of dB MHz^{-1} and has been termed broadband ultrasound attenuation (BUA). The differential attenuation, BUA, may be normalized with respect to tissue thickness to produce the specific differential attenuation, specific differential attenuation (SDA), and then is expressed in units of $\text{dB cm}^{-1} \text{MHz}^{-1}$.

Many *in vitro*, *in vivo*, and clinical studies have reported significant correlations between trabecular bone mineral density (BMD) and ultrasonic velocity and attenuation; see for example [3–10]. Nevertheless, there is as yet a relatively limited understanding of how ultrasound interacts with cancellous bone tissue. From a physical standpoint, this interaction is quite complex, and relatively few models have been set forth for describing it. One potentially useful modeling approach characterizes ultrasonic interactions with bone as propagation through a fluid-filled porous medium, and some degree of progress has been made using the principles of Biot theory [11–13]. This characterization leads analytically to the demonstration that ultrasound propagation through bone is dependent on several factors, including the properties of the fluid which saturates the pores of the cancellous bone tissue [11, 14]. Thus, a natural question to ask with respect to ultrasonic wave propagation in bone is how the presence of marrow affects the velocity and attenu-

Correspondence to: J. J. Kaufman, The Mount Sinai School of Medicine

Fig. 1. Drilling and slicing of the trabecular bovine bone core: (1) distal femur, (2) condyle slice, (3) raw core, (4) final core.

ation measurements. Besides being potentially useful for clarifying the mechanisms of interaction of ultrasound with cancellous bone, this information may also prove useful for relating the results from clinical investigations to *in vitro* studies in which the marrow is often removed.

As a second part of this study, we also compared the measurements of ultrasonic attenuation and velocity on bovine cancellous bone samples using a standard insertion technique with those obtained using a contact method. Most clinical [16–23] and *in vitro* studies with human bone [24] and animal bone [25–27] have been carried out using insertion techniques, in which the bony member or bone sample is placed in a water bath between two ultrasonic transducers. For clinical measurements especially, the use of a water bath is inconvenient and also does not make transducer positioning as straightforward as in a contact approach. Thus, we wanted also to examine the effect of using contact measurements compared with measurements on the same bone samples using an insertion method.

Materials and Methods

Sample Preparation

Twelve fresh bovine femurs were acquired from a slaughterhouse within 12 hours of death, and a 2.7 cm diameter by 0.8 cm cylinder of trabecular bone was cut from each distal medial and lateral condyle (Fig. 1), respectively, using a drill with an attached drill

Fig. 2. The ultrasonic measurement apparatus: (1) receiver transducer, (2) transmitter transducer, (3) bone sample, (4) gel pad, (5) spacer, (6) receiver transducer holder, (7) transmitter transducer holder, (8) plate, (9) set screw, (10) transducer cable, (11) compression screw.

corer and a two-blade saw with constant irrigation. The orientation of the bone core was chosen arbitrarily but in such a manner as to allow for consistent positioning of the drill corer. The 24 trabecular bone cylinders were kept in 0.9% saline solution in a refrigerator at 4°C until the day of the BMD and ultrasonic measurements, which were carried out within 3–4 days. Defatting of the samples was carried out using an ethyl-methyl-isopropyl alcohol and acetone mixture with a 3:1 proportion and an ultrasound cleaner to accelerate the marrow removal process. The samples were kept in 0.9% saline solution in a refrigerator at 4°C until subsequent ultrasound testing (an additional 3–4 days) and maintained under vacuum to ensure total saturation of the samples' pores.

BMD Measurement

Each sample's BMD was evaluated using single photon absorptiometry (SPA) (Model 2780, Norland Corp., Fort Atkinson, WI, USA). These measurements were carried out on the samples before the marrow was removed. The scanner was calibrated using the manufacturer's bone standard on a weekly basis. The bone sample circular surface was divided into eight regions, and eight rectilinear scans with the sample submerged in water were taken encompassing the entire sample; the area of each region was used to calculate the total BMD area-weighted mean in g/cm^2 , which was then divided by the sample thickness d to get the bone density (BD) in units of g/cm^3 .

