Alessandro Márcio Hakme da Silva

**Estudo Experimental das Propriedades Elásticas de
Ossos Trabeculares Utilizando Ensaio Mecânicos
Computacionais e Microtomografia por Raios-X**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
Interunidades Bioengenharia - Escola de Engenharia de São
Carlos / Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto / Instituto
de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo
como parte dos requisitos para a obtenção do título de
Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Bioengenharia

Orientador: Prof. Dr. José Marcos Alves

Versão Corrigida

São Carlos
2014

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO,
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS
DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

S586e Silva, Alessandro Márcio Hakme da
Estudo experimental das propriedades elásticas de
ossos trabeculares utilizando ensaios mecânicos
computacionais e microtomografia por raios-x /
Alessandro Márcio Hakme da Silva; orientador José
Marcos Alves. São Carlos, 2014.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação
Interunidades Bioengenharia e Área de Concentração em
Bioengenharia -- Escola de Engenharia de São Carlos;
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; Instituto de
Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo,
2014.

1. Osso trabecular. 2. Microtomografia por raio-x.
3. Elementos finitos. 4. Vértex humanas. 5. Módulo
de Young. 6. Módulo de Poisson. 7. Módulo de torção. I.
Título.

Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia
EESC / FMRP / IQSC

Alessandro Márcio Hakme da Silva

Título: "Estudo experimental das propriedades elásticas de ossos trabeculares utilizando ensaios mecânicos computacionais e microtomografia por raios-x".

TESE APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
INTERUNIDADES BIOENGENHARIA - EESC/FMRP/IQSC DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE
DOUTOR EM CIÊNCIAS NA ÁREA DE BIOENGENHARIA.

Aprovado em: 4 / 6 / 14

Prof. Dr. José Marcos Alves (Orientador)

Resultado: Aprovado

Universidade de São Paulo - USP

Assinatura: [Signature]

Profa. Dra. Marise Lazaretti Castro

Resultado: Aprovado

Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP

Assinatura: [Signature]

Prof. Dr. Orivaldo Lopes da Silva

Resultado: aprovado

Universidade de São Paulo - USP

Assinatura: [Signature]

Prof. Dr. Carlos Manuel Pedro Vaz

Resultado: APROVADO

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária -
Embrapa

Assinatura: [Signature]

Prof. Dr. Jonas de Carvalho

Resultado: Aprovado.

Universidade de São Paulo - USP

Assinatura: [Signature]

Homologado em: ____/____/____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus por me mostrar que deve haver muita humildade, paciência e perseverança nos caminhos a trilhar.

À minha mãe Cecília Hakme, com muito amor, carinho e admiração, por todo seu apoio na caminhada para a execução dos meus projetos de pesquisa científica pois sem a sua confiança e afeto não teria chegado aonde cheguei.

À minha irmã Milena Hakme e ao meu cunhado Toni Sanches pelo amor, carinho, admiração e por toda a ajuda emocional nos momentos conturbados.

A toda minha família, que sempre acreditou no meu potencial e, em especial, ao meu pai Alício e sua esposa Isabel e à minha irmã Larissa.

Aos meus avós, paternos e maternos, e à minha tia Catarina Hakme, (in memorian), que contribuíram para o homem que me dediquei a ser.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de doutorado e PDSE.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão do auxílio à pesquisa # 08/56563-5.

À Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo (EESC-USP) e ao Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia – USP (PPGIB - USP) por disponibilizar toda infra-estrutura para a execução do meu projeto de doutorado.

Ao Prof. Dr. José Marcos Alves do Departamento de Engenharia Elétrica e de Computação da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo (EESC-USP) e do PPGIB-USP pela orientação, companheirismo, amizade, empenho e paciência, essenciais para a concretização da tese de doutorado e para o meu desenvolvimento profissional e pessoal.

Ao Prof. Dr. Steven K. Boyd do Department of Radiology e McCaig Institute for Bone and Joint Health, University of Calgary, Canada, pela supervisão e orientação do projeto de doutorado sanduíche na Universidade de Calgary, pela amizade e ótima relação profissional no Bone Imaging Laboratory (BIL).

Ao Eng. Tomaz Puga Leiva do Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina – USP OT-HC-FMUSP pelo encaminhamento das solicitações de auxílio à pesquisa à FAPESP (# 08/56563-5) que resultaram na aquisição de infraestrutura computacional para pesquisas sobre qualidade óssea no PPGIB - USP.

Ao Prof. Dr. Orivaldo Lopes da Silva do PPGIB-USP pelas sugestões e análise dos resultados da tese de doutorado, amizade, paciência, ótima convivência profissional e pelo ensinamento de conceitos que foram fundamentais para o meu avanço profissional e pessoal.

À Dra. Sarah L. Manske do Department of Radiology e McCaig Institute for Bone and Joint Health, University of Calgary, Canadá, pela ajuda na aquisição das imagens e compreensão dos procedimentos para análise microtomográfica da Scanco Medical AG, pela amizade e ótima relação profissional no Bone Imaging Laboratory (BIL).

A todos os colegas de trabalho, Marc Stadelmann, Anne Cooke, Duncan Raymond, Erin Hildebrandt, Lauren Burt, Munier Nour, Michelle Kan pela amizade e ótima relação profissional no Bone Imaging Laboratory (BIL).

Ao Biólogo Nelson Ferreira da Silva Júnior do PPGIB-USP pela amizade e prazerosa convivência no ambiente profissional e pessoal no doutorado.

Ao Mário Gazziro do PPGIB-USP pela amizade e alegre convivência no âmbito profissional e pessoal no doutorado.

Às secretárias Janete Ferreira Rodrigues dos Santos e Nathalia Diniz do PPGIB-USP por todo o auxílio e paciência nos esclarecimentos de questões administrativas relativas ao Programa;

Ao meu amigo e parceiro Paulo Henrique Dias Ferreira por toda a amizade e a cooperação ao longo destes anos nos momentos de extrema dificuldade.

Aos meus amigos e companheiros Saulo Sabino, Tiago Baron, João Vitor, Eric Kureck, Ricardo Morgado, Matheus Sillos, Alisson Garcia, José Ricardo e Fábio Azevedo que em todos os momentos apoiaram e acreditaram no meu potencial;

Ao meu amigo Uziel Paulo da Silva e sua esposa Rafaela Fernandes pela real amizade e por todos os esclarecimentos e discussões ao longo do doutorado.

À minha amiga e companheira por anos Thalita Alves por todo seu amor, respeito, simplicidade e companheirismo;

À minha família canadense, Paula Steinberg, Gerry Guy, Jaxen Guy e Jordhynn Guy, que me hospedou com tanto apreço e carinho durante meu doutorado sanduíche em Calgary.

Aos meus amigos pós-graduandos Ana Elisa, Lucas Freitas, Gabriel da Rocha, Flávio Ferraz, Jéssica Bastos, Vitor Basso, Paula Baravieira, Michelli Bersanetti, Thiago Figueira e Jaqueline Crusca por todo companheirismo.

EPIGRAFE

“O ser humano vivência a si mesmo, seus pensamentos como algo separado do resto do universo - numa espécie de ilusão de ótica de sua consciência. E essa ilusão é uma espécie de prisão que nos restringe a nossos desejos pessoais, conceitos e ao afeto por pessoas mais próximas. Nossa principal tarefa é a de nos livrarmos dessa prisão, ampliando o nosso círculo de compaixão, para que ele abranja todos os seres vivos e toda a natureza em sua beleza. Ninguém conseguirá alcançar completamente esse objetivo, mas lutar pela sua realização já é por si só parte de nossa liberação e o alicerce de nossa segurança interior.”

Albert Einstein

RESUMO

Silva, A.M.H. 2014. 149f. **Estudo Experimental das Propriedades Elásticas de Ossos Trabeculares Utilizando Ensaios Mecânicos Computacionais e Microtomografia por Raios-X**. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos / Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto / Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

Ossos trabeculares possuem uma microestrutura porosa e podem ser modelados como um sólido elástico linear, heterogêneo e anisotrópico. A microtomografia tridimensional por raios-x (μ CT) tem sido mundialmente utilizada para a caracterização de osso trabecular em pesquisas relacionadas à qualidade óssea e a doenças do metabolismo ósseo como a osteoporose. Na literatura existem poucas investigações sobre a influência de diferentes subvolumes amostrais na caracterização de propriedades mecânicas de osso trabecular humano através de μ CT e ensaio mecânico computacional pelo método de Elementos Finitos. Nesta investigação doze vértebras humanas da região lombar foram utilizadas para a caracterização das propriedades mecânicas do osso trabecular através de μ CT e modelagem computacional por elementos finitos. Uma amostra cúbica virtual com 18,5 mm de lado foi extraída de cada vértebra e quatro cubos menores centrais foram obtidos a partir dela com reduções de 20%, 40%, 60%, 80% do volume original de cada cubo. A abordagem *Direct Mechanics* por meio de análise de elementos finitos foi realizada através do Software FAIM (v6.0, Numerics88 Solutions Ltd). Os valores médios nas três direções principais de carregamento para os módulos de Young, Poisson e Torção obtidos foram, respectivamente, $E_1 = 294$ MPa, $E_2 = 258$ MPa, $E_3 = 153$ MPa, $G_{23} = 86$ MPa, $G_{31} = 103$ MPa, $G_{12} = 100$ MPa, $\nu_{21} = 0,121$, $\nu_{31} = 0,076$, $\nu_{12} = 0,137$, $\nu_{32} = 0,077$, $\nu_{13} = 0,141$ e $\nu_{23} = 0,140$. O teste estatístico de Kruskal - Wallis ANOVA fator único foi aplicado com os procedimentos de comparação aos pares (teste de Tukey) mostrou que $E_1 \neq E_3$, $E_2 \neq E_3$ e $E_1 = E_2$. Isso indica que há a tendência para duas direções diferentes de carregamento mecânico nas amostras de osso trabecular das vértebras humanas analisadas, caracterizando uma simetria transversalmente isotrópica. Entretanto, os autovalores da matriz **M** (tensor anisotropia) expressaram uma tendência da microestrutura trabecular das vértebras humanas para a simetria ortotrópica, mostrando que a análise do *fabric* não classifica adequadamente a simetria da estrutura. A avaliação dos parâmetros microestruturais mostrou a tendência de um aumento do grau de conectividade das trabéculas a medida que ocorre uma redução dos subvolumes analisados (100% para 20% ou em milímetros de 18,5 para 3,7) acompanhado de um acréscimo dos valores da fração de volume ósseo. Esta tendência reforça a ideia de analisar-se as possíveis variações dos parâmetros morfométricos e mecânicos em domínios específicos. Em outras palavras, uma avaliação local com a escolha de volumes menores dos parâmetros microestruturais fração de volume, conectividade, espessura trabecular, separação trabecular, número trabecular e parâmetros mecânicos (Módulos de Young, Poisson e Torção) podem melhorar o prognóstico da resistência óssea, a qual prediz o risco de fratura de estruturas de osso esponjoso com precisão. Quando as propriedades mecânicas estão associadas com informações microestruturais por μ CT são gerados mais parâmetros para se avaliar a qualidade óssea no diagnóstico de doenças do metabolismo ósseo. Portanto, a microtomografia de raios-X e análise de elementos finitos oferecem uma técnica não-invasiva com grande potencial para a avaliação da qualidade óssea.

Palavras-chaves: Osso trabecular, microtomografia por raio-X (μ CT), elementos finitos, vértebras humanas, módulo de Young, módulo de Poisson, módulo de torção.

ABSTRACT

Silva, A.M.H. 2014. 149f. **Assessment of the Elastic Properties on trabecular Bone Using Computational Mechanical Tests and X-ray microtomography.** PhD. Thesis – Escola de Engenharia de São Carlos / Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto / Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

Trabecular bone structures have a porous microstructure and can be modeled as linear elastic solid with a heterogeneous and anisotropic structure. The X-ray microtomography (μ CT) has been used worldwide for the characterization of trabecular bone and its relationship with bone quality in metabolism diseases such as osteoporosis. In the literature there are few investigations regarding the influence of trabecular samples subvolumes in the assessment of microstructure and mechanical properties using μ CT and finite element analysis. In this investigation twelve human vertebrae were used for the characterization of mechanical properties of trabecular bone using μ CT and computational modeling by finite elements. A cube sample with 18.5 mm sides was computationally extracted from each vertebrae and four smaller central cubes were obtained from it, with a 20%, 40%, 60%, 80% reduction from the original volume. The Direct Mechanics approach by finite element analysis was performed through the FAIM Software (v6.0, Numerics88 Solutions Ltd.). The mean values on three main directions of loading for Young's Modulus, Poisson's Modulus and Shear's Modulus, were: $E_1 = 294$ MPa, $E_2 = 258$ MPa, $E_3 = 153$ MPa, $G_{23} = 86$ MPa, $G_{31} = 103$ MPa e $G_{12} = 100$ MPa, $\nu_{21} = 0,121$, $\nu_{31} = 0,076$, $\nu_{12} = 0,137$, $\nu_{32} = 0,077$, $\nu_{13} = 0,141$ e $\nu_{23} = 0,140$. The Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks was applied with pairwise multiple comparison procedures (Tukey Test) showing that $E_1 \neq E_3$, $E_2 \neq E_3$ e $E_1 = E_2$. This indicates that there are two different main directions of loading on the trabecular bone samples of human vertebrae which is related to a transversely isotropic symmetry. However the eigenvalues of the matrix $\mathbf{M}$ (tensor anisotropy) expressed a tendency to orthotropic symmetry of the trabecular microstructure of human vertebrae, showing that the fabric assumption does not adequately classify the symmetry of the structure. The assessment of microstructural properties showed a tendency to increase the connectivity of the trabeculae with the reduction of the analyzed subvolumes (100% to 20% or 18.5 mm to 3.7 mm) as well as an increase of the bone volume fraction values. Those results highlight the idea that mechanical properties are better described in local regions. In other words, a local assessment of the microstructure parameters volume fraction, connectivity, trabecular thickness, trabecular separation, trabecular number and mechanical parameters (Young's Modulus, Poisson's Modulus and Shear's Modulus) can improve the prediction of bone strength, which predicts the risk of cancellous bone fracture accurately. When the mechanical properties are associated with microstructural information more bone quality parameters are generated for the diagnosis of bone metabolism diseases and they can predict the fracture risk of cancellous bone structures with higher accuracy. Therefore, the X-ray microtomography and finite element analysis offer a non-invasive technique with great potential for the assessment of bone quality.