Ultrasonic Measurements

Two $\frac{3}{4}$ " diameter transducer pairs were used in this study, with nominal frequencies of 0.5 MHz and 1 MHz, respectively (Models #V318-SU and #V314-SU, respectively, Panametrics, Inc., Waltham, MA). For the contact measurements the transducers were spaced $d_t = 4.4$ cm apart (Fig. 2). For the water bath insertion measurements the transducers were separated by $d_t = 6.9$ cm in order to allow a sample holder to be inserted into the acoustic measurement path. This change in distance has already been shown not to have a significant effect on the velocity or attenuation values [30, 31]. In the contact method, two gel pads (Aquaflex, Parker Laboratories, NJ) were used and the transducers were placed in direct contact with the gel pad surface, using basic ultrasound gel for coupling.

For both insertion and contact mode measurements, the source transducer was excited by a pulser receiver card (Model SR-9000, Matec Inc., Hopkinton, MA) installed in a portable computer (PC-LCD 486DX2/66MHz, Computop Inc., La Mirada, CA). The acoustic signal measured by the receiving transducer was recorded on a digital oscilloscope card (Model Compuscope 220, Gage Applied Sciences, Inc., Montreal, Quebec, Canada) at a 40-MHz

Table 1. Influence of marrow on ultrasonic velocity and attenuation

		With marrow	Without marrow	Difference	Correlation coefficient
500 kHz	SDA (±SD)	31 (±3.3)	29 (±2.6)	-2	0.90 ($P < 0.0001$)
	Velocity (±SD)	1607 (±53)	1642 (±55)	+35*	0.96 ($P < 0.0001$)
1 MHz	SDA (±SD)	57 (±7.3)	52 (±6.3)	-5*	0.97 ($P < 0.0001$)
	Velocity (±SD)	1687 (±67)	1735 (±70)	+48*	0.97 ($P < 0.0001$)

* Denote statistical significance at the $P = 0.05$ level

Fig. 3. (A) Ultrasonic velocities with and without marrow in the samples for the higher frequency (1 MHz) transducer pair for the 24 bovine trabecular samples. (B) Specific differential attenuations with and without marrow in the samples for the higher frequency (1 MHz) transducer pair for the 24 bovine trabecular samples.

sampling rate, and stored for subsequent analysis. For both the insertion and contact measurements, a waveform that propagated through water only was also collected and served as a reference to determine the velocity and attenuation of each bone sample. For the evaluation of the ultrasonic attenuation, the discrete Fourier transforms of the acoustic waveforms were evaluated (MATLAB 4.0, The MathWorks Inc., Natick, MA) and used to calculate each sample's acoustic transfer function [30]. An estimate of the specific differential attenuation in units of $\text{dBcm}^{-1} \text{MHz}^{-1}$ was obtained using a least-squares straight line fit over the frequency range 300–700 kHz for the 500 kHz transducer pair data, and 0.8–1.2 MHz for the 1 MHz transducer pair data. The bone sample ultrasonic activity, v_s , was evaluated using a pulse transit time technique appropriately adapted to the contact and insertion methods (see Appendix for the explicit equations used in the velocity calculations). Three independent sets of velocity and attenuation data from each sample were recorded and averaged to obtain the mean velocity and mean specific differential attenuation associated with each sample.

Statistical Analysis

The regression and statistical analyses were made with a statistical software package (SigmaStat, Jandel Scientific Software, San Rafael, CA). Statistical significance was chosen at the $P = 0.05$ level.

Summary of Protocol

The twenty-four bovine trabecular bone specimens were measured densitometrically (SPA) and ultrasonically (velocity and attenuation) in both insertion and contact modes, with their marrow intact. Following marrow removal, all 24 bone samples were again measured ultrasonically, in the insertion mode only.

Results

Influence of Marrow on Ultrasonic Attenuation and Velocity

Table 1 shows the mean ultrasonic velocity for the bone samples both with and without marrow for the 500 kHz and 1 MHz transducer pairs. As may be seen, replacement of marrow by water led to an increase in the mean ultrasonic velocity of 35 m/second (+2.1%) and 48 m/second (+2.9%) for the 500 kHz and 1 MHz transducer pairs, respectively. Table 1 also shows the mean ultrasonic specific differential attenuation for the bone samples both with and without marrow for the 500 kHz and 1 MHz transducer pairs. As may be seen, replacement of marrow by water led to a reduction in the mean SDA of $2.0 \text{ dBcm}^{-1} \text{MHz}^{-1}$ (−6.5%) and $5.0 \text{ dBcm}^{-1} \text{MHz}^{-1}$ (−8.8%) for the 500 kHz and 1 MHz transducer pairs, respectively. Table 1 also shows the linear correlation coefficients between the respective velocities and specific differential attenuations with and without marrow for both frequency ranges, obtained using the insertion technique.