Keywords: trabecular bone, X-Ray microtomograph (μ CT), finite element analysis, human vertebrae, Young's Modulus, Poisson's Modulus, Shear's Modulus.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Imagem 3D e seções transversais de uma amostra de osso trabecular obtidas por microtomografia 3D (Goulet et al., 1994).	22
Figura 2 - Estrutura do osso trabecular do calcâneo humano com predominância de bastonetes (a) e placas (b) (Hildebrant et al., 1999).	25
Figura 3 – Estrutura do osso cortical (Junqueira et. al., 1989).	26
Figura 4 - Etapas da formação e reabsorção óssea (Bartl et al., 2004).	27
Figura 5 - Atenuação de um feixe de fótons por uma amostra (Macedo, 1996).	28
Figura 6 - Componentes de um microtomógrafo (Alves, 1996).	29
Figura 7 - Efeito do tamanho de voxel sobre a qualidade de imagem. Escala 2D do nível de cinza do fêmur distal de um rato adulto, digitalizada a dimensão de voxel de: (A) 6 mm, (B) 12 mm, (C) 18 mm, e (D) 36 mm. Imagens adquiridas em 70 kVp, 114 mA, e 200-ms tempo de integração (Mary et. al, 2010).	33
Figura 8 - Efeito da filtragem Gaussiana na nitidez de imagem e contraste. À medida que se aumenta a largura do filtro Gaussiano, o ruído é reduzido, e os artefatos de anel também podem ser removidos. Porém, as imagens perdem o contraste (Mary et. al, 2010).	35
Figura 9 - Métodos de contorno usados para delinear a região do osso trabecular. (A) uma região regular uniforme de interesse, (B) uma região irregular anatômica adjacente de interesse desenhada utilizando um algoritmo automatizado, e (C) uma região irregular desenhada manualmente com um voxel de distância a partir da superfície. Imagens adquiridas em 70 kVp, 114 mA, 200-ms tempo de integração (Mary et. al, 2010).	37
Figura 10 - Efeito de diferentes <i>thresholds</i> na segmentação da imagem. (A) imagem original não segmentada, da região distal do fêmur de rato. (B) imagem segmentada mostrando uma binarização "aceitável" de estrutura óssea. (C) imagem segmentada, com um <i>threshold</i> elevado, de modo que estruturas ósseas estão ausentes e/ou diluídas em relação à imagem original. (D) Imagem segmentada, com um <i>threshold</i> baixo, em que estruturas ósseas aparecem mais espessas em relação à imagem original, não segmentada. Segmentação adequada requer inspeção visual e comparação 2D e 3D das imagens binarizadas, com as imagens na escala de cinza original. Imagens adquiridas em 70 kVp, 114 mA, e 200-ms de tempo de integração (Mary et. al, 2010).	38
Figura 11- Etapas da microtomografia computadorizada por raios-X	39
Figura 12- Phantom de alinhamento e suportes de objetos utilizados em microtomografia (Lasso et al., 2008).	40
Figura 13 – Parâmetros que influenciam a magnificação tomográfica.	41

Figura 14 - Representação esquemática do algoritmo 3D.usado para o cálculo da espessura trabecular (A) e de separação trabecular (B). Medida 3D da espessura trabecular média é adquirida por esferas no interior da estrutura. Medida 3D da separação trabecular média é adquirida por esferas no interior dos interstícios (espaço medular). O diâmetro médio das esferas representa a espessura trabecular, e o desvio padrão do diâmetro representa a variabilidade na espessura (Silva et al, 2014).....	43
Figura 15 – Desenho esquemático do princípio da determinação de Tb.Th* pela análise 3D (CT- Analyser, 2008).....	46
Figura 16 – Desenho esquemático do princípio da determinação de Tb.N* pela análise 3D (CT- Analyser, 2008).....	46
Figura 17 – Medição do MIL em duas dimensões (Odgaard, 1997a).	47
Figura 18 – Representação do MIL em duas dimensões por uma elipse (Cowin et al., 2006).	47
Figura 19 - Representação do MIL em três dimensões por um elipsóide (Goldstein et al.,1993).	48
Figura 20 – Elipses obtidas sobre planos mutuamente ortogonais em três amostras de osso trabecular: a) fêmur distal; b) rádio distal; c) crista do íliaco (Feldkamp et al, 1989).	49
Figura 21 – As configurações de referência e deformada de um corpo β	52
Figura 22 – Esquematização do modelo matemático do estado plano de tensões e discretização dos elementos.	62
Figura 23 – Procedimentos de preparação dos seguimentos antes da digitalização.....	69
Figura 24 – Microtomógrafo Scanco (XtremeCT) e Cluster.....	70
Figura 25 – Plano médio sagital e coronal, e Reconstrução 3D espécime C0011068.	70
Figura 26 - Plano médio sagital e coronal, e Reconstrução 3D espécime C0011069.	71
Figura 27 - Plano médio sagital e coronal, e Reconstrução 3D espécime C0012342.	71
Figura 28 - Plano médio sagital e coronal, e Reconstrução 3D espécime C0012343.	71
Figura 29 - Plano médio sagital e coronal, e Reconstrução 3D espécime C0012344.	72
Figura 30 - Plano médio sagital e coronal, e Reconstrução 3D espécime C0012345.	72
Figura 31 - Plano médio sagital e coronal, e Reconstrução 3D espécime C0012361.	72
Figura 32 - Plano médio sagital e coronal, e Reconstrução 3D espécime C0012367.	73
Figura 33 - Plano médio sagital e coronal, e Reconstrução 3D espécime C0012368.	73
Figura 34 - Plano médio sagital e coronal, e Reconstrução 3D espécime C0012369.	73

Figura 35 - Extensões de arquivos utilizados na quantificação microestrutural da Scanco Medical AG.	74
Figura 36 – Diagrama do processo de quantificação microestrutural.	75
Figura 37 - Script Cutout (Extração dos cubos no formato AIM a partir dos ISQ)	75
Figura 38 - Script Cubes (Aquisição dos Subvolumes AIM files)	76
Figura 39 - Script Eval (quantificação dos parâmetros microestruturais)	77
Figura 40 - Filtro de Conectividade (Voxels em vermelho caracterizam a região desconexa da estrutura)	78
Figura 41 - Modelamento por Elementos Finitos (Faim)	79
Figura 42 – Gráfico (3D) da relação entre (Conn.D), BV/TV e os subvolumes ósseos.....	81
Figura 43 - Gráfico da Regressão Linear entre o parâmetro (Conn.D) e (BV/TV).....	83
Figura 44 - Gráfico da Regressão Linear entre o parâmetro (Tb.Th) e (BV/TV).	84
Figura 45 - Gráfico da Regressão Linear entre o parâmetro (Tb.Sp) e (BV/TV).....	84
Figura 46 - Gráfico da Regressão Linear entre o parâmetro (Tb.N) e (BV/TV).....	85
Figura 47 - Gráfico de Regressão entre o parâmetro SMI e BV/TV	85
Figura 48 – Relação do Grau de Anisotropia pelo fator de normalização (BV/Tb.Th) nos respectivos subvolumes.	86
Figura 49 - Gráfico de Regressão de E_{xx} em função de (BV/TV).....	88
Figura 50 - Gráfico de Regressão de E_{yy} em função de (BV/TV).....	88
Figura 51 - Gráfico de Regressão de E_{zz} em função de (BV/TV).	89
Figura 52 - Gráfico de Regressão de G_{yz} em função de (BV/TV).....	90
Figura 53 - Gráfico de Regressão de G_{zx} em função de (BV/TV).....	90
Figura 54 - Gráfico de Regressão de G_{xy} em função de (BV/TV).	91
Figura 55 - Gráfico da Regressão Linear de E_1	93
Figura 56 - Gráfico da Regressão Linear de E_2	93
Figura 57 - Gráfico da Regressão de E_3	94
Figura 58 - Gráfico da Regressão de G_{23}	95
Figura 59 - Gráfico da Regressão de G_{31}	95

Figura 60 - Gráfico da Regressão de G_{12}	96
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Descrição dos Resultados 3D para microarquitetura do Osso Trabecular	42
Tabela 2 – Características das Amostras Ósseas	68
Tabela 3 - Valores médios para o parâmetro Conn.D nos subvolumes (ANOVA fator Único).	81
Tabela 4 - Valores médios para o parâmetro Tb.Th nos subvolumes (ANOVA fator Único).	82
Tabela 5 - Valores médios para o parâmetro Tb.Sp nos subvolumes (ANOVA fator Único).	82
Tabela 6 - Valores médios para o parâmetro Tb.N nos subvolumes (ANOVA fator Único).	82
Tabela 7 - Valores médios para o parâmetro SMI nos subvolumes (ANOVA fator Único). ...	82
Tabela 8 - Valores médios para o parâmetro BV/TV nos subvolumes (ANOVA fator Único).	82
Tabela 9 - Análise de variância nos ranks (H1, H2 e H3) pelo teste Kruskal-Wallis ANOVA fator único nos ranks.	86
Tabela 10 – Comparações múltiplas entre grupos (H1, H2 e H3) pelo Pós-teste de Tukey.	86
Tabela 11 - Valores médios para o parâmetro H1 nos subvolumes (ANOVA fator Único). ...	87
Tabela 12 - Valores médios para o parâmetro H2 nos subvolumes (ANOVA fator Único). ...	87
Tabela 13 - Valores médios para o parâmetro H3 nos subvolumes (ANOVA fator Único). ...	87
Tabela 14 - Análise de variância nos ranks (E_{xx} , E_{yy} e E_{zz}) pelo teste Kruskal-Wallis ANOVA fator único nos ranks.	89
Tabela 15 – Comparações múltiplas entre grupos (E_{xx} , E_{yy} e E_{zz}) pelo Pós-teste de Tukey. ...	89
Tabela 16 - Análise de variância nos ranks (G_{yz} , G_{zx} e G_{xy}) pelo teste Kruskal-Wallis ANOVA fator único.	91
Tabela 17 - Análise de variância nos ranks (v_{yx} , v_{zx} , v_{xy} , v_{zy} , v_{xz} e v_{yz}) pelo teste Kruskal-Wallis ANOVA One Way nos respectivos subvolumes.	91
Tabela 18 – Comparações múltiplas entre grupos (G_{yz} , G_{zx} e G_{xy}) pelo Pós-teste de Tukey.	92
Tabela 19 – Comparações múltiplas entre grupos (v_{yx} , v_{zx} , v_{xy} , v_{zy} , v_{xz} e v_{yz}) pelo Pós-teste de Tukey.	92

Tabela 20 - Análise de variância nos ranks (E_1 , E_2 e E_3) pelo teste Kruskal-Wallis ANOVA fator único nos ranks.	94
Tabela 21 – Comparações múltiplas entre grupos (E_1 , E_2 e E_3) nos respectivos subvolumes (Pós-teste de Tukey).	94
Tabela 22 - Análise de variância nos ranks (G_{23} , G_{31} e G_{12}) pelo teste Kruskal-Wallis ANOVA fator único nos ranks.	96
Tabela 23 - Análise de variância nos ranks (v_{21} , v_{31} , v_{12} , v_{32} , v_{13} e v_{23}) pelo teste Kruskal-Wallis ANOVA fator único nos ranks.	96
Tabela 24 – Comparações múltiplas entre grupos (G_{23} , G_{31} e G_{12}) pelo Pós-teste de Tukey.	97
Tabela 25 – Comparações múltiplas entre grupos (v_{21} , v_{31} , v_{12} , v_{32} , v_{13} e v_{23}) pelo Pós-teste de Tukey.	97
Tabela 26 -. Valores médios dos módulos de Young, Torção e Poisson nos respectivos subvolumes.	98
Tabela 27 - Espécime C0011069 (L3)	138
Tabela 28 – Espécime C0011069 (L4)	139
Tabela 29 - Espécime C0011069 (L5)	140
Tabela 30 - Espécime C0012342 (L3)	141
Tabela 31 - Espécime C0012342 (L4)	142
Tabela 32 - Espécime C0012342 (L5)	143
Tabela 33 - Espécime C0012343 (L4)	144
Tabela 34 - Espécime C0012343 (L5)	145
Tabela 35 - Espécime C0012344 (L4)	146
Tabela 36 - Espécime C0012344 (L5)	147
Tabela 37 - Espécime C0012367 (L4)	148
Tabela 38 - Espécime C0012367 (L5)	149

LISTA DE SIGLAS

2D - bidimensional

3D – tridimensional

AIM – any image data

BIL – Bone Imaging Laboratory – University of Calgary, Canada

CCD - (charge-coupled device) – dispositivo de carga acoplado

CT-Analyser - software de análise morfométrica

DMO - densidade mineral óssea

GOBJ – graphical object data

HA – hidroxiapatita

HRIC – Health Research Innovation Centre - University of Calgary, Canada

HRpQCT - high-resolution peripheral quantitative computed tomography

ISQ – image sequence data

KeV – kilo elétron volt

MTF - função de transferência de modulação

ROI - região de interesse do objeto

RSQ – raw sequence data

SCV – scout view

SI - Sistema Internacional de Unidades

SNR – relação sinal-ruído

TC - tomografia computadorizada

VOI – volume de interesse do objeto

μ CT - microtomografia de raios-X

LISTA DE SÍMBOLOS

A - Ampères

A - Área da seção transversal

$\mathbf{b}(\mathbf{x})$ – força de corpo

$\mathbf{B}$ – Tensor de deformação de Cauchy-Green à esquerda

B. Ar - Área média de tecido ósseo nas seções transversais da amostra

BS - Área superficial das trabéculas ósseas

BV - Volume ósseo da amostra

BV/TV - Razão entre o volume ósseo e o volume da amostra

BS/BV - Razão entre a área óssea da amostra e o volume ósseo da amostra

$\mathbf{C}$ - Tensor de deformação de Cauchy-Green à direita

Conn – Conectividade

Conn.D – Desvio Padrão da medida de Conectividade

BS/TV - Razão entre o volume ósseo da amostra e o volume da amostra

DA - Grau de Anisotropia

E – Módulo de Young

$\mathbf{E}$ - Tensor de deformação infinitesimal

$\mathbf{E}$ – Tensor de deformação de Green-Saint-Venant

$\mathbf{f}$ – força aplicada

$\mathbf{F}$ – Gradiente de Deformação

G – Módulo de Torsão

$\mathbf{H}$ – Tensor textura

$\mathbf{I}$ - Tensor Identidade

$I(\theta)$ - Número de interseções em uma dada direção θ da grade

L - Comprimento da grade

$\mathbf{M}$ - Tensor de segunda ordem (tensor Anisotropia)

MIL - (mean intercept length) - comprimento médio do número de interseções entre uma grade de linhas paralelas e a interface trabécula/medula óssea

Mp - Mega pixel

$\mathbf{n}$ – vetor normal

ms – milissegundos

mg/cm³ - miligramas por centímetro cúbico

n - versor que define a direção sobre a qual se infere o valor de $L(\theta)$

P - Perímetro da seção transversal da amostra óssea

Po – Porosidade

Q – tensor transformação ortogonal

R – tensor rotação

S – Área

SMI - Índice de modelo estrutural

T – tensor tensão

T. Ar - Área média das seções transversais da amostra

TS - Área superficial da amostra óssea

Tb. N - Número Trabecular

Tb. Pf - Fator Padrão de Osso Trabecular

Tb. Sp - Separação Trabecular

Tb. Sp.D - Desvio Padrão da medida de Separação Trabecular

Tb. Th - Espessura Trabecular

Tb. Th.D - Desvio Padrão da medida de Espessura Trabecular

TV - Volume da Amostra

U – tensor de estiramento à direita

u(X) – vetor deslocamento

V - tensor de estiramento à esquerda

x – ponto espacial

X – ponto material

β - região regular compacta

β_d - corpo deformado

χ - função deformação suave

Ω_d - superfície do corpo

λ - Constante de Lamé

ν - Módulo de Poisson

μ - Constante de Lamé

μA – micro Ampère

SUMÁRIO

Capítulo 1	Introdução.....	21
1.1	Relevância.....	21
1.2	Objetivos.....	22
1.3	Organização da Tese.....	23
Capítulo 2	Tecido Ósseo	24
Capítulo 3	Microtomografia Computadorizada	28
3.1.	Noção geral sobre a técnica	28
3.2.	Aquisição das Imagens - Preparação das amostras e posicionamento.....	30
3.3.	Digitalização (Scanning).....	30
3.4.	Energia de raios-X	30
3.5.	Beam hardening – “Endurecimento do feixe”	31
3.6.	Intensidade	32
3.7.	Calibração	32
3.8.	Tamanho do Voxel e Resolução da Imagem	33
3.9.	Região de Interesse	34
3.10.	Processamento da Imagem.....	35
3.10.1.	Filtragem	35
3.10.2.	Segmentação.....	36
3.10.3.	Análise das Imagens de Microtomografia (Síntese)	39
3.11.	Análise Morfométrica de Osso Trabecular	41
3.12.	Análise Morfométrica 2D	44
3.12.1.	Espessura Trabecular (Tb.Th)	44
3.12.2.	Número trabecular (Tb.N).....	45
3.12.3.	Separação Trabecular (Tb.Sp).....	45
3.12.4.	Porosidade	45
3.13.	Análise Morfométrica 3D	45

3.14. Anisotropia.....	46
3.15. Índice de Modelo Estrutural (SMI).....	49
3.16. Conectividade	50
Capítulo 4 Propriedades Mecânicas, Teoria da Elasticidade e Noções sobre o Método de Elementos Finitos.	52
4.1. Cinemática	52
4.1.1. Deformação e Deslocamento	52
4.1.2. Medidas de Deformação.....	53
4.1.3. Deformações Infinitesimais	54
4.2. Tensor Tensão.....	54
4.3. Relações Constitutivas	55
4.3.1. Relação entre Propriedades Mecânicas e Microestruturais do Tecido Ósseo.....	56
4.4. Método de Elementos Finitos	59
4.4.1. Origem do Método	59
4.4.2. Classificação dos Elementos Estruturais.....	60
4.4.3. Formulações e Soluções dos problemas estruturais	61
4.4.4 Abordagem <i>Direct Mechanics</i>	63
Capítulo 5 Material e Métodos	67
5.1 Amostras Ósseas	67
5.2 Quantificação Microestrutural	68
5.3 Análise das Propriedades Mecânicas	77
5.4 Análise Estatística.....	79
Capítulo 6 Resultados.....	81
Capítulo 7 Discussão.....	99
Capítulo 8 Conclusão	103
Referências ^[1]	104
Anexos.....	111

Anexo A (Script Cutout)	112
Processamento para a extração dos cubos de todos os segmentos de vértebra. (Submit_All_Cutout)	112
Image Processing Language - IPL_Cutout	113
Anexo B (Script Cubes).....	114
Processamento para a extração dos subvolumes de todos os cubos extraídos dos segmentos de vértebra. (Submit_All_Cubes)	114
Image Processing Language - IPL_Cubes	115
Anexo C (Script Eval)	121
Processamento para o cálculo dos parâmetros morfométricos em todos os subvolumes extraídos dos segmentos de vértebra. (Submitt_All_Eval).....	121
Image Processing Language - IPL_Eval.....	124
Anexo D.....	128
(Script modelamento por elementos finitos)	128
Anexo E.....	131
(Graphical Objets – GOBJ e <i>Thresholds</i> para as Vértébras)	131
Anexo F	138
(Tabelas dos Espécimes com 82 µm de resolução)	138

Capítulo 1 Introdução

1.1 Relevância

A determinação das propriedades mecânicas e microestruturais do osso trabecular tornou-se um assunto de interesse entre a comunidade científica nas pesquisas para a determinação da qualidade óssea em doenças osteometabólicas como a osteoporose. A osteoporose é uma alteração do metabolismo ósseo caracterizada por baixa massa óssea e mudanças na microestrutura do tecido com um comprometimento da resistência mecânica óssea e consequente aumento da fragilidade e susceptibilidade à fratura. A sua ocorrência é mais comum em mulheres após a menopausa e em pessoas idosas.