Figure 3A and 3B show the ultrasonic velocity and attenuation (SDA), respectively, for bone samples with marrow versus values obtained for bone samples without marrow, for the higher frequency (1 MHz) transducer pair. A similar plot (not shown) exists for the lower frequency (500 kHz) data as well. Figure 3, together with Table 1, show that there was a high degree of linear correlation ($r \geq 0.9$) obtained for the four pairs of ultrasonic data associated with the marrow-filled and marrow-free samples.

Table 2. Comparison between insertion and contact ultrasonic techniques

		Insertion	Contact	Difference	Correlation coefficient
500 kHz	SDA (±SD)	31 (±3.3)	32 (±2.9)	+1	0.91 (<i>P</i> < 0.0001)
	Velocity (±SD)	1607 (±53)	1612 (±53)	+5	0.99 (<i>P</i> < 0.0001)
1 MHz	SDA (±SD)	57 (±7.3)	56 (±7.0)	−1	0.93 (<i>P</i> < 0.0001)
	Velocity (±SD)	1687 (±67)	1699 (±67)	+12	0.99 (<i>P</i> < 0.0001)

Fig. 4. (A) Ultrasonic velocities for the insertion and contact measurement techniques for the higher frequency (1 MHz) transducer pair for the 24 bovine trabecular samples. (B) Specific differential attenuations for the insertion and contact measurement techniques for the higher frequency (1 MHz) transducer pair for the 24 bovine trabecular samples.

Comparison Between Ultrasonic Insertion and Contact Techniques

Table 2 shows the mean ultrasonic velocities for the bone samples using an insertion and contact measurement technique for the 500 kHz and 1 MHz transducer pairs. As may be seen, there is essentially no significant difference in any of the ultrasonic parameters for the two measurement techniques. Table 2 also shows the linear correlation coefficients between the respective velocities and specific differential attenuations for the contact and insertion techniques. Figure 4A and 4B present the ultrasonic velocity and specific differential attenuation, respectively, made with the insertion and contact techniques for the 1 MHz transducer pair. Similar results were obtained also for the 500 kHz data.

Correlations with Bone Density and Precision of the Measurements

Table 3 summarizes the linear correlation coefficients between velocity and specific differential attenuation and BD for the low (300–700 kHz) and high frequency (0.8–1.2 MHz) ranges and for the contact and insertion techniques. As may be seen, there were relatively high and approximately equivalent correlations between velocity and bone density for the samples made with either the contact or insertion techniques, for both the low and high frequency ranges. For example, the low frequency transducers produced correlations of *r* = 0.79 and *r* = 0.80 between velocity and BD for the insertion and contact techniques, respectively. There was also qualitative agreement exhibited between SDA and BD, with respect to the contact and insertion techniques, for the low and high frequency ranges. In particular, the correlations were both weakly negative for

the low frequency case, and weakly positive for the high frequency measurements.

Finally, the average precisions (i.e., coefficients of variation) of the insertion technique were found to be 0.55% and 1.44% for the velocity and attenuation, respectively. The average precisions of the contact technique were 0.39% and 2.1% for the velocity and attenuation, respectively.

Discussion

Two subjects related to ultrasonic assessment of bone tissue have been studied. The first concerned the effects of marrow on the values of ultrasonic velocity and specific differential attenuation. Since the majority of *in vitro* ultrasonic studies on cancellous bone have been carried out without marrow although clinical data always includes the effects of marrow, it would be interesting to determine what contribution, if any, the marrow has on the ultrasonic parameters. Several basic results emerge from this part of the study. The first is that the correlations of ultrasonic velocity and specific differential attenuation with bone density remain essentially unaffected by removal of the marrow and its replacement with water. Thus, with respect to the presence or absence of marrow, the results from *in vitro* and clinical studies may be compared insofar as bone density estimation is concerned. Although the actual regression equations may be different, the overall information content in the two cases appears to be approximately equivalent. The second important aspect of these results relates to the actual changes produced by marrow removal on the ultrasonic parameters. The increase in ultrasonic velocity after marrow removal is consistent with the fact that the velocity of ultrasound in water is higher than the velocity of ultrasound in fat [32]. For example, the velocity in fat is 1450 m/second whereas the