Investigações sobre a microestrutura óssea trabecular resultaram em novos conceitos sobre qualidade óssea e sobre o monitoramento da osteoporose. Técnicas não-invasivas como a tomografia computadorizada e a ressonância magnética nuclear representam um enorme potencial de diagnóstico a ser explorado (Majumdar & Bay, 2000).

A orientação das trabéculas ósseas em uma amostra de osso trabecular varia de acordo com a direção, conforme mostrado na Figura 1. Observa-se que no plano zy há uma orientação preferencial das trabéculas e que nos planos xy e zx não há orientação preferencial (Goulet et al., 1994). Goldstein et al (1993) comprovaram experimentalmente a influência dessa orientação na resistência mecânica: duas amostras ósseas trabeculares com frações de volume ($BV/TV = \text{volume ósseo da amostra} / \text{volume da amostra}$) próximas entre si de 18% e 19%, respectivamente, apresentaram uma resistência mecânica que variou de 30% a uma ordem de magnitude dependendo da direção analisada.

A densidade de amostras de osso trabecular foi relacionada à resistência mecânica ao observar uma forte e positiva correlação entre a densidade e a máxima tensão de ruptura e entre a densidade e a rigidez (Currey, 1969; Carter & Hayes, 1977; Goldstein et al., 1983; Rice et al., 1988; Ciarelli et al., 1991). Apesar da densidade representar uma importante componente da resistência mecânica, ela não é influenciada pela microestrutura do osso trabecular e não explica variações observadas nesta resistência, representando assim uma medida parcial de caracterização dessa resistência, que pode ser melhor avaliada pela determinação das propriedades mecânicas.

A qualidade óssea é majoritariamente monitorada na clínica pela medida da densidade mineral óssea (DMO) pelo exame DXA (*Dual-energy X-ray absorptiometry*), um exame 2D,

mas esta medida não é suficiente para identificar completamente a fragilidade óssea e o risco de fratura de um indivíduo (Mccreadie & Goldstein, 2000; Waldir et al., 2007). A medida de parâmetros microestruturais, denominada de análise morfométrica bidimensional (2D) ou tridimensional (3D), deve ser incorporada ao monitoramento da qualidade óssea para uma determinação mais precisa do risco de fratura e para o aprimoramento do diagnóstico da osteoporose.

Figura 1 - Imagem 3D e seções transversais de uma amostra de osso trabecular obtidas por microtomografia 3D (Goulet et al., 1994).

A tomografia computadorizada quantitativa de alta resolução (HR-pQCT), comercialmente disponível a partir do ano 2000, é um método não-invasivo e de baixa dose de radiação por Raios-X, para a caracterização da microestrutura óssea e a densidade mineral volumétrica em sítios anatômicos cortical e trabecular, de regiões distais da tibia e do radio. O seu uso em aplicações clínicas tem crescido exponencialmente, com relevantes contribuições ao monitoramentos das diferenças na microestrutura óssea devido ao sexo e a idade, as diferenças causadas por doenças metabólicas e a resposta óssea à diferentes terapias. A incorporação da técnica de elementos finitos (FEA) nessa tecnologia permitiu uma avaliação não-invasiva da resistência mecânica. Atualmente um único HR-pQCT comercial (XtremeCT, SCANCO Medical AG, Brüttisellen, Suíça) é capaz de caracterizar clinicamente a microestrutura óssea em in-vivo, em humanos, e a sua resistência mecânica utilizando FEA (Cheung et al., 2013).

1.2 *Objetivos*

A microtomografia por raios-X (μ CT) tem sido mundialmente utilizada para a caracterização de osso trabecular em pesquisas relacionadas à qualidade óssea e a sua relação com alterações do metabolismo ósseo como a osteoporose. São objetivos desta investigação:

- a) Análise morfométrica 3D da microestrutura de amostras ósseas trabeculares humanas de vértebras, na região lombar, em diferentes subvolumes utilizando-se μ CT.
- b) Identificação do comportamento mecânico, bem como o tipo de simetria da microestrutura óssea trabecular humana em diferentes volumes amostrais, através da medida dos autovalores da matriz de anisotropia $\mathbf{M}$ e da análise das propriedades mecânicas por ensaios computacionais pela técnica de elementos finitos.

1.3 Organização da Tese

No Capítulo 2 são apresentados os conceitos básicos sobre o tecido ósseo, o qual é responsável pela sustentação do corpo, proteção de órgãos, produção de células vermelhas e brancas do sangue e armazenamento de minerais.

No Capítulo 3 são descritas as noções gerais e específicas a respeito da técnica de microtomografia por raios-X (μ CT): conceitos teóricos, uso da técnica e análises morfométricas 2D e 3D.

No Capítulo 4, utilizando-se de conceitos básicos da Mecânica do Contínuo são descritos as noções gerais sobre a Teoria da Elasticidade e o método de elementos finitos.

No Capítulo 5 são fornecidas todas as informações a respeito da metodologia estabelecida e materiais utilizados nesta investigação.

No Capítulo 6 são descritos os resultados obtidos das análises de microtomografia e de propriedades mecânicas dos ossos trabeculares humanos de vértebras lombares.

No Capítulo 7 apresenta-se a discussão dos resultados obtidos através da interpretação da metodologia estabelecida.

No Capítulo 8 descrevem-se as conclusões da tese.

Nos Anexos são apresentados os “*Scripts*” desenvolvidos para a análise microtomográfica das amostras humanas e para os ensaios mecânicos computacionais pelo método dos elementos finitos, as imagens das regiões de interesse selecionadas em cada vértebra analisada e as tabelas com os respectivos valores dos parâmetros microestruturais e mecânicos para cada espécime analisada.

Capítulo 2 Tecido Ósseo

Neste Capítulo 2 apresentam-se os conceitos básicos sobre o tecido ósseo.

O tecido ósseo é responsável pela sustentação do corpo, proteção de órgãos, produção de células vermelhas e brancas do sangue e armazenamento de minerais. Ele deve resistir aos carregamentos estáticos, tais como o próprio peso do corpo, e dinâmicos que lhe são aplicados.

O tecido ósseo possui funções importantes no organismo, destacando-se a reserva de cálcio e de lipídios (medula amarela), produção de células sanguíneas (medula vermelha) e proteção dos órgãos internos. Atua também como alavanca para permitir os movimentos com a ação dos músculos, (Vivacqua, 2011). As propriedades mecânicas do osso são determinadas pela sua estrutura e composição.

O esqueleto humano é constituído de ossos com diferentes formas e tamanhos, de acordo com os locais e as funções que desempenham. Quanto à forma, eles são classificados em: a) ossos longos (ex. fêmur), nos quais o comprimento predomina; b) ossos curtos (ex. ossos do carpo), nos quais a largura e a espessura são comparáveis; c) ossos planos ou chatos (ex. costelas), que são finos, e os irregulares (ex. vértebras). Funcionalmente, os ossos longos são usados para movimento, os curtos para carga e os chatos para proteção.

O osso é composto por células (osteócitos, osteoblastos e osteoclastos) e um material intercelular constituído de uma matriz orgânica e uma inorgânica. A matriz orgânica é constituída essencialmente de colágeno (95%) e representa aproximadamente 30% da composição do tecido ósseo. A matriz mineral é constituída essencialmente de cristais de hidroxiapatita (cuja fórmula é) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (HA) (95%) e representa aproximadamente 70% da composição do tecido ósseo.

A microestrutura do tecido ósseo varia com a região do esqueleto, podendo ser porosa, denominada osso trabecular, ou compacta, denominada osso cortical. A microestrutura trabecular é composta de trabéculas cujos formatos variam entre bastonetes e placas, conforme mostrado na figura 2, e possui uma grande área superficial (Hildebrant et al., 1999). O osso trabecular é predominantemente encontrado nas extremidades dos ossos longos protegido por uma camada de osso cortical. É também encontrado na estrutura interna de ossos como o calcâneo, o crânio, a pélvis e as vértebras. O osso trabecular compõe 20% do esqueleto.

O osso cortical compõe 80% do esqueleto, é compacto e forma a camada externa dos ossos (figura 3). Nele as fibras colágenas estão distribuídas na forma de lamelas que ficam paralelas umas às outras ou se dispõem em camadas concêntricas em torno de canais com vasos, formando os sistemas de Havers. Entre as lamelas há lacunas onde situam-se os osteócitos. Cada sistema de Havers é constituído por um cilindro longo, paralelo ao eixo longitudinal do osso (diáfise) formado por lamelas concêntricas. No centro desse cilindro existe o canal de Havers que contém vasos, nervos e tecido conjuntivo frouxo. Os canais de Havers comunicam-se entre si, com a cavidade medular e com a superfície externa do osso por meios de canais transversais denominados de canais de Volkmann.

No osso as células são responsáveis por um processo contínuo de remodelação, isto é, de formação e reabsorção óssea. Os osteoclastos destroem a matriz óssea já existente, enquanto os osteoblastos depositam nova matriz óssea. Esse mecanismo proporciona a contínua renovação e substituição de matriz óssea

Figura 2 - Estrutura do osso trabecular do calcâneo humano com predominância de bastonetes (a) e placas (b) (Hildebrant et al., 1999).

O tecido ósseo é formado por aposição, isto é, pela deposição adicional de matriz sobre um osso existente. A nova matriz óssea é sintetizada por osteoblastos que se encontram na superfície da matriz existente. Alguns osteoblastos permanecem livres na superfície, enquanto outros se tornam gradativamente embebidos em sua própria secreção. Este tecido recém produzido (constituído basicamente de colágeno tipo I) é chamado osteóide. Ele é rapidamente convertido em matriz óssea mineralizada pela deposição de cristais de fosfato de cálcio. Uma vez aprisionado na matriz mineralizada, a célula denominada de osteócito, não tem oportunidade de se dividir, embora continue a secretar mais matriz, em pequenas

quantidades, em torno de si mesma. O osteócito ocupa uma pequena cavidade, ou lacuna, na matriz, mas não está isolado na matriz óssea. Os canais muito pequenos, ou canalículos, irradiam de cada lacuna e contêm processos celulares do osteócito que está nesta lacuna, permitindo-lhe formar junções comunicantes com osteócitos vizinhos (Figura 4). Embora a própria rede de osteócitos não realize a secreção e a reabsorção de quantidades substanciais de matriz, eles são responsáveis por parte do controle das atividades das células que o fazem.

Figura 3 – Principais estruturas que compõe o tecido ósseo (Boskey et al, 2010)

Enquanto a matriz óssea é depositada pelos osteoblastos ela sofre reabsorção pelos osteoclastos que são células multinucleadas.

Os ossos são dotados de uma habilidade notável para adaptar sua estrutura em resposta à carga a que são submetidos denominado efeito piezoelétrico. Este comportamento de adaptação sugere que a deposição e reabsorção da matriz sejam controladas de alguma maneira por deformação mecânica local. Este mecanismo de sinalização ocorre na matriz óssea através da síntese de substâncias quando a matriz é submetida à deformação.

A osteoporose é caracterizada por um desequilíbrio entre os processos de formação e com predomínio da reabsorção óssea.

Figura 4 - Etapas da formação e reabsorção óssea (Bartl et al., 2004)

Capítulo 3 Microtomografia Computadorizada

Neste Capítulo 3 apresentam-se noções gerais e específicas a respeito da técnica de microtomografia por Raios-X (μ CT): conceitos teóricos, uso da técnica e análises morfométricas 2D e 3D.

3.1. Noção geral sobre a técnica

Análises qualitativas e quantitativas da microestrutura de um objeto podem ser realizadas pela técnica de μ CT.

Quando um feixe de raios-X com intensidade I_0 atravessa um objeto com espessura x , conforme (figura 5), a intensidade de radiação I após a propagação é dada pela equação (3.1.1), onde μ é o coeficiente de atenuação do material. Se a trajetória do feixe inclui regiões com diferentes coeficientes de atenuação ($\mu_1, \mu_2, \dots, \mu_n$) então a intensidade I é dada pela equação (3.1.2).

Figura 5 - Atenuação de um feixe de fótons por uma amostra (Macedo, 1996).

$$I = I_0 e^{-\mu x} \quad (3.1.1)$$

$$I = I_0 e^{-\sum_{i=1}^n \mu_i x_i} \quad (3.1.2)$$

O interesse de investigar a microestrutura de um objeto resultou no desenvolvimento de algoritmos matemáticos para se determinar a distribuição espacial dos coeficientes de atenuação em cada uma das seções transversais do objeto e reconstruir a imagem das seções transversais conhecendo-se um conjunto de projeções do objeto em várias direções de um feixe de raios X. O algoritmo matemático mais utilizado para a reconstrução das seções

quando o feixe de raios-X é cônico, isto é, produzido por uma fonte pontual, é o de Feldkamp e colaboradores (1984). O feixe cônico é utilizado em microtomógrafos de raios-X disponíveis comercialmente .

A figura 6 descreve os componentes de um microtomógrafo: a) fonte de Raio-X com um foco de dimensão micrométrica e um feixe cônico. Um filtro metálico de alumínio ou cobre de pequena espessura deve ser colocado na frente da fonte para reduzir o efeito denominado de “endurecimento de feixe”; b) mesa com movimento de precisão rotacional (θ) e translacional (direções X, Y e Z) onde é fixado o objeto a ser analisado; c) detector de radiação (câmera CCD).

Figura 6 - Componentes de um microtomógrafo (Alves, 1996).

3.2. Aquisição das Imagens - Preparação das amostras e posicionamento

Os primeiros passos de aquisição de imagens envolvem a preparação e posicionamento da amostra dentro do suporte de fixação. Comumente, os espécimes são alinhados com o eixo vertical do scanner, embora o alinhamento com o eixo horizontal também seja possível. O espécime deve ser firmemente fixado no suporte de amostra, para que não haja movimento relativo entre a amostra e o suporte durante a verificação.

3.3. Digitalização (Scanning)

É possível analisar os espécimes em vários meios físicos, incluindo o etanol, solução salina, e formalina tamponada neutra, bem como no ar. A digitalização do espécime no ar proporciona o maior contraste amostral. No entanto, a forma de verificação afeta significativamente a atenuação de raios-X, com as medições em ar sendo significativamente diferentes daquela em solução salina ou etanol. Esta observação conduz a duas recomendações:

(1) Sempre que as medições quantitativas de densidade mineral do tecido são feitas, digitalizar os espécimes em um meio líquido tal como água, solução salina, ou o álcool etílico.

(2) dentro de um mesmo estudo, utilizar o mesmo meio de digitalização e o mesmo volume para todas as amostras que estão a ser comparadas.

3.4. Energia de raios-X

Raio-X é uma forma de onda eletromagnética, cuja energia de cada fóton é inversamente proporcional ao seu comprimento de onda. Os fótons de raios-X com comprimentos de onda mais longos têm energias menores do que fótons de comprimentos de onda mais curtos. A energia de um fóton de raios-X, o qual é produzido por elétrons acelerados que atingem o tubo de raios-X (por exemplo, tungstênio), é expressa em unidades de eletronsvolts (eV). Sistemas de bancada de (μ CT) produzem um feixe policromático, o que significa que o tubo de raios-X produz um espectro de energias de fótons. Tipicamente, os sistemas de (μ CT) funcionam na gama de 20 a 100 keV, e a atenuação dos fótons de raios-X à medida que passam através do material podem causar uma absorção ou dispersão em função da sua energia. A interação da energia mais baixa de raios-X (menor que 50 keV) é dominada

pelo efeito fotoelétrico e depende do número atômico dos materiais. A capacidade de diferenciar o osso da medula é melhor a baixas energias, no entanto, somente para pequenos objetos a atenuação total de raios-X pode ser medida a baixas energias, porque, caso contrário o ruído se torna demasiadamente grande para permitir a análise quantitativa. A interação de maior energia de raios-X (maior que 90 keV) é dominada por espalhamento Compton, onde a atenuação é aproximadamente proporcional à densidade do material. Na gama de meio de raios-X de energia (50 a 90 keV), tanto o efeito fotoelétrico como espalhamento de Compton contribuem para a atenuação (Mary et. al, 2010).

3.5. Beam hardening – “Endurecimento do feixe”

Uma suposição fundamental na maioria dos sistemas de μ CT é que o espectro de energia incidente de raios-X seja equivalente ao espectro de energia de raios-X que sai do espécime. No entanto, uma consequência da dependência de energia de absorção é a de que o espectro de um feixe de raios-X policromático, como usado em sistemas de bancada de μ CT, altere-se à medida que atravessa uma amostra: a porção de energia mais baixa do feixe é preferencialmente freada, enquanto que a porção energia mais alta atravessa mais facilmente. Essa absorção diferencial de fótons de baixa e alta energia leva ao chamado efeito “beam hardening” (endurecimento do feixe), no qual a energia média do feixe de raios-X é aumentada devido à filtragem de fótons de energia mais baixos. Efeitos do endurecimento do feixe podem ser reduzidos através da colocação de um filtro, por exemplo, uma folha de alumínio fina.

Métodos matemáticos podem reduzir ainda mais o endurecimento do feixe, porém estes são apenas aproximações, devido que a correção depende do comprimento do percurso da composição feixe e material da amostra. Em geral, uma regra para a seleção de raios-X é a necessidade de uma maior energia para as amostras mais espessas e mais densas. Otimizar a absorção por contraste torna-se importante, e pode ser adquirida através da experimentação de diferentes energias de raios-X e métodos de redução do endurecimento do feixe (como por exemplo através de: filtros e software). No entanto, importante observar que as configurações devem ser ajustadas para coincidir com o diâmetro objeto e densidade, o que implica que as configurações ideais para um único osso podem não ser adequadas para a digitalização de ossos múltiplos simultaneamente, ou para digitalizar um objeto de maior dimensão e/ou densidade.

3.6. Intensidade

O conteúdo de informação de um voxel depende da relação sinal-ruído (SNR), e esta relação é gerenciada pelo número de fótons incidentes e pela sensibilidade do dispositivo detector de carga acoplado (CCD). A corrente do tubo é medida em micro Ampères (μA). O número total de fótons para cada projeção durante uma verificação tomográfica depende da corrente do tubo (μA) e do tempo de integração para cada projeção (milissegundos ms), bem como o número de vezes que cada projeção é repetida (medida média de quadros). Considera-se que a relação (SNR) pode ser melhorada através do aumento do tempo de integração e recalculando-se a média de quadros, entretanto há a desvantagem de um tempo maior de verificação com maior exposição da amostra à radiação. A dose de radiação é proporcional à corrente do tubo e o tempo de exposição aos raios-X e, portanto, com frequência o produto destes parâmetros é reportado em (mAs). Alternativamente, a corrente do tubo (μA), o tempo de integração (ms), e a medida média de quadros podem ser reportados de forma independente. Tanto a saturação de fótons como a falta do número de fótons pode levar a artefatos na imagem reconstruída e devem ser evitados. A falta de um número suficiente de fótons na imagem reconstruída (“photon starvation”) é mais comum e pode ocorrer, por exemplo, quando um material denso tal como um parafuso ortopédico impede que quaisquer fotografias alcancem o detector (CCD).

3.7. Calibração

Os phantoms de calibração são utilizados para estabelecer a relação de conversão entre os valores dos tons de cinza para um valor mineral equivalente, normalmente em miligramas por centímetro cúbico (mg/cm^3) de hidroxiapatita (HA), a partir de um *phantom* de estado sólido. Devido à excelente linearidade dos sistemas de bancada de (μCT), a calibração é possível com apenas dois pontos, embora alguns fabricantes utilizem até cinco pontos, cobrindo uma gama de 0 até $1000 \text{ mg}/\text{cm}^3$ de HA. As medições de densidade do tecido ou densidade aparente devem ser relatadas em miligramas por centímetro cúbico de HA, em vez de valores de tons de cinza para minimizar a dependência com o fabricante do tomógrafo (diferentes sistemas geralmente usam diferentes escalas “tons de cinza-valor”). Alguns fatores como, por exemplo, a correção do endurecimento do feixe, influenciam diretamente os resultados de medida da densidade. Assim, uma análise microtomográfica de um fio fino de tungstênio é geralmente realizada pelo fabricante para a determinação da resolução espacial

através da função de transferência de modulação (MTF), assegurando que as entradas geométricas para o algoritmo de reconstrução estejam corretas. A calibração deve ser realizada rotineiramente de acordo com as recomendações do fabricante.

3.8. Tamanho do Voxel e Resolução da Imagem

Um voxel é a unidade discreta do volume de verificação, que é resultado da reconstrução tomográfica 3D. Tipicamente, voxels de imagens de μ CT possuem todas as três dimensões iguais e, por conseguinte, são descritos como voxels isotrópicos. Idealmente, o menor tamanho de voxel (isto é, a mais alta resolução de digitalização) seria utilizado para todas as verificações. No entanto, digitalizações de alta resolução requerem tempos maiores de aquisição, devido ao fato de adquirirem muitas projeções, e consequentemente geram grandes conjuntos de dados. Portanto, a escolha do tamanho do voxel e tempo de integração devem ser cuidadosamente considerados. Teoricamente diferenças no tamanho do voxel, por exemplo, de 10 a 20 μm , têm pouco efeito sobre a avaliação de estruturas com espessuras relativamente elevadas (isto é, 100 a 200 μm), tais como o osso cortical e trabecular em seres humanos, ou em modelos animais com dimensões maiores.

Entretanto, ao analisar estruturas menores, como trabéculas de camundongos com dimensões aproximadas de 20 a 60 μm , o tamanho do voxel pode ter efeitos significativos sobre os resultados. A escaneamento com baixa resolução (tamanho do voxel grande, maior que 100 μm) em relação ao tamanho da estrutura de interesse pode causar uma estimativa errônea do volume ósseo e superestimação da espessura do objeto (figura. 7).

Figura 7 - Efeito do tamanho de voxel sobre a qualidade de imagem. Escala 2D do nível de cinza do fêmur distal de um rato adulto, digitalizada a dimensão de voxel de: (A) 6 μm , (B) 12 μm , (C) 18 μm , e (D) 36 μm . Imagens adquiridas em 70 kVp, 114 mA, e 200-ms tempo de integração (Mary et. al, 2010).

A proporção mínima de voxels, quando comparada ao tamanho do objeto é de 2, porém está associada a erros substanciais locais (embora menor quando calculados sobre toda uma estrutura). Espera-se que esta razão seja maior para medições morfológicas precisas. A

precisão local da solução de μ CT baseada em modelos de elementos finitos também é influenciada pelo tamanho do voxel, e uma discretização mínima de três a quatro elementos em toda a espessura individual da trabécula é recomendada para minimizar os erros numéricos. Finalmente, compreende-se que o tamanho do voxel não é equivalente à resolução espacial da imagem de μ CT. Em física radiológica a resolução espacial de TC geralmente é relatada da medição da função de transferência de modulação (MTF).

No entanto, nenhuma abordagem padronizada foi aceita pelos fabricantes de dispositivos de μ CT em relatar resolução espacial. A relação entre a resolução espacial e tamanho do voxel depende de vários fatores (isto é, a média de absorção da amostra, o ruído do detector, algoritmo de reconstrução, tamanho do ponto focal e forma dos Raios-X, a abertura do detector, e geometria do digitalizador) e, portanto, é mais apropriado relatar tamanho voxel diretamente. Enfim, deve-se reportar a resolução nominal isotrópica ou o tamanho do voxel isotrópico para que seja possível a observação da não similaridade entre os parâmetros (Mary et. al, 2010).

3.9. Região de Interesse

Ao configurarem-se os parâmetros para a aquisição das imagens, é crítico assegurar que uma quantidade suficiente da amostra seja digitalizada, para permitir medidas de densidade e morfologia confiáveis e reprodutíveis. A região de interesse (ROI) deve ser definida com base na localização do ponto de início da varredura ou a região de contorno de interesse e o tamanho da região a ser analisada. Distâncias devem ser relatadas em unidades do Sistema Internacional de Unidades SI (milímetros ou micro metros); o número de fatias (*slices*) pode ser determinado facilmente conhecendo o tamanho do voxel.

A Análise do osso trabecular requer um ROI adequado, e uma atenção especial deve ser dada a distância que a ROI se estende até a diáfise dos ossos longos. Para representar a arquitetura do osso trabecular com precisão, a ROI deve conter pelo menos três a cinco comprimentos entre as trabéculas. É importante que o ajuste de toda a amostra esteja dentro da região digitalizada, sendo útil para proporcionar uma figura de um osso representativo ilustrando a ROI definida, e demonstrar que represente bem o local selecionado.

Outra importante questão aplica-se a definição da ROI quando se comparam as amostras ósseas de tamanho variável. O objetivo comum é escolher uma ROI que seja anatômica e com uma análise biomecânica comparável entre os espécimes. Assim, em situações em que o comprimento do osso difere entre os grupos, uma ROI uniforme será

relativamente superior para os ossos mais curtos e inferior para os ossos mais longos. Neste exemplo, pode ser mais apropriado definir uma ROI como uma percentagem do comprimento do osso ou em referência a marcas facilmente identificadas anatomicamente, em vez de um tamanho constante.

3.10. *Processamento da Imagem*

Esta seção descreve os principais conceitos relacionados à pós-aquisição no processamento de dados de imagem, incluindo filtragem e segmentação.

3.10.1. Filtragem

Dados reconstruídos do μ CT incluem o ruído do sinal, que deve ser reduzido através da filtragem, mantendo acentuado o contraste entre o osso e medula. A remoção de ruído de imagem é bem realizada por um filtro passa-baixa, mas esta, essencialmente, borra a imagem. O aprimoramento de borda exige um filtro passa-alta, mas este pode resultar em um aumento de ruído. Assim, um filtro Gaussiano faz bem o balanceamento desses objetivos concorrentes, e não apresenta maiores dificuldades de se programar na análise, mesmo para grandes conjuntos de dados (figura 8). O filtro Gaussiano é o mais comumente usado, porém outras opções como a filtragem mediana também fornecem bons resultados. Alternativamente, os exemplos de filtro de preservação de borda incluem: o filtro de difusão anisotrópica e o filtro de Laplace-Hamming. Em geral a regra consiste em aplicar uma quantidade mínima de filtragem para evitar a degradação dos dados do (μ CT). Por exemplo, filtragem Gaussiana excessiva irá resultar em uma imagem desfocada que limita a capacidade para se extrair a microarquitetura óssea.

Figura 8 - Efeito da filtragem Gaussiana na nitidez de imagem e contraste. À medida que se aumenta a largura do filtro Gaussiano, o ruído é reduzido, e os artefatos de anel também podem ser removidos. Porém, as imagens perdem o contraste (Mary et. al, 2010).

Um filtro sempre deve ser aplicado antes da extração estrutural, e é importante que todos os parâmetros utilizados para definir o filtro sejam reportados. Para um filtro Gaussiano, os parâmetros principais são o tamanho do núcleo Gaussiano discreto (janela) e o desvio padrão. Muitas vezes, um suporte de um ou dois voxels (por exemplo, janela de $3 \times 3 \times 3$ ou $5 \times 5 \times 5$, respectivamente) e um desvio padrão entre 0.5 - 2.0 será suficiente, dependendo do ruído e do tamanho do voxel, mas para cada aplicação os requisitos poderão ser diferentes.

3.10.2. Segmentação

O processo de segmentação é um passo crítico na análise e, geralmente, envolve a separação de estruturas mineralizadas e não mineralizadas para análise quantitativa subsequente. Um erro nesta fase da análise da microtomografia implica num impacto sistêmico em todos os resultados seguintes. É essencial comparar imagens 2D a partir das imagens originais e segmentadas para algumas (se não todas) as digitalizações da microtomografia, assegurando que o osso extraído seja uma boa representação da estrutura real. Sem este passo, pode-se levar a erros na interpretação dos dados morfométricos, de modo a alterar os dados reportados de volume ósseo trabecular ou conectividade quando, na verdade, as mudanças aparentes são um artefato devido à segmentação imprecisa.

Um passo importante na segmentação das imagens diz respeito ao método de contorno empregado, para definir a área em cada fatia a ser incluída para segmentação e medidas morfológicas subsequentes. A abordagem mais fácil consiste em se criar uma área circular ou retangular constante, que englobe todos os ossos do seu interesse. No entanto, esta abordagem não permite a separação do osso cortical e trabecular, e o espaço externo incluído em torno da estrutura óssea leva ao cálculo impreciso da fração de volume do osso (BV/TV) e de outros parâmetros morfométricos. Um contorno amostral preciso é adquirido numa análise fatia por fatia ou utilizando algoritmos automatizados, para regiões específicas do osso cortical e trabecular. Existem várias abordagens para delinear a região trabecular, tais como uma ROI uniforme, um contorno irregular anatômico adjacente à superfície endocortical ou um contorno irregular anatômico com poucos pixels de distância a partir do limite endocortical (figura 9).

Figura 9 - Métodos de contorno usados para delinear a região do osso trabecular. (A) uma região regular uniforme de interesse, (B) uma região irregular anatômica adjacente de interesse desenhada utilizando um algoritmo automatizado, e (C) uma região irregular desenhada manualmente com um voxel de distância a partir da superfície. Imagens adquiridas em 70 kVp, 114 mA, 200-ms tempo de integração (Mary et. al, 2010).

O volume de osso trabecular de uma região cujo contorno seja extraído adjacente ao limite endocortical, geralmente será maior do que a de um contorno semelhante desenhado poucos pixels para o interior da superfície endocortical. Assim, uma vez que cada uma destas abordagens de contorno possa levar a resultados diferentes, é essencial utilizar o mesmo método em todas as análises. Além disso, deve-se descrever o método (manual versus automatizado) utilizado para delinear as regiões do osso trabecular e cortical. Uma vez que a região a ser analisada foi identificada (ou contornada), existem várias opções para a segmentação, todas têm o objetivo geral de extração de uma representação do tecido ósseo, fisiologicamente e anatomicamente precisa (isto é, semelhante à histologia).

A abordagem mais simples é a utilização de um limiar (*threshold*) global, que extrai todos os voxels a partir dos dados do (μ CT) superiores a um determinado valor de TC (densidade), na qual, a metodologia se torna eficiente e requer a definição de apenas um parâmetro. Na prática, o limiar é geralmente definido utilizando quer um valor fixo da TC, ou uma porcentagem do valor da TC. Para promover a comparabilidade entre os digitalizadores, a densidade equivalente em miligramas por centímetro cúbico de HA deve ser divulgada quando disponível. Na maioria dos estudos, a utilização de um único limiar global para todos os exames é possível, e ela garante que as diferenças entre grupos de estudo são devido aos efeitos experimentais ao invés de efeitos do processamento das imagens. Ainda não há consenso sobre um limiar que deva ser utilizado para os estudos, e certos cuidados devem ser tomados ao selecionar-se um *threshold* nas análises onde a mineralização óssea pode não ser constante para todos os grupos (ou seja, durante o crescimento e desenvolvimento, ou na consolidação da fratura) ou quando existem intervalos extremos de fração de volume ósseo entre os grupos, caso em que um único limiar global possa não ser adequado. Assim, em

alguns casos, torna-se necessário a utilização de ferramentas de segmentação mais sofisticadas, incluindo limiares específicos e/ou uma classe de métodos mais sofisticados de segmentação local, onde a inclusão de cada voxel é baseada a partir da sua vizinhança local. Exemplos incluem o uso do histograma local na vizinhança para dar conta das não homogeneidades na imagem devido ao "beam hardening" ou utilizando a magnitude do gradiente da imagem local (operador de Sobel) para identificar as bordas da medula óssea nas limitações das imagens in vivo. A utilização destas rotinas de segmentação requer atenção, pois com o aumento da complexidade destes processos (ajuste de várias sub-rotinas - "*task lists*", consequentemente torna-se possível que o processo de segmentação interfira na interpretação correta dos resultados experimentais (por exemplo, alterações na densidade do tecido). Não importa qual rotina segmentação seja aplicada, comparações 2D por fatias, entre a digitalização original e o segmentado devem ser realizadas para garantir a precisão da segmentação (figura 10).

Figura 10 - Efeito de diferentes *thresholds* na segmentação da imagem. (A) imagem original não segmentada, da região distal do fêmur de rato. (B) imagem segmentada mostrando uma binarização "aceitável" de estrutura óssea. (C) imagem segmentada, com um *threshold* elevado, de modo que estruturas ósseas estão ausentes e/ou diluídas em relação à imagem original. (D) Imagem segmentada, com um *threshold* baixo, em que estruturas ósseas aparecem mais espessas em relação à imagem original, não segmentada. Segmentação adequada requer inspeção visual e comparação 2D e 3D das imagens binarizadas, com as

imagens na escala de cinza original. Imagens adquiridas em 70 kVp, 114 mA, e 200-ms de tempo de integração (Mary et. al, 2010).