Table 3. Linear correlations between bone density and ultrasonic velocity and attenuation

		Bone density		
		Insertion		Contact
		With marrow	Without marrow	With marrow
500 kHz	SDA	$r = -0.50$ ($P = 0.013$)	$r = -0.41$ ($P = 0.048$)	$r = -0.32$ ($P = 0.125$)
	Velocity	$r = 0.79$ ($P < 0.0001$)	$r = 0.86$ ($P < 0.0001$)	$r = 0.80$ ($P < 0.0001$)
1 MHz	SDA	$r = 0.22$ ($P = 0.307$)	$r = 0.16$ ($P = 0.436$)	$r = 0.28$ ($P = 0.180$)
	Velocity	$r = 0.86$ ($P < 0.0001$)	$r = 0.89$ ($P < 0.0001$)	$r = 0.86$ ($P < 0.0001$)

velocity in water at the temperature used in this experiment was 1495 m/second. This represents an increase of about 3.1%, which is not that far from the increases observed for the bone samples after marrow removal, namely, 2.1% and 2.8%, for the 500 kHz and 1 MHz transducers, respectively. Thus, it appears that the relative changes in ultrasonic velocity for a trabecular bone sample is strongly influenced by the relative changes in velocity associated with modifications of the material (decreased viscosity) in the trabecular pore spaces. In our case, assuming an average increase of 2.5% for the velocity after marrow removal, then about 80% ($2.5 \div 3.1$) of the total or potential increase in velocity is actually observed. Also of interest is the fact that the percent increase in velocity is greater for the higher frequency (1 MHz) transducer pair. This is somewhat unexpected in view of the fact that the ultrasonic velocity in water and in fat is not significantly affected by the change in frequency [32], and also that higher frequency ultrasound has been assumed to be more strongly dependent on the trabecular bone material *per se* [33]. Clearly these are questions that remain to be more fully explored.

In contrast to the ultrasonic velocity, the specific differential attenuation is decreased by removal of the marrow. This decrease can be attributed to the fact that the attenuation, i.e., the SDA, of the marrow is significantly greater than the attenuation due to water, which can be considered to be essentially equal to zero. A reasonable value for the marrow material can be assumed to be about $1 \text{ dBcm}^{-1} \text{ MHz}^{-1}$ [32]. The actual changes observed in the specific differential attenuation, namely, $-2.0 \text{ dBcm}^{-1} \text{ MHz}^{-1}$ and $-5.0 \text{ dBcm}^{-1} \text{ MHz}^{-1}$, for the 500 kHz and 1 MHz pairs, respectively, are thus much larger than the changes expected based on the differences in attenuation properties of the water and marrow. This too should be further investigated in order to better understand ultrasound-trabecular bone interactions. It should, however, be pointed out that direct comparisons between the *in vitro* results presented here and clinical studies should be carefully considered, since many other factors such as the effects of cortical bone and overlying soft tissue need to be taken into account. It should also be noted that one recent study did examine the influence of fat on ultrasonic measurements [15]. In this study, ultrasonic measurements were made on fat samples, phantoms and cadaver heels, as well as on adult volunteers. The overall effect of fat was found to reduce the ultrasound velocity and not to affect the acoustic attenuation. However, this study did not measure the ultrasonic parameters before and after removal of marrow, but rather attempted to correlate

total fat content with ultrasonic velocity and attenuation. In addition, the velocity as reported was not the actual velocity associated with the heel but rather a systematically biased one, due to the use of a fixed normalizing length constant.

The second subject studied in this report dealt with the comparison between contact and insertion modes of ultrasonic measurements. As pointed out earlier, contact measurements would be much preferred in clinical applications since water baths are inconvenient and can make repositioning of the foot somewhat problematic. Our results demonstrated two main elements. First, the overall correlations of velocity and attenuation with BD were not significantly affected by using a contact method in place of an insertion (water bath)-based approach. Second, the velocities and specific differential attenuations produced by the contact and insertion modes were, respectively, highly correlated. Thus, and as may have been expected, the same information appears to be present in the two different types of ultrasonic measurements. We should note, however, that we have not fully addressed the issues of precision and reproducibility, which will depend strongly on the specific experimental conditions used in the respective techniques [28].

In summary, we have reported on both the effects of marrow removal and a comparison of contact and insertion measurements in trabecular bone samples for estimating ultrasonic velocity and specific differential attenuation. Our results suggest that contact measurements should be considered in clinical applications as they appear to provide essentially equivalent information as compared with water bath approaches. The marrow aspect of this study allows the possibility of comparing clinical with *in vitro* data, as well as providing useful information for further elucidating the processes by which ultrasound interacts with cancellous bone tissue.

Acknowledgment. This study was supported by OrthoLogic Corp., Phoenix, AZ. NIH Grant #1R43AR43045-01 and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brasília, Brazil.

Appendix

The estimation of velocity was carried out in the time domain, according to the principle of time of arrival of signal energy. The estimation of velocity can also be achieved in the frequency domain, through the use of phase unwrapping and linear models, as

described by Kaufman et al. [31]. However, since most prior studies have relied on the pulse transit time technique, we chose to use that method here as well.

The times of arrival of the reference and sample signals are defined to be the times at which the maximum absolute values of the respective signals occur. Using τ_s and τ_r to denote the times of arrival of the sample and reference signals, respectively, the ultrasonic velocity, v_s , in the bone sample using the insertion technique can be evaluated according to the following expression:

$$v_s = \frac{1}{\frac{1}{v_r} - \frac{(\tau_r - \tau_s)}{d}} \quad (\text{A-1})$$

where v_r is the velocity of ultrasound in the reference medium, in this case water ($v_r = 1495$ m/second) and d is the sample thickness.

The velocity calculation must be modified for the contact method in order to account properly for the gel pads in the sample measurement. First, an effective velocity, v_e , is calculated as follows:

$$v_e = v_r \frac{d_t}{d_t + v_r(\tau_s - \tau_r)} \quad (\text{A-2})$$

In eq. (A-2), d_t is the distance separating the ultrasound transducers, which remains fixed for the sample and reference measurements. The ultrasonic velocity, v_s , associated with the bone sample is then given by

$$v_s = v_e v_{\text{gel}} \frac{d}{v_{\text{gel}} d_t - v_e(d_t - d)} \quad (\text{A-3})$$

where v_{gel} is the velocity of ultrasound in the gel pad. This velocity was determined by a pure insertion measurement, and was found to be $v_{\text{gel}} = 1621.5$ m/second.