Em suma, o segundo passo na geração de dados confiáveis da morfometria óssea utilizando (μ CT) é o processamento da imagem que ocorre após a aquisição: a *filtragem* das imagens e a *segmentação* especificamente. No mínimo, a seção de métodos de um documento deve indicar quaisquer algoritmos utilizados para filtragem de imagem (incluindo os parâmetros principais utilizados para definir o filtro), a abordagem utilizada para a segmentação de imagens, e o método usado para delinear as regiões do osso trabecular e cortical.

3.10.3. Análise das Imagens de Microtomografia (Síntese)

A análise morfométrica por μ CT de uma amostra óssea trabecular compreende as seguintes etapas (figura 11):

Figura 11- Etapas da microtomografia computadorizada por raios-X

a) Obtenção de projeções do objeto em diferentes posições através de rotações com um incremento angular θ . Uma média de projeções é obtida a cada incremento angular. O incremento angular θ determina o número n de projeções (por exemplo, se $\theta=1^\circ$, $n=360$). A

amostra deve ser fixada firmemente à um suporte colocado sobre a mesa de modo a impedir qualquer movimento durante a aquisição das projeções. Utiliza-se uma massa de modelar para fixar o objeto no suporte. Na Figura 12, observa-se um phantom utilizado para o alinhamento do objeto e exemplos de suportes. O tamanho do pixel do detector e da magnificação das projeções irá determinar a resolução microtomográfica. As variáveis que influem nesta resolução estão ilustradas na figura 13, sendo D1 a distância da fonte ao objeto, D2 a distância da fonte ao detector de radiação, H1 a altura do objeto e H2 a altura do objeto projetado no detector de radiação. O fator de magnificação é $M = ((D1 + D2) / D1)$. Se R é a resolução microtomográfica e K é a dimensão do pixel do detector, então a resolução é $R = K / M$.

b) Reconstrução 2D das seções transversais do objeto utilizando o algoritmo de Feldkamp.

c) Escolha da região de interesse (ROI) das seções transversais para a análise morfométrica 2D e 3D.

d) Escolha do volume de interesse (VOI) para a análise morfométrica 2D e 3D.

e) Segmentação das imagens das seções transversais do objeto através do procedimento de binarização para se determinar os pixels que representam tecido ósseo. Cada pixel da seção transversal possui um valor binário de 8 bits. O seu valor binário é comparado à um valor de referência denominado de *threshold*: a) se o valor do pixel é menor que o do *threshold* o seu valor é convertido em 0 (região da seção transversal que não contém tecido ósseo); b) se o valor do pixel é igual ou maior do que o do *threshold* o seu valor é convertido em 1 (região da seção transversal que contém tecido ósseo).

e) Análise morfométrica 2D e 3D da amostra óssea.

f) Reconstrução 3D do VOI.

Figura 12- Phantom de alinhamento e suportes de objetos utilizados em microtomografia (Lasso et al., 2008).

Figura 13 – Parâmetros que influenciam a magnificação tomográfica.

3.11. *Análise Morfométrica de Osso Trabecular*

Recentemente, técnicas histológicas quantitativas padronizavam a avaliação da arquitetura óssea trabecular e cortical. Embora as análises histológicas forneçam informações exclusivas sobre celularidade e índices dinâmicos de remodelação óssea, elas têm limitações com relação à avaliação da microarquitetura óssea devido ao fato de que os parâmetros estruturais são derivados de um modelo estereológico. Na análise de algumas seções 2D, geralmente assume-se que a estrutura subjacente é de um modelo placas (*platelike*), em comparação as técnicas de aquisição de imagens de alta resolução como análise por microtomografia 3D, a microarquitetura óssea é medida diretamente, sem depender de modelos estereológicos (Mary et. al, 2010).

A análise morfométrica de uma amostra de osso trabecular é a medida de parâmetros microestruturais. Ela pode ser realizada por histomorfometria convencional (Parfitt et al., 1987) ou por microtomografia por raio-x (μ CT) utilizando-se uma fonte de radiação com feixe paralelo e monocromático (Kinney JH & Haupt DL, 1995) ou uma fonte de radiação com campo cônico e policromática (Feldkamp et al., 1989). O hardware do μ CT por campo cônico começou a ser desenvolvido na década de 90 (Kuhn et al., 1990; Ruegsegger et al., 1996).

Considerando que algumas medidas, tais como fração de volume ósseo BV/TV e a razão entre superfície-volume ósseo (BS/TV) podem ser obtidas diretamente a partir de imagens 2D, os parâmetros-chave, incluindo espessura trabecular (Tb.Th), separação trabecular (Tb.Sp) e número trabecular (Tb.N), são derivados indiretamente depois de assumir um modelo de estrutura fixa tal como uma estrutura cilíndrica (*rodlike*) ou de placas (*platelike*).

A análise morfométrica por μ CT é realizada utilizando-se a reconstrução 2D das seções transversais da amostra (análise 2D) ou a reconstrução 3D do volume da amostra (análise 3D), conforme descrito por Hildebrand e colaboradores (1999).

Os índices de base morfométricas (tabela 1) incluem a medição do volume ósseo (BV) e o volume total de interesse (TV). Estes índices podem ser derivados a partir de qualquer um método de contagem de voxel simples ou um partir de um método mais avançado, por exemplo, como "volumetric marching cubes" (VOMACs). A proporção destas duas medidas é denominada fração de volume óssea (BV/TV). Outra medida básica é a superfície óssea (BS), o que é convencionalmente calculada por triangulação da superfície do objeto, utilizando um algoritmo "marching cubes". A densidade de superfície óssea (BS/TV) e a superfície óssea específica (BS/BV), em seguida, podem ser facilmente derivadas por divisão do volume total ou o volume do osso, respectivamente. Como observado anteriormente, espessura trabecular média (Tb.Th), separação trabecular média (Tb.Sp), e o número médio trabecular (Tb.N) devem ser baseado em cálculos 3D, ou seja, um método de montagem esférico, onde para a medida da espessura, as esferas estão inseridas no objeto (trabécula) e para medida da separação, as esferas estão inseridas nos interstícios (figura 14).

Tabela 1 - Descrição dos Parâmetros 3D para microarquitetura do Osso Trabecular

Abreviação	Especificação	Descrição	Unidade
TV	Total volume	Volume total da região de interesse	mm ³
BV	Bone volume	Volume da região segmentada como osso	mm ³
BS	Bone surface	Superfície da região segmentada como osso	mm ²
BV/TV	Bone volume fraction	Razão entre a região segmentada de osso e o volume total da região de interesse	%
BS/TV	Bone surface density	Razão entre a superfície da região segmentada óssea o volume total da região de interesse	1/ mm
BS/BV	Specific bone surface	Razão da superfície da região segmentada como osso pelo seu volume segmentado	1/ mm
Conn.D	Connectivity density	Uma medida do grau de conectividade das trabéculas normalizada pelo volume da região de interesse	1/ mm ³
SMI	Structure model index	Um indicador da estrutura da trabécula; SMI igual a 0 para placas e 3 bastonetes	-
Tb.N	Trabecular number	Medida do número médio de trabéculas por unidade de comprimento	1/ mm

Tb.Th	Trabecular thickness	Medida principal da espessura das trabéculas no método 3D	mm
Tb.Sp	Trabecular separation	Distância principal entre as trabéculas no método 3D	mm
DA	Degree of anisotropy	Grau de anisotropia	-
MIL	Mean intercept length	Medida da anisotropia estrutural	-

Nota: Variáveis em negrito representam o conjunto mínimo de variáveis que devem ser relatadas ao descrever a morfologia óssea trabecular.

Figura 14 - Representação esquemática do algoritmo 3D usado para o cálculo da espessura trabecular (A) e de separação trabecular (B). Medida 3D da espessura trabecular média é adquirida por esferas no interior da estrutura. Medida 3D da separação trabecular média é adquirida por esferas no interior dos interstícios (espaço medular). O diâmetro médio das esferas representa a espessura trabecular, e o desvio padrão do diâmetro representa a variabilidade na espessura (Silva et al, 2014).

A abordagem básica é determinar o diâmetro da maior esfera possível que pode ser montada através de cada voxel contido dentro do objeto (ou interstício) e, em seguida, calcular a média destes diâmetros. Esta abordagem produz uma espessura razoável média da estrutura ou do interstício, onde o último reflete a separação média trabecular. O número médio trabecular é calculado como o inverso da distância média entre os meados da década de eixos de estrutura, que são derivados através do método da distância-transformação. Uma vantagem desta abordagem para morfometria trabecular computacional é que não só os valores médios, mas também a variação de tais medidas são calculados e expressos pelo desvio padrão.

Vários estudos mostram que o grau de anisotropia (isto é, uma descrição de como os elementos estruturais são orientados), juntamente com a fração de volume do osso, podem explicar uma parte significativa das propriedades mecânicas de uma estrutura 3D. Assim, vários métodos para estimar a anisotropia do osso trabecular foram propostos, incluindo os

baseados em comprimento médio de interceptação (MIL), orientação do volume (VO) e distribuição de volume estelar (SVD).

Um índice chamado de conectividade (Conn) foi desenvolvido para caracterizar o número de conexões trabeculares. Conectividade é derivada a partir do número de Euler, que é uma medida topológica fundamental contando o número de objetos, o número de cavidades de medula totalmente rodeados por osso, bem como o número de ligações que devem ser quebradas para dividir a estrutura em duas partes. Como a conectividade depende do tamanho da estrutura, é mais apropriado para apresentar este índice, uma densidade [densidade de conectividade (Conn.D)], dividindo-o pelo volume total. Para estimar o modelo de placas versus cilíndrico como característica da estrutura de osso trabecular, um índice chamado índice modelo de estrutura (SMI) foi desenvolvido (Parffit, 1983).

3.12. Análise Morfométrica 2D

Nesta análise os parâmetros morfométricos são calculados utilizando-se técnicas de estereologia e assumindo-se que a amostra óssea tem uma microestrutura constante composta de placas ou bastonetes (Feldkamp et al., 1989). As equações de cálculo foram inicialmente desenvolvidas para a histomorfometria convencional e continuam sendo utilizadas na análise 2D por μ CT.

Os seguintes parâmetros são medidos apenas na análise 2D: área média de tecido ósseo nas seções transversais da amostra (B.Ar) e área média das seções transversais da amostra (T.Ar). A seguir são definidos os demais parâmetros morfométricos medidos na análise 2D com as respectivas equações de cálculo. Observa-se que o cálculo desses parâmetros, com exceção da porosidade, depende dos índices primários definidos anteriormente (Feldkamp et al., 1989, CT-Analyser, 2008, Silva et. al. 2014):

3.12.1. Espessura Trabecular (Tb.Th)

É a espessura média das trabéculas. A unidade de medida é o mm. As equações (3.12.1.1) e (3.12.1.2) são utilizadas no cálculo considerando-se o modelo de placa ou cilíndrico, respectivamente, para representar a trabécula:

$$Tb.Th = \frac{2}{(BS / BV)} \quad (3.12.1.1)$$

$$Tb.Dm = \frac{4}{(BS / BV)} \quad (3.12.1.2)$$

3.12.2. Número trabecular (Tb.N)

É o número de trabéculas por unidade de comprimento. A unidade de medida é o mm⁻¹. As equações (3.12.2.1) e (3.12.2.2) são utilizadas no cálculo considerando-se o modelo de placas ou cilíndrico, respectivamente, para representar a trabécula:

$$Tb.N = \frac{BV / TV}{Tb.Th} \quad (3.12.2.1)$$

$$Tb.N = \frac{\sqrt{\left(\frac{4}{\pi}\right) \times \left(\frac{BV}{TV}\right)}}{Tb.Dm} \quad (3.12.2.2)$$

3.12.3. Separação Trabecular (Tb.Sp)

É o diâmetro médio das cavidades que contêm a medula óssea. A unidade de medida é o mm. As equações (3.12.3.1) e (3.12.3.2) são utilizadas no cálculo considerando-se o modelo de placa e cilíndrico, respectivamente, para representar a trabécula:

$$Tb.Sp = \frac{1}{Tb.N} - Tb.Th \quad (3.12.3.1)$$

$$Tb.Sp = Tb.Dm \times \left(\sqrt{\left[\left(\frac{4}{\pi}\right) \times \left(\frac{BV}{TV}\right)\right]} - 1 \right) \quad (3.12.3.2)$$

3.12.4. Porosidade

Nas seções transversais são identificados espaços completamente fechados. A porosidade é a área destes espaços expressa como percentual da área total da seção transversal.

3.13. Análise Morfométrica 3D

A análise 3D não se baseia em um modelo estrutural de placas ou bastonetes e a medida de todos os parâmetros, incluindo os índices primários, é realizada diretamente no volume reconstruído da amostra óssea. Os parâmetros medidos na análise 3D são denotados por um asterisco. O índice primário BS* é calculado usando o método de “Marching Cubes”

que triangulariza a superfície óssea da amostra (Lorensen et al., 1987, Muller et al., 1994). O índice BV^* é calculado usando tetraedros construídos na superfície triangularizada (Guilak, 1994). O índice TV^* é determinado através de uma contagem de voxels. Para comparar amostras com tamanhos diferentes são utilizados os índices normalizados BV^*/TV^* , BS^*/TV^* e BS^*/BV^* . O parâmetro $Tb.Th^*$, conforme figura 15, é calculado utilizando-se esferas cujo diâmetro deve preencher a estrutura da trabécula (Hildebrand et al., 1999). No cálculo do parâmetro $Tb.Sp^*$ utiliza-se o mesmo princípio da determinação de $Tb.Th^*$ nos voxels que contém a medula óssea. O parâmetro $Tb.N^*$, conforme figura 16, é o inverso da distância entre os eixos médios das trabéculas ósseas.

Figura 15 – Desenho esquemático do princípio da determinação de $Tb.Th^*$ pela análise 3D (CT- Analyser, 2008).

Figura 16 – Desenho esquemático do princípio da determinação de $Tb.N^*$ pela análise 3D (CT- Analyser, 2008).

3.14. Anisotropia

Whitehouse (1974) descreveu a medida da anisotropia microestrutural utilizando uma técnica de contagem de interseção. Ele expressou a anisotropia através da medida do comprimento da interseção média (mean intercept length, MIL). O princípio da MIL é a

contagem em uma seção plana de osso trabecular do número de interseções entre uma grade de linhas paralelas e a interface trabécula/medula óssea (figura 17). O MIL é o comprimento médio entre duas interseções sendo calculado pela razão entre o número de interseções em uma dada direção da grade, $I(\theta)$, e o comprimento L total da grade. Ao construir diagramas polares com os pontos $(I(\theta)/L, \theta)$, Whitehouse constatou que estes pontos podem ser interpolados de forma precisa e representados por uma elipse (figura 18).

Figura 17 – Medição do MIL em duas dimensões (Odgaard, 1997a).

Figura 18 – Representação do MIL em duas dimensões por uma elipse (Cowin et al., 2006).

A generalização do conceito da anisotropia estrutural para três dimensões gera um elipsóide, como ilustrado na (figura 19). A equação geral de um elipsoide em um sistema de coordenadas cartesiano com eixos x , y e z é dada pela equação (3.14.1):

$$Ax^2 + By^2 + Cz^2 + 2Dxy + 2Exz + 2Fyz = 1 \quad (3.14.1)$$

Seja $L(\theta)$ o MIL calculado na direção θ em um plano α com direção qualquer. O plano α intercepta uma amostra óssea gerando uma seção. Sejam n_1 , n_2 e n_3 as projeções no sistema de coordenadas x , y e z de um vetor unitário $\mathbf{n}$ com direção θ pertencente ao plano α . Seja um vetor com magnitude $L(\theta)$ na direção do vetor unitário $\mathbf{n}$ do plano α . As coordenadas do vetor com magnitude $L(\theta)$ nos eixos x , y e z são dadas por: $x = L(\theta) n_1$, $y = L(\theta) n_2$ e $z = L(\theta) n_3$. A equação (3.14.3) pode ser reescrita como segue:

$$An_1^2 + Bn_2^2 + Cn_3^2 + 2Dn_1n_2 + 2En_1n_3 + 2Fn_2n_3 = \frac{1}{L^2(\theta)} \quad (3.14.2)$$

Figura 19 - Representação do MIL em três dimensões por um elipsóide (Goldstein et al., 1993).

A equação (3.14.2) pode ser reescrita como:

$$\begin{bmatrix} n_1 & n_2 & n_3 \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} A & D & E \\ D & B & F \\ E & F & C \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} n_1 \\ n_2 \\ n_3 \end{bmatrix} = \frac{1}{L^2(\theta)} \quad (3.14.3)$$

onde $\mathbf{M}$ é um tensor de segunda ordem, positivo definido, expresso pela matriz 3x3 da equação 11, e $\mathbf{n}$ é um versor que define a direção sobre a qual se infere o valor de $L(\theta)$. O tensor $\mathbf{M}$, tensor de anisotropia, caracteriza o arranjo geométrico da microestrutura do meio poroso. Os autovetores de $\mathbf{M}$ fornecem as direções principais do elipsóide, as quais são as orientações preferenciais das trabéculas.

Harrigan (1984) propôs uma técnica experimental de medida de $L(\theta)$ em uma direção arbitrária e do MIL em três dimensões. A técnica consiste em obter elipses sobre três planos mutuamente ortogonais da amostra, as quais são as projeções ortogonais de um elipsóide sobre estes planos. Observa-se na figura 20 que os eixos principais das elipses determinam as orientações das trabéculas.

Figura 20 – Elipses obtidas sobre planos mutuamente ortogonais em três amostras de osso trabecular: a) fêmur distal; b) rádio distal; c) crista do íliaco (Feldkamp et al, 1989).

O grau de anisotropia (*Degree of Anisotropy* - DA) pode ser definido conforme a equação (3.14.4), ou define-se simplesmente por uma razão simples entre os autovalores da matriz do tensor $\mathbf{M}$. Os valores para o grau de anisotropia podem variar de 0 (indicando que a estrutura é completamente isotrópica) à 1 (indicando que a estrutura é completamente anisotrópica) como expressado na equação. No caso em que a razão entre os autovalores é utilizada, quanto maior o valor da razão, maior o grau de anisotropia. As direções principais do elipsoide, que são as orientações preferenciais das trabéculas, dependem da quantidade de autovalores distintos obtidos na análise. Se todos os autovalores de $\mathbf{M}$ forem distintos, o MIL é representado por um elipsoide com os três eixos principais com tamanhos diferentes e o material poroso apresenta uma simetria ortotrópica. Se dois destes autovalores forem iguais entre si, o MIL é representado por um elipsóide com dois eixos principais com tamanhos iguais e o material poroso apresenta uma simetria transversalmente isotrópica. Se todos os autovalores de $\mathbf{M}$ forem iguais entre si, o MIL é representado por uma esfera e o material poroso apresenta uma simetria isotrópica (Cowin, 1985; Cowin, 1989).

$$DA = \left(1 - \left[\frac{\text{autovalor mínimo}}{\text{autovalor máximo}} \right] \right) \quad (3.14.4)$$

3.15. Índice de Modelo Estrutural (SMI)

O SMI (*structure model index*) indica a predominância de bastonetes ou placas no osso trabecular. Este parâmetro pode ser utilizado para caracterizar a transição de placas para bastonetes observada na microestrutura trabecular devido à osteoporose. Uma estrutura

apenas com placas ou bastonetes terá valores de SMI 0 e 3, respectivamente, e 4 para esferas perfeitas. O cálculo do SMI é expresso pela equação (3.15.1) e é baseado em um processo de dilatação da amostra óssea, sendo S a área superficial do objeto antes da dilatação, S' a diferença na área causada pela dilatação e V é o volume inicial sem dilatação.

$$SMI = 6 \times \frac{S' \times V}{S^2} \quad (3.15.1)$$

O cálculo de SMI é influenciado pela fração volumétrica da amostra óssea (BV/TV) podendo apresentar valor negativo quando a fração atingir valores muito altos ou muito pequenos (Silva, 2009).

O parâmetro microestrutural SMI é medido na análise 3D para a ROI e VOI selecionada.

3.16. Conectividade

A conectividade é definida como uma medida do grau que uma estrutura está multiplamente conectada, isto é, o número máximo de conexões que podem ser rompidas antes que a estrutura seja separada em duas partes. Uma medida de conectividade, denominada fator padrão de osso trabecular (Tb.Pf), foi proposta por Hahn e colaboradores em 1992. Em uma análise 2D, conforme equação (3.16.1), o índice Tb.Pf compara a área (A) e o perímetro (P) da seção transversal de um sólido binarizado antes e depois (subscrito 1 e 2, respectivamente) de um processo de dilatação. Na análise 3D as variáveis da área e do perímetro são substituídas por superfície e volume, conforme equação (3.16.2).

$$Tb.Pf = \left(\frac{P_1 - P_2}{A_1 - A_2} \right) \quad (3.16.1)$$

$$Tb.Pf = \left(\frac{S_1 - S_2}{V_1 - V_2} \right) \quad (3.16.2)$$

O cálculo do Tb.Pf é influenciado pela fração volumétrica da amostra óssea (BV/TV). O Tb.Pf informa sobre o grau de conectividade superficial das trabéculas, pois quando o conjunto de trabéculas apresenta alta conectividade, as superfícies côncavas são mais abundantes que as convexas e a operação de dilatação aumenta enormemente o perímetro, enquanto a área é apenas moderadamente ampliada. A prevalência de cavidades fechadas (*enclosed cavities*) e superfícies côncavas podem levar os valores do fator padrão de osso

trabecular para termos negativos, bem como os valores do Índice de modelo estrutural (SMI), (Silva, 2009).

Capítulo 4 Propriedades Mecânicas, Teoria da Elasticidade e Noções sobre o Método de Elementos Finitos.

Neste Capítulo 4 são apresentadas as noções gerais sobre a Teoria da Elasticidade e da técnica de Elementos Finitos. Utilizando a teoria da Mecânica do Contínuo serão apresentados nesta seção, os conceitos de cinemática, força e relações constitutivas, os quais para maiores detalhes podem ser encontrados em Gurtin (1981).

4.1. Cinemática

Nesta subseção serão apresentados os conceitos preliminares da cinemática dentre eles deformação, deslocamento e medidas de deformação.

4.1.1. Deformação e Deslocamento

Seja β uma região regular compacta em $\mathbb{R}^3$, denominada *corpo*, e seja $\mathbf{X}$ um *ponto material* pertencente a β . As coordenadas do ponto $\mathbf{X}$, $(X_i, i = 1, 2, 3)$ são denominadas coordenadas referenciais ou coordenadas materiais em relação a um dado sistema de coordenadas cartesianas. Uma deformação em β é um mapeamento suave $\chi: \beta \rightarrow \mathbb{R}^3$, com $\det \nabla \chi > 0$, onde $\nabla(\bullet) = \partial(\bullet) / \partial \mathbf{X}$. O ponto $x = \chi(\mathbf{X})$, denominado *ponto espacial*, é o lugar ocupado pelo ponto material $\mathbf{X}$ na deformação χ , $\chi(\beta) = \beta_d$ é denominada *corpo deformado* e $\mathbf{u}(\mathbf{X})$ é o vetor deslocamento dado por (4.1.1.1), conforme a figura 21.

$$\mathbf{u}(\mathbf{X}) = \chi(\mathbf{X}) - \mathbf{X} \quad (4.1.1.1)$$

Figura 21 – As configurações de referência e deformada de um corpo β .

Define-se um movimento rotacional de um corpo rígido

$$\mathbf{x} = \mathbf{Q}\mathbf{X}, \mathbf{Q}\mathbf{Q}^T = \mathbf{I} \text{ para todo } \mathbf{x} \in \beta_d \quad (4.1.1.2)$$

onde $\mathbf{Q}$ é um tensor transformação (rotação) ortogonal.

4.1.2. Medidas de Deformação

Há muitas maneiras de se medir a deformação do corpo β . A medida mais natural é dada pelo gradiente de deformação equação (4.1.2.1),

$$\mathbf{F} = \nabla \chi \quad (4.1.2.1)$$

Pelo Teorema da decomposição Polar Gurtin (1981) o gradiente de deformação pode ser representado por (4.1.2.2),

$$\mathbf{F} = \mathbf{R}\mathbf{U} = \mathbf{V}\mathbf{R} \quad (4.1.2.2)$$

onde $\mathbf{R}$ é um tensor rotação, ou seja, um tensor ortogonal com $\det \mathbf{R} = 1$, que descreve rotações de corpos rígidos, $\mathbf{U}$ e $\mathbf{V}$ são tensores simétricos estritamente positivos, que descrevem o estiramento do material. O tensor $\mathbf{U}$ é designado tensor estiramento (“*stretch*”) relativo à direita e $\mathbf{V}$ é o tensor estiramento (“*stretch*”) relativo à esquerda. No caso em que a deformação é uma rotação de corpo rígido então, $\mathbf{U} = \mathbf{V} = \mathbf{I}$.

O gradiente de deformação $\mathbf{F}$ é pouco utilizado devido ao fato de não ser um tensor simétrico e nem invariante por rotações, isto é, o tensor muda quando o corpo gira sem se estirar.

Em aplicações é conveniente utilizar os tensores de Cauchy-Green dados por

$$\mathbf{C} = \mathbf{F}^T \mathbf{F}, \mathbf{B} = \mathbf{F} \mathbf{F}^T \quad (4.1.2.3)$$

onde $\mathbf{C}$ e $\mathbf{B}$ são designados tensor de deformação de **Cauchy-Green** à direita (medida lagrangiana de deformação) e tensor de deformação de **Cauchy-Green** à esquerda (medidas Eulerianas de deformação), respectivamente. Utilizando as equações (4.1.2.2) e a equação (4.1.2.3), obtêm a equação

$$\mathbf{C} = \mathbf{U}^2, \mathbf{B} = \mathbf{V}^2 \quad (4.1.2.4)$$

No caso em que a deformação é uma rotação pura, ou seja, $\mathbf{U} = \mathbf{V} = \mathbf{I}$, verifica-se da equação (4.1.2.4) que $\mathbf{C} = \mathbf{B} = \mathbf{I}$.

Na Teoria da Elasticidade, utiliza-se o *tensor de deformação de Green-Saint-Venant*, que se anula quando não há estiramentos. Este tensor $\mathbf{E}$ é definido por (4.1.2.5):

$$\mathbf{E} = \frac{1}{2}(\mathbf{C} - \mathbf{I}) \quad (4.1.2.5)$$

O tensor $\mathbf{E}$ pode ser relacionado com o gradiente de deslocamento utilizando-se das equações (4.1.1.1) e (4.1.2.5) por

$$\mathbf{E} = \frac{1}{2}(\nabla \mathbf{u} + \nabla \mathbf{u}^T) - \frac{1}{2} \nabla \mathbf{u}^T \nabla \mathbf{u} \quad (4.1.2.6)$$

4.1.3. Deformações Infinitesimais

Supõe-se que os deslocamentos sofridos pelo corpo β sejam pequenos de modo que o deslocamento $\mathbf{u}$ seja da ordem de ε , onde $\varepsilon \ll 1$. Utilizando (4.1.2.6) define-se o *tensor de deformação infinitesimal*

$$\mathbf{E} = \frac{1}{2}(\nabla \mathbf{u} + \nabla \mathbf{u}^T) \quad (4.1.2.7)$$

desprezando-se os termos de ordem superior ε^2 .

Este tensor é utilizado na Teoria de Elasticidade infinitesimal, no entanto, este tensor é inadequado para problemas com grandes deslocamentos. Uma vez que os deslocamentos são infinitesimais, há pouca diferença entre os tensores de deformação de Cauchy-Green (à direita e à esquerda), de Green-Saint-Venant e o tensor de deformação infinitesimal.

4.2. Tensor Tensão

A tensão pode ser interpretada como a densidade de forças por unidade de área; levando em consideração tanto a orientação da força quanto a orientação da superfície, expressa pelo vetor normal e unitário $\mathbf{n}$, sobre a qual a força atua. A definição formal de tensão é expressa a seguir.

Seja $\mathbf{f}$ o vetor força aplicado num ponto $\mathbf{x}$ pertencente à área $\Delta S \subset \Omega_d$, onde Ω_d é superfície do corpo deformado β_d , e $\mathbf{n}$ o vetor normal a ΔS . Define-se o vetor tensão $\mathbf{t}$ por

$$\mathbf{t}(\mathbf{x}, \mathbf{n}) = \lim_{\Delta S \rightarrow 0} \frac{\mathbf{f}}{\Delta S} \quad (4.2.1)$$

Supondo que as leis de balanço de momento linear e de momentum linear são satisfeitas e considerando a equação (4.2.1), pelo Teorema de Cauchy, existe um campo tensorial suave e simétrico $\mathbf{T}(\mathbf{x})$, denominado *tensor tensão de Cauchy*, tal que:

$$\mathbf{t}(\mathbf{x}, \mathbf{n}) = \mathbf{T}\mathbf{n} \quad (4.2.2)$$

para todo vetor unitário $\mathbf{n}$ e para qualquer $\mathbf{x}$ pertencente a β_d . Para o caso estático verifica-se que a equação (4.2.2) satisfaz a equação:

$$\text{div}\mathbf{T}(\mathbf{x}) + \mathbf{b}(\mathbf{x}) = 0 \quad (4.2.3)$$

onde $\mathbf{b}(\mathbf{x})$ é a força de corpo e $\text{div}(\bullet) = \text{tr}(\bullet)$. Os detalhes destes resultados podem ser encontrados em Gurtin (1981).

4.3. Relações Constitutivas

O desenvolvimento apresentado anteriormente é válido para qualquer tipo de material contínuo. Para a descrição das propriedades mecânicas de um material em específico é necessário acrescentar equações denominadas relações constitutivas (Fonseca, 2002). Estas relações fornecem o alicerce para a compreensão do comportamento mecânico de materiais e a Teoria de Elasticidade.

A relação constitutiva de materiais no regime elástico linear para pequenas deformações é dada através da equação (4.3.1)

$$\mathbf{T} = \mathbf{C}\mathbf{E} \quad (4.3.1)$$

Onde $\mathbf{T}$ é o tensor de Cauchy, $\mathbf{E}$ é o tensor de deformação infinitesimal e $\mathbf{C}$ é um tensor de elasticidade, de quarta ordem que satisfaz as seguintes condições de simetria:

$$C_{ijkl} = C_{jikl} = C_{ijlk} = C_{klij} \quad (4.3.2)$$

A equação (4.3.1) pode ser dada na forma indicial por:

$$T_{ij} = C_{ijkl} E_{kl} \quad (4.3.3)$$

Onde C_{ijkl} é um tensor de quarta ordem e simétrico (simetria maior e menor), desta forma dos 81 termos de $\mathbf{C}$, apenas 21 são independentes. Muitas vezes se expressa a relação constitutiva de forma compacta, utilizando somente os índices não repetidos na seguinte convenção:

$$\begin{pmatrix} T_{11} \\ T_{22} \\ T_{33} \\ T_{13} \\ T_{23} \\ T_{12} \end{pmatrix} = \begin{bmatrix} C_{1111} & C_{1122} & C_{1133} & C_{1113} & C_{1123} & C_{1112} \\ & C_{2222} & C_{2233} & C_{2213} & C_{2223} & C_{2212} \\ & & C_{3333} & C_{3313} & C_{3323} & C_{3312} \\ & & & C_{1313} & C_{1323} & C_{1312} \\ & \text{simet.} & & & C_{2323} & C_{2312} \\ & & & & & C_{1212} \end{bmatrix} \begin{pmatrix} E_{11} \\ E_{22} \\ E_{33} \\ 2E_{13} \\ 2E_{23} \\ 2E_{12} \end{pmatrix} \quad (4.3.4)$$

4.3.1. Relação entre Propriedades Mecânicas e Microestruturais do Tecido Ósseo

Do ponto de vista da mecânica segundo Cowin (1985), o osso trabecular pode ser modelado como um sólido elástico-linear e anisotrópico, cuja relação tensão-deformação é dada pela Lei de Hooke Generalizada equação (4.2.4 e 4.2.6). Relativamente a um sistema de coordenadas cartesianas retangulares (x_1, x_2, x_3) , onde T_{ij} e E_{kl} são as componentes dos tensores tensão $\mathbf{T}$ e deformação infinitesimal $\mathbf{E}$, respectivamente, e C_{ijkl} são as constantes elásticas do tensor de elasticidade $\mathbf{C}$. Assumindo que a matriz do meio elástico poroso é isotrópica e que a anisotropia deste meio é devida somente ao arranjo geométrico da microestrutura, Cowin (1985) propõe que a tensão seja uma função isotrópica da fração volumétrica do tecido ósseo trabecular ν , do tensor deformação infinitesimal $\mathbf{E}$ e do tensor $\mathbf{H} = \mathbf{M}^{-1/2}$, denominado tensor textura, ou seja:

$$\mathbf{T} = \mathbf{F}(\nu, \mathbf{E}, \mathbf{H}) \quad (4.3.1.1)$$

Por se tratar de uma função isotrópica, Cowin utiliza argumentos clássicos da Mecânica do Contínuo para escrever $\mathbf{T}$ na forma:

$$\mathbf{QTQ}^T = \mathbf{F}(\nu, \mathbf{QEQ}^T, \mathbf{QHQ}^T) \quad (4.3.1.2)$$

Desenvolvendo a equação (4.3.1.2), Cowin obtém uma forma geral da relação entre o tensor de elasticidade $\mathbf{C}$ e o tensor $\mathbf{H}$ e observa que esta forma não é capaz de representar todos os tipos possíveis de simetria do material poroso, restringindo à ortotropia e seus casos particulares, a isotropia e a isotropia transversa. Neste caso, os autovetores de $\mathbf{H}$ determinam as direções dos eixos de simetria do material poroso, sendo paralelos, ou, perpendiculares a estes eixos. Se todos os autovalores de $\mathbf{H}$ forem distintos entre si, $\mathbf{H}$ define um elipsoide para a determinação de MIL , o qual representa o arranjo geométrico de um material poroso ortotrópico. Se dois destes autovalores forem iguais entre si, as projeções ortogonais do elipsoide sobre o plano definido pelas duas direções principais correspondentes são circunferências e $\mathbf{H}$ representa o arranjo geométrico de um material poroso transversalmente ortotrópico. Se todos os autovalores de $\mathbf{H}$ forem iguais entre si, $\mathbf{H}$ define uma esfera, a qual representa o arranjo geométrico de um material poroso isotrópico.