References

- Hans D, Schott AM, Meunier PJ (1993) Ultrasonic assessment of bone: a review. *Eur J Med* 2(3):157–163
- Kaufman JJ, Einhorn TA (1993) Perspectives: ultrasound assessment of bone. *J Bone Miner Res* 8(5):517–525
- McKelvie ML, Fordham J, Clifford C, Palmer SB (1989) In vitro comparison of quantitative computed tomography and broadband ultrasonic attenuation of trabecular bone. *Bone* 10:101–104
- McCloskey EV, Murray SA, Charlesworth D, Miller C, Fordham J, Clifford K, Atkins R, Kanis JA (1990) Assessment of broadband ultrasound attenuation in the os calcis in vitro. *Clin Sci* 78:221–225
- Waud CE, Lew R, Baran DT (1992) The relationship between ultrasound and densitometric measurements of bone mass at the calcaneus in women. *Calcif Tissue Int* 51:415–418
- Van Daele PLA, Burger H, Algra D, Hofman A, Grobbee DE, Birkenhager JC, Pols HAP (1994) Age-associated changes in ultrasound measurements of the calcaneus in men and women: the Rotterdam study. *J Bone Miner Res* 9(11):1751–1757
- Evans JA, Tavakoli MB (1990) Ultrasonic attenuation and velocity in bone. *Phys Med Biol* 35(10):1387–1396
- Tavakoli MB, Evans JA (1991) Dependence of the velocity and attenuation of ultrasound in bone on the mineral content. *Phys Med Biol* 36(11):1529–1537
- Glüer CC, Wu CY, Jergas M, Goldstein SA, Genant HK (1993) Three quantitative ultrasound parameters reflect bone structure. *Calcif Tissue Int* 55:46–52
- Alves JM, Xu W, Lin D, Siffert RS, Ryaby JT, Kaufman JJ (1996) Ultrasonic assessment of human and bovine trabecular bone: a comparison study. *IEEE Trans Biomed Eng* 43:249–258
- Biot MA (1962) Generalized theory of acoustic propagation in porous dissipative media. *J Acoust Soc Am* 34:1254–1264
- Williams JL (1992) Ultrasonic wave propagation in cancellous and cortical bone: prediction of some experimental results by Biot's theory. *J Acoust Soc Am* 91(2):1106–1112
- Xu W, Siffert RS, Kaufman JJ (1994) Application of wavelet analysis to ultrasonic characterization of bone. In: Singh A (ed) *Conference Record of the 28th Asilomar Conference on Signals, Systems and Computers*. IEEE Computer Society Press, pp 1090–1094
- Johnson DL (1986) Recent developments in the acoustic properties of porous media. In: *Frontiers in physical acoustics, XCIII Corso. Soc. Italiana di Fisica, Bologna, Italy*, pp 255–290
- Kotzki PO, Buyck D, Hans D, Thomas E, Bonnel F, Favier F, Meunier PJ, Rossi M (1994) Influence of fat on ultrasound measurement of the os calcis. *Calcif Tissue Int* 54:91–95
- Salamone LM, Krall EA, Harris S, Dawson-Hughes B (1994) Comparison of broadband ultrasound to single x-ray absorptiometry measurements at the calcaneus in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 54:87–90
- Roux C, Lemonnier E, Kolta S, Charpentier E, Dougados M, Amor B, Viens-Bitker C (1993) Broadband ultrasound attenuation of the calcaneus and bone density measurements. *Rev Rhum (Engl ed)* 12:771–780
- Palacios S, Menéndez C, Calderon J, Rubio S (1993) Spine and femur density and broadband ultrasound attenuation of the calcaneus in normal Spanish women. *Calcif Tissue Int* 52:99–102
- Glüer CC, Vahlensieck M, Faulkner KG, Engelke K, Black D, Genant HK (1992) Site-matched calcaneal measurements of broadband ultrasound attenuation and single x-ray absorptiometry: Do they measure different skeletal properties? *J Bone Miner Res* 7(9):1071–1079
- Zagzebski JA, Rossman PJ, Mesina C, Mazess RB, Madsen EL (1991) Ultrasound transmission measurements through the os calcis. *Calcif Tissue Int* 49:107–111
- Agren M, Karellas A, Leashey D, Marks S, Baran D (1991) Ultrasound attenuation of the calcaneus: a sensitive and specific discriminator of osteopenia in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 48:240–244
- Baran DT, McCarthy CK, Leahey D, Lew R (1991) Broadband ultrasound attenuation of the calcaneus predicts lumbar and femoral neck density in Caucasian women: a preliminary study. *Osteoporosis Int* 1:110–113
- Baran DT, Kelly AM, Karellas A, Gionet M, Price M, Leahey D, Steuterman S, Mcsherry B, Roche J (1988) Ultrasound attenuation of the os calcis in women with osteoporosis and hip fractures. *Calcif Tissue Int* 43:138–142
- McKelvie ML, Palmer SB (1991) The interaction of ultrasound with cancellous bone. *Phys Med Biol* 36(10):1331–1340
- Kaufman JJ, Alves JM, Siffert RS, Magee FP, Ryaby JT (1994) Ultrasound assessment of trabecular bone density using neural networks. *J Bone Miner Res* 9(suppl 1):188
- Glüer CC, Wu CY, Genant HK (1993) Broadband ultrasound attenuation signals depend on trabecular orientation: an in vitro study. *Osteoporosis Int* 3:185–191
- Tavakoli MB, Evans JA (1992) The effect of bone structure on ultrasonic attenuation and velocity. *Ultrasonics* 30(6):389–395
- Herd RJM, Blake GM, Ramalingam T, Miller CG, Ryan PJ, Fogelman I (1993) Measurement of postmenopausal bone loss with a new contact ultrasound system. *Calcif Tissue Int* 53:153–157
- Wells PNT (1969) *Physical principles of ultrasonic diagnosis*. Academic Press, London, New York
- Xu W, Kaufman JJ (1993) Diffraction correction methods for insertion ultrasound attenuation estimation. *IEEE Trans Biomed Eng* 40(6):563–569
- Kaufman JJ, Xu W, Chiabrera AE, Siffert RS (1995) Diffraction effects in insertion mode estimation of ultrasonic group velocity. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr* 42(2):232–242
- Hill CR (1986) Basic acoustic theory. In: *Physical principles of medical ultrasonics*. Halsted Press, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, p 59
- Ashman RB, Rho JY (1988) Elastic modulus of trabecular bone material. *J Biomech* 21:177–181