Se os eixos do sistema de coordenados forem paralelos, ou, perpendiculares aos eixos de simetria do material poroso ortotrópico, a Lei de Hooke Generalizada pode ser expressa por:

$$\begin{bmatrix} T_{11} \\ T_{22} \\ T_{33} \\ T_{23} \\ T_{13} \\ T_{12} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} c_{11} & c_{12} & c_{13} & 0 & 0 & 0 \\ c_{12} & c_{22} & c_{23} & 0 & 0 & 0 \\ c_{13} & c_{23} & c_{33} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & c_{44} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & c_{55} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & c_{66} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} E_{11} \\ E_{22} \\ E_{33} \\ 2E_{23} \\ 2E_{13} \\ 2E_{12} \end{bmatrix} \quad (4.3.1.3)$$

Onde T_{ij} e E_{ij} são as componentes dos tensores tensão $\mathbf{T}$ e deformação infinitesimal $\mathbf{E}$, respectivamente.

A matriz dos coeficientes C_{ijkl} (*matriz de elasticidade*) é invertível, o que possibilita inverter a expressão (4.3.1.3) e obter as relações deformação-tensão, dadas por:

$$\begin{bmatrix} E_{11} \\ E_{22} \\ E_{33} \\ 2E_{23} \\ 2E_{13} \\ 2E_{12} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{1}{E_1} & \frac{-\nu_{21}}{E_2} & \frac{-\nu_{31}}{E_3} & 0 & 0 & 0 \\ \frac{-\nu_{12}}{E_1} & \frac{1}{E_2} & \frac{-\nu_{32}}{E_3} & 0 & 0 & 0 \\ \frac{-\nu_{13}}{E_1} & \frac{-\nu_{23}}{E_2} & \frac{1}{E_3} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \frac{1}{G_{23}} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \frac{1}{G_{31}} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \frac{1}{G_{12}} \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} T_{11} \\ T_{22} \\ T_{33} \\ T_{23} \\ T_{13} \\ T_{12} \end{bmatrix} \quad (4.3.1.4)$$

No qual E_1 , E_2 e E_3 são os módulos de Young, G_{12} , G_{13} e G_{23} são os módulos de elasticidade ao cisalhamento e ν_{12} , ν_{13} e ν_{23} são os coeficientes de Poisson. A matriz 6x6 da equação (4.3.1.4) é denominada *matriz de rigidez*. As constantes elásticas estão relacionadas com as constantes C_{ijkl} através das seguintes equações:

$$\begin{aligned} c_{11} &= \frac{1-\nu_{23}\nu_{32}}{E_1 E_3 \Delta}, \quad c_{22} = \frac{1-\nu_{13}\nu_{31}}{E_2 E_3 \Delta}, \quad c_{33} = \frac{1-\nu_{12}\nu_{21}}{E_1 E_2 \Delta} \\ c_{44} &= G_{23} \quad c_{55} = G_{31} \quad c_{66} = G_{12} \\ \Delta &= \frac{1-\nu_{12}\nu_{21}-\nu_{23}\nu_{32}-\nu_{31}\nu_{13}-2\nu_{21}\nu_{32}\nu_{13}}{E_1 E_2 E_3} \end{aligned} \quad (4.3.1.5)$$

Observa-se das expressões (4.3.1.3) a (4.3.1.5) que o material ortotrópico possui nove constantes elásticas independentes. Quando $c_{22} = c_{33}$, $c_{12} = c_{13}$, $c_{55} = c_{66}$ e $c_{22} = c_{23} + 2c_{44}$, então o material é transversalmente isotrópico e possui cinco constantes elásticas independentes. Quando $c_{11} = c_{22} = c_{33} = \lambda + \mu$, $c_{12} = c_{13} = c_{23} = \lambda$, $c_{44} = c_{55} = c_{66} = \mu$, onde λ e μ são as constantes de Lamé da Elasticidade Linear Clássica, então o material é isotrópico e possui duas constantes elásticas independentes.

Outros tipos de simetria material são possíveis e, juntamente com as anteriores foram descritas por Cowin e Mehrabadi (1987, 1989) desenvolveram um algoritmo para a identificação da simetria e das direções de simetria de materiais elásticos anisotrópicos a partir da medida das suas constantes elásticas. A relevância desse algoritmo foi divulgada em publicação conjunta de líderes científicos europeus e norte-americanos da área de caracterização de osso trabecular (Yang et.al, 1999).

Técnicas de medida das 21 constantes elásticas de osso são descritas na literatura: a) ensaios mecânicos (Hayes, 1969); b) medidas ultra-sônicas (Buskirk et. al, 1981; Ash et. al, 1987); c) medida por elementos finitos a partir da reconstrução 3D das amostras (Odgaard et. al, 1997b; Rietbergen et. al, 1998). Os ensaios mecânicos e medidas ultra-sônicas são de difícil implementação experimental, por isso análise não invasiva, pelo método de elementos finitos torna-se uma ferramenta interessante.

4.4. Método de Elementos Finitos

Nesta seção serão apresentados os conceitos básicos da técnica de elementos finitos como: classificação dos elementos estruturais, formulações e soluções dos problemas estruturais, bem como a origem e história do método numérico. Maiores detalhamentos a respeito do método podem ser encontrados em Savassi (2000) e Soriano (2003).

4.4.1. Origem do Método

O método de elementos finitos surgiu em 1955 como evolução da análise matricial de modelos reticulados (análise estabelecida em 1930 na indústria aeronáutica britânica) devido à necessidade de projetar estruturas de modelos contínuos. Sua formulação inicial foi principalmente trabalhada por Argyris e Kesley em 1955 (novamente publicada em 1960) e por Turner, Clough, Martin e Topp (1956). Sendo assim, o computador digital e a engenharia aeronáutica foram os responsáveis pela origem do método de elementos finitos (Soriano, 2003).

A abordagem inicial foi física e intuitiva, buscando a substituição do meio contínuo em análise por um conjunto de elementos de dimensões finitas, interligados pelos pontos nodais. A formulação do elemento estabeleceu-se através do princípio dos deslocamentos virtuais e não se tinha conhecimento de critérios para o desenvolvimento de elemento com garantia de convergência para a solução exata, desenvolvimento este chamado de *formulação direta*.

Em 1965 apresentou-se a formulação do método a partir de outras ferramentas (funcionais) da mecânica dos sólidos deformáveis, e verificou-se que as bases do método de elementos finitos já haviam sido estabelecidas por Lord Rayleigh em 1870, Walter Ritz em 1909 e Richard Courant 1943. Mostrou-se que o método de elementos finitos é um caso particular do método de Rayleigh-Ritz, estabeleceram-se critérios de convergência e estabeleceu-se que o método poderia ser empregado em qualquer problema de meio contínuo regido por um *funcional* (formulação variacional; funcional é todo operador matemático que mapeia uma determinada classe de funções no espaço dos números reais; no cálculo variacional o funcional é escrito sob a forma da equação integral 4.4.1.1).

$$J(u_i) = \int_V F \left(u_i, \frac{\partial u_i}{\partial x_j}, \dots, x_j \right) dV \quad (4.4.1.1)$$

Onde F é uma função de variáveis dependentes, variáveis de estado ou incógnitas (u_i), de suas derivadas em relação às variáveis independentes (x_j), até uma dada ordem para cada (u_i).

4.4.2. Classificação dos Elementos Estruturais

Em análise do comportamento de sistemas físicos utilizam-se, geralmente em escala reduzida de laboratórios, modelos físicos e/ou matemáticos. Atualmente com o significativo avanço das pesquisas houve um grande desenvolvimento dos modelos físicos e matemáticos propiciando modelagens aproximadas, confiáveis e precisas nas aplicações de engenharia (Soriano 2003).

A análise dos modelos matemáticos habitualmente requer o uso de métodos numéricos, nos quais se pode destacar o modelo de elementos finitos (modelo desenvolvido para análise de meios contínuos).

Podem-se classificar os elementos estruturais em:

- a) Elementos estruturais lineares (barras ou reticulares);
- b) Elementos estruturais de superfície (laminares ou folhas);
- c) Elementos estruturais tridimensionais (blocos).

Esta classificação por dimensão realça que para o grupo dos lineares duas dimensões são pequenas em relação à terceira, e incluem-se na categoria os pilares, tirantes, as vigas, os pórticos e arcos. Por sua vez os laminares possuem uma dimensão pequena em relação às outras duas, e são elementos estruturais importantes (chapas, placas e cascas), permitindo obtenção de maior rigidez em relação aos laminares se fossem utilizados para composição de

soluções equivalentes (Savassi, 2000). Nos elementos tridimensionais as três dimensões (coordenadas) são essenciais na descrição do comportamento do material como meio contínuo.

4.4.3. Formulações e Soluções dos problemas estruturais

De uma maneira geral torna-se necessário inferir certas hipóteses simplificadoras, que tornem tratáveis (com resolução mais simples) as estruturas ou elementos estruturais que se pretende calcular, modelar. Estas simplificações visam permitir a descrição de um modelo idealizado da estrutura, no qual é possível estabelecer o equacionamento do problema (deslocamentos, tensões, deformações, etc.).

A fim de se equacionar e formular o problema tem-se a designação da chamada formulação *local* (que ocorre em um elemento infinitesimal do elemento estrutural considerado), na qual se procura obter a equação ou sistemas de equações diferenciais regentes que permitirão descrever os deslocamentos, a tensão ou ambos como incógnitas básicas. Paralelamente, podem-se obter as equações diferenciais que regem a denominação *global*, a qual usa a imposição de algum princípio variacional (baseadas em energia) a ser obedecido pelo elemento estrutural.

Equacionado o problema busca-se o conjunto de soluções para o modelamento proposto. Sob a forma analítica, para muitos casos, o problema pode ser resolvido com facilidade para o conjunto de soluções lineares, entretanto a solução numérica é utilizada na maioria dos casos para resolução de problemas estruturais de superfície e tridimensionais.

No método de elementos finitos o modelo matemático é dividido em um número discreto de subdomínios ou elementos de dimensões finitas denominados *elementos finitos* interligados por meio de um número de pontos (*nós*). A figura 22 exemplifica esta discretização no caso de um objeto tridimensional idealizado, com a descrição do estado de tensões, onde se adota elementos finitos na forma hexaédrica cujos vértices são os pontos nodais.

Figura 22 – Esquematização do modelo matemático do estado plano de tensões e discretização dos elementos.

Nos problemas tridimensionais o elemento sólido pode ser modelado de algumas formas, dentre elas: tetraédricas linear (04 nós) ou quadrática (10 nós), hexaédricas linear (08 nós) ou quadrática (20 nós), variando o respectivo número de *nós* (da forma linear ou quadrática) por célula.

Para o caso do elemento hexaédrico linear observado na figura 22, pode-se através da Teoria da Elasticidade descrever a relação tensão-deformação com deformações infinitesimais através da relação constitutiva (4.3.1). E assim, os deslocamentos e condições de contorno (4.1.1.1) e (4.2.2), relação dos deslocamentos com a deformação (4.1.2.7) ou (4.4.3.1), as condições de equilíbrio (4.2.3) ou (4.4.3.2) também são descritas por:

$$\mathbf{u} = \begin{Bmatrix} u(x, y, z) \\ v(x, y, z) \\ w(x, y, z) \end{Bmatrix} = \begin{Bmatrix} u_1 \\ u_2 \\ u_3 \end{Bmatrix},$$

$$\left\{ \begin{array}{l} u = \sum_{i=1}^N N_i u_i \rightarrow u = \sum_{i=1}^8 N_i u_i \\ v = \sum_{i=1}^N N_i v_i \rightarrow v = \sum_{i=1}^8 N_i v_i \\ w = \sum_{i=1}^N N_i w_i \rightarrow w = \sum_{i=1}^8 N_i w_i \end{array} \right\}, \text{ valores nodais;}$$

$$E_{ij} = \frac{1}{2}(u_{i,j} + u_{j,i}) \rightarrow \text{tensorial} \quad (4.4.3.1)$$

$$(i, j = 1, 2, 3, \dots, 8)$$

$$T_{ij,j} + f_i = 0 \quad (4.4.3.2)$$

4.4.4 Abordagem *Direct Mechanics*

O arranjo da microestrutura desempenha um papel importante no comportamento mecânico macroscópico. Por exemplo, a organização da microarquitetura óssea apresenta padrões que estão relacionados com o comportamento mecânico macroestrutural, e esses padrões variam de acordo com o carregamento mecânico em cada local dentro do osso. Uma abordagem ainda utilizada para caracterizar os padrões de organização da microestrutura (também conhecidos como "fabric approach") é determinar as propriedades anisotrópicas de subvolumes de osso. Em algumas regiões do fêmur a microarquitetura óssea esta altamente alinhada com o eixo do osso, mas em outras partes do alinhamento pode ser predominantemente com uma orientação transversal. As propriedades anisotrópicas normalmente precisam ser definidas localmente e em várias regiões, devido à variação espacial.

A anisotropia, como já definida anteriormente, pode ser estabelecida em termos da orientação do tecido (arranjo da estrutura óssea) ou do comportamento mecânico (conceito de anisotropia na engenharia, no qual um corpo é considerado anisotrópico em relação a uma propriedade quando esta propriedade tem valores diferentes segundo a direção considerada). Métodos para a caracterização do arranjo do tecido são baseados em técnicas tais como *MIL* ou análise estelar do volume Odgaard (1997a).

Essencialmente, os métodos de caracterização pelo *MIL* concentram-se na distribuição e orientação média do tecido na microarquitetura. Alternativamente, o comportamento elástico mecânico pode ser determinado, e foi mostrado por Odgaard et al. (1997b) que a caracterização anisotrópica pelo *MIL* e a análise das propriedades mecânicas tem similaridades. Esta observação reforça o conceito de que conhecer a microarquitetura óssea torna-se um fator importante na determinação do comportamento mecânico. Assim a abordagem “Direct Mechanics” concentra-se na determinação do comportamento elástico anisotrópico de tecidos utilizando uma avaliação mecânica proposta por van Rietbergen et al. (1996). Em suma, seis testes mecânicos de elementos finitos são realizados num subvolume cúbico do tecido, e estes resultados são utilizados para definir uma *matriz de rigidez* 6 x 6, que remete a relação tensão-deformação de acordo com a Lei de Hooke Generalizada estabelecida na relação constitutiva (4.3.1).

A análise pelo método de elementos finitos para amostras de materiais biológicos não apresentam uma simetria perfeita, portanto, o processo de redução da matriz 6 x 6 a partir de 21 coeficientes independentes para 9 envolve a descoberta de um sistema de coordenadas “ótimo” (aquele no qual se aproxime das regiões preferenciais de carregamento e orientação do tecido), de tal forma que alguns dos coeficientes estão perto de zero. Torna-se razoável assumir que o comportamento mecânico ósseo pode ser reduzido para um caso de *ortotropia*; no entanto, há um cuidado para estabelecer o modelamento e definir a simetria óssea.

A base da abordagem da técnica de modelamento do “Direct Mechanics” é a aplicação dos seis testes baseados na técnica de elementos finitos para um subvolume do tecido apropriado, a ser analisado:

- 1- Teste uniaxial de deformação infinitesimal normal na direção x (E_{xx});
- 2- Teste uniaxial de deformação infinitesimal normal na direção y (E_{yy});
- 3- Teste uniaxial de deformação infinitesimal normal na direção z (E_{zz});
- 4- Teste uniaxial de deformação por cisalhamento na direção x (γ_{yz});
- 5- Teste uniaxial de deformação por cisalhamento na direção y (γ_{zx});
- 6- Teste uniaxial de deformação por cisalhamento na direção z (γ_{xy});

Cada teste é avaliado para os seis tensões resultantes (T_{xx} , T_{yy} , T_{zz} , τ_{yz} , τ_{zx} , τ_{xy}), proporcionando, assim, diretamente os valores da *matriz de rigidez* 6 x 6. As tensões são calculadas como uma média de volume, o que pode ser demonstrado que é equivalente às tensões superficiais sobre as faces do cubo.

Encontrar a rotação “ideal” do sistema de coordenadas, para representar o comportamento ortotrópico, envolve primeiro a decomposição da matriz de rigidez em componentes simétricas e assimétricas. A componente assimétrica é descartada, como as leis de conservação exigem que a *matriz de rigidez* seja simétrica. (A componente assimétrica consiste, assim, inteiramente de erro de medição.) Uma rotação ótima é, em seguida encontrada que minimize os coeficientes da matriz (os quais seriam zero para um material ortotrópico verdadeiro) expressos no sistema de coordenadas dos seus planos de simetria.

Os resultados preliminares da abordagem do “Direct Mechanics” são as apresentações das matrizes de elasticidade ($\mathbf{C}$) e rigidez ($\mathbf{S} = \mathbf{C}^{-1}$) no sistema de coordenadas original da amostra, bem como no sistema de coordenadas com rotação ótima para as direções principais da amostra. A matriz de rotação $\mathbf{R}$ (3 x 3) que descreve a transformação do sistema de

coordenadas da amostra para o sistema de coordenadas idealizado é apresentada; as linhas são os eixos principais do sistema de coordenadas original. Finalmente, a partir da matriz *compliance*, as constantes elásticas ortotrópicas padrões (E_i , ν_{ij} , G_{ii}) são apresentadas.

Capítulo 5 Material e Métodos

Neste Capítulo 5 são apresentados todos os procedimentos realizados na aquisição das imagens por microtomografia das amostras ósseas humanas, o pós-processamento e análise das imagens (quantificações morfométricas microestruturais e quantificação das propriedades mecânicas) e a descrição da análise estatística.

5.1 Amostras Ósseas

As amostras ósseas humanas de cadáveres da coluna lombar foram adquiridas e digitalizadas no Bone Imaging Laboratory (BIL), do Health Research Innovation Centre (HRIC) na Faculdade de Medicina da Universidade de Calgary no Canadá, sob supervisão do Dr. Steven K. Boyd. O comitê de ética da Faculdade de Medicina da Universidade de Calgary aprovou o projeto.

Dez seguimentos da região lombar de cadáveres humanos foram coletados pelos médicos responsáveis pelo Laboratório de anatomia “Gross Anatomy Lab” da Universidade de Calgary, e cedidos diretamente ao BIL. As vértebras L4 e L5 estavam disponíveis nos seguimentos para a análise. Em alguns casos a vértebra L3 pode ser inclusa na análise. Os seguimentos foram provenientes de oito mulheres e dois doadores do sexo masculino com idade entre 55 a 95 anos (média de 76,5 anos). Os seguimentos da região lombar foram recebidos totalmente intactos contendo ligamentos e partes de músculos. Pós-morte todos os espécimes foram armazenados diretamente e mantidos congelados a -76 graus Celsius até o momento da digitalização. Nenhum histórico médico de cada paciente foi conhecido além da causa da morte. Uma visão geral, sobre todas as características do grupo de seguimentos lombares para cada paciente, é mostrada na tabela 2.

Tabela 2 – Características das Amostras Ósseas

Espécime	*Seg. Vert.	Idade	Gênero	Causa de Morte	Peso (Kg)	Altura (m)
C0011068	L2-L5	83	feminino	Doença pulmonar crônica	-	-
C0011069	L3-L5	67	feminino	Infarto e Diabetes	59	1,57
C0012342	L3-L5	55	feminino	Acidente Vascular Cerebral	75	1,65
C0012343	L4-L5	64	masculino	Câncer, Edema Cerebral	83	1,83
C0012344	L4-L5	95	feminino	Doença Arterial Coronariana	50	1,57
C0012345	L4-L5	85	feminino	Pneumonia, Doença Arterial Coronariana	45	1,60
C0012361	L3-L5	91	feminino	Fratura Pélvica, Aterosclerose	-	-
C0012367	L3-L5	72	feminino	Astrocitoma cerebral	59	1,70
C0012368	L4-L5	85	feminino	Aterosclerose	68	1,70
C0012369	L4-L5	68	masculino	Cardiomiopatia	64	1,83

*Seg. Vért.(Segmento Vertebral da Região Lombar)

5.2 Quantificação Microestrutural

Antes da aquisição das imagens e análises morfométricas, os segmentos lombares da coluna vertebral foram embrulhados em gaze, embebidos com solução salina e selados em sacos plásticos para mantê-los hidratados. Posteriormente, os espécimes foram descongelados por três horas antes da digitalização. Os espécimes foram selados (vácuo) uma segunda vez (por motivo de segurança na hora da digitalização) e em seguida foram então fixados em um suporte de amostras de carbono (os procedimentos são mostrados na figura 23). Por fim, os seguimentos foram digitalizados no XtremeCT Scanco (Scanco Medical AG, Suíça, 60 kVp, 1 mA) (figura 24), no BIL. Os dados foram reconstruídos com um tamanho de voxel isotrópico de 82 μ m. O tempo de digitalização foi em média 50 minutos por coluna, com um máximo de 1.800 fatias (imagens bidimensionais) de dados coletados. As figuras 25 a 34 contêm uma visão geral das imagens reconstruídas de cada espécime no plano médio sagital e coronal.

Figura 23 – Procedimentos de preparação dos seguimentos antes da digitalização.

A – Seguimento da coluna vertebral retirado do freezer (a $-76,5\text{ }^{\circ}\text{C}$), embebido com solução salina e mantido no primeiro processo de degelo. **B** - Máquina seladora a vácuo utilizada na segunda selagem dos seguimentos por questões de segurança (possíveis contaminações). **C** – Segundo passo do processo de descongelamento antes da digitalização (3h). **D, E** – Fixação do seguimento da coluna vertebral no suporte de amostras (carbono) para a digitalização.

Figura 24 – Microtomógrafo Scanco (XtremeCT) e Cluster.

Figura 25 – Plano médio sagital e coronal, e Reconstrução 3D espécime C0011068.

Figura 26 - Plano médio sagital e coronal, e Reconstrução 3D espécime C0011069.

Figura 27 - Plano médio sagital e coronal, e Reconstrução 3D espécime C0012342.

Figura 28 - Plano médio sagital e coronal, e Reconstrução 3D espécime C0012343.

Figura 29 - Plano médio sagital e coronal, e Reconstrução 3D espécime C0012344.

Figura 30 - Plano médio sagital e coronal, e Reconstrução 3D espécime C0012345.

Figura 31 - Plano médio sagital e coronal, e Reconstrução 3D espécime C0012361.

Figura 32 - Plano médio sagital e coronal, e Reconstrução 3D espécime C0012367.

Figura 33 - Plano médio sagital e coronal, e Reconstrução 3D espécime C0012368.

Figura 34 - Plano médio sagital e coronal, e Reconstrução 3D espécime C0012369.

A figura 35 mostra os tipos de arquivos, e suas respectivas descrições, utilizados na quantificação microestrutural e quantificação das propriedades mecânicas pelos microtomógrafos da Scanco Medical AG.

File types

Extension	About	Opens With
AIM	Any IM age data. This is a binary raw data format (16-bit signed data, little endian). This is the 3D data you see using the μ CT Ray Program and used for the analysis. The AIM file is a volume of interest isolated from the ISQ file.	\$ uct 3d
GOBJ	Graphical OBJ ect data. These are the green contours in the μ CT Evaluation Program, which are used to isolate regions of interest from an AIM file for analysis.	\$ uct_evaluation
ISQ	Image Se quence data. This is the reconstructed 3D image, which you see in the μ CT Evaluation Program.	\$ uct_evaluation \$ x
RSQ	Raw Se quence data. This is the raw data collected after the scan. This file contains the bright and dark field corrections and the raw projections.	\$ x
SCV	Scout View .	\$ x

Figura 35 - Extensões de arquivos utilizados na quantificação microestrutural da Scanco Medical AG.

A seguir são apresentados os procedimentos para o processamento e conversão das imagens (**RSQ**, **ISQ**), que foram adquiridas na digitalização dos espécimes, em (**AIM**) formato dos dados (3D) utilizados na quantificação microestrutural e no modelo de elementos finitos (**FEM**).

A figura 36 estabelece o fluxograma com os procedimentos que foram realizados na quantificação microestrutural. O processamento foi realizado utilizando a linguagem de processamento de imagem (image processing language – **IPL**; Scanco medical, Switzerland, Versão 5.08b).

Figura 36 – Diagrama do processo de quantificação microestrutural.

A figura 37 descreve os processos para a extração dos cubos das vértebras no formato AIM a partir dos arquivos ISQ (Anexo A - Scrip Cutout). OBS: funções do IPL em *ilático*

Figura 37 - Script Cutout (Extração dos cubos no formato AIM a partir dos ISQ)

A figura 38 descreve os processos para a aquisição dos cinco subvolumes nos cubos de cada vértebra (Anexo B - Scrip Cubes). OBS: as funções em **IPL** estão em *itálico*.

Figura 38 - Script Cubes (Aquisição dos Subvolumes AIM files)

A figura 39 descreve os processos para realização das quantificações dos parâmetros morfométricos (Anexo C – Script Eval). OBS: as funções do **IPL** estão em *itálico*.

Figura 39 - Script Eval (quantificação dos parâmetros microestruturais)

5.3 Análise das Propriedades Mecânicas

A análise pelo Método de Elementos Finitos, para obtenção das propriedades mecânicas das amostras cúbicas trabeculares nas vértebras (**AIM** files), foi realizada no software “*Faim*” (Numerics88 Solutions Ltd, Versão 6.0, <http://www.numerics88.com>); software produzido pelo Dr. Steven K. Boyd e Eric Nodwell da Universidade de Calgary.

A passagem das imagens segmentadas nos modelos de elementos finitos envolveu as seguintes etapas: conversão de voxels de imagem em elementos finitos utilizando um método direto voxel-elemento, atribuição de propriedades elásticas dos elementos (Módulo de Young Isotrópico e Módulo de Poisson Isotrópico) e definição das condições de contorno (filtro de conectividade, figura 40). Todas estas etapas foram realizadas com um script (Anexo D). Antes de iniciar a produção dos modelos no *Faim*, cada imagem processada foi visualizada no software ParaView (Sandia National Laboratory, Kitware Inc, Versão 3.14.1) para o controle de qualidade da segmentação (por exemplo, para garantir que nenhuma parte de ossos adjacentes fossem incluídos no contorno). Neste estudo o módulo de Young foi definido como sendo 6829 MPa (MacNeil et al, 2008).

O modelamento por elementos finitos constou do procedimento do *Direct Mechanics Approach* descrito na seção 4.4.4, todas as análises foram realizadas no PC GNU (Intel Xeon, 8 Core dual thread CPU, 256 GB ram), a interpretação do modelamento para descrição das propriedades mecânicas é mostrada na figura 41.

Figura 40 - Filtro de Conectividade (Voxels em vermelho caracterizam a região desconexa da estrutura)

Figura 41 - Modelamento por Elemntos Finitos (Faim)

5.4 Análise Estatística

A análise estatística foi efetuada com o software *SigmaPlot* (versão 12.5 trial).

O teste ANOVA fator único foi realizado para os seguintes parâmetros: densidade de conectividade (Conn.D), espessura trabecular (Tb.Th), separação trabecular (Tb.Sp), número trabecular (Tb. N), índice de modelo estrutural (SMI) e fração de volume óssea (BV/TV); entre os subvolumes adotados.

O teste de Regressão (Linear) foi realizado para os seguintes parâmetros microestruturais em função da fração de volume (BV/TV): Conn.D, Tb. Th, Tb.Sp, Tb.N e SMI.

Posteriormente, foram correlacionados num gráfico (3D) o parâmetro grau de anisotropia (DA) com o fator de normalização do volume trabecular pela espessura de trabécula (BV/Tb.Th) nos respectivos subvolumes.

A Regressão linear e não linear foi apresentada para módulos de Young (E_{xx} , E_{yy} e E_{zz}), os módulos de torção (G_{yz} , G_{zx} e G_{xy}) e os módulos de Poisson (ν_{yx} , ν_{zx} , ν_{xy} , ν_{zy} , ν_{xz} e

v_{yz}), nas coordenadas da amostra (x, y, z) e no sistema rotacionado com as (“melhores”) coordenadas principais (1,2,3).

Além dos gráficos de regressão e comportamento tridimensional foram aplicados o teste de Kruskal-Wallis ANOVA fator único (com a análise de variância nos ranks, seguidos de um pós-teste de Tukey com múltiplas comparações entre os grupos) realçando as diferenças estatísticas entre os parâmetros: autovalores de $\mathbf{M}$ (H_1, H_2 e H_3), os módulos (E_{xx}, E_{yy} e E_{zz}), (G_{yz}, G_{zx} e G_{xy}) e ($v_{yx}, v_{zx}, v_{xy}, v_{zy}, v_{xz}$ e v_{yz}) nos dois sistemas (amostra e rotacionado).

Por fim, novamente o teste de Kruskal-Wallis ANOVA fator único (com a análise de variância nos ranks, seguidos de um pós-teste de Tukey com múltiplas comparações entre os grupos) foi realizado para estabelecer a tabela dos valores médios de ($E_1, E_2, E_3, G_{12}, G_{23}, G_{31}, v_{21}, v_{31}, v_{12}, v_{32}, v_{13}$ e v_{23}) nos subvolumes.

Capítulo 6 Resultados

Os espécimes C0011068, C0012345, C0012361, C0012368 e C0012369 foram descartados das análises por não apresentarem valores significativos (não definidos para a maioria dos subvolumes) de conectividade, e valores negativos parâmetros mecânicos positivos definidos (E_i e G_{ij}). Os resultados para os espécimes C0012343 (subvolume 20% de L5) e C0012342 (100% de L4) foram retirados das análises por apresentarem valores negativos para os parâmetros (SMI e E_i respectivamente). O Anexo E mostra os GOBJ e *thresholds* definidos para cada vértebra. As tabelas 3 a 14 (Anexo F) descrevem os resultados da quantificação microestrutural e parâmetros mecânicos para as vértebras analisadas (82 μm).

A figuras 42 mostra o gráficos (3D) da relação entre a densidade de conectividade (Conn.D) com a fração de volume ósseo (BV/TV) nos respectivos subvolumes.

Figura 42 – Gráfico (3D) da relação entre (Conn.D), BV/TV e os subvolumes ósseos.

As tabelas 3 a 8 apresentam os valores médios com os respectivos desvios padrão e limites inferior e superior para os parâmetros (Conn.D, Tb. Th, Tb.Sp, Tb.N, SMI, BV/TV) em cada subvolume analisado (teste ANOVA fator único).

Tabela 3 - Valores médios para o parâmetro Conn.D nos subvolumes (ANOVA fator Único).

Conn.D	20%	40%	60%	80%	100%
N	11	12	12	12	11
Limite Superior	1,07	1,26	1,21	1,16	1,13
Limite Inferior	0,64	0,85	0,80	0,75	0,70
Média	0,85	1,05	1,01	0,95	0,92
Desv. Padrão	0,37	0,39	0,35	0,33	0,31

Tabela 4 - Valores médios para o parâmetro Tb.Th nos subvolumes (ANOVA fator Único).

Tb.Th	20%	40%	60%	80%	100%
N	11	12	12	12	11
Limite Superior	0,37	0,4	0,41	0,41	0,43
Limite Inferior	0,32	0,34	0,35	0,36	0,37
Média	0,34	0,37	0,38	0,39	0,4
Desv. Padrão	0,04	0,04	0,04	0,05	0,07

Tabela 5 - Valores médios para o parâmetro Tb.Sp nos subvolumes (ANOVA fator Único).

Tb.Sp	20%	40%	60%	80%	100%
N	11	12	12	12	11
Limite Superior	0,87	0,96	0,98	1,01	1,05
Limite Inferior	0,69	0,78	0,80	0,84	0,86
Média	0,78	0,87	0,89	0,93	0,96
Desv. Padrão	0,12	0,16	0,15	0,15	0,16

Tabela 6 - Valores médios para o parâmetro Tb.N nos subvolumes (ANOVA fator Único).

Tb.N	20%	40%	60%	80%	100%
N	11	12	12	12	11
Limite Superior	1,33	1,17	1,14	1,11	1,09
Limite Inferior	1,14	0,99	0,96	0,93	0,90
Média	1,23	1,08	1,05	1,02	1,00
Desv. Padrão	0,19	0,16	0,15	0,13	0,13

Tabela 7 - Valores médios para o parâmetro SMI nos subvolumes (ANOVA fator Único).

SMI	20%	40%	60%	80%	100%
N	11	12	12	12	11
Limite Superior	2,66	2,36	2,41	2,45	2,48
Limite Inferior	1,99	1,72	1,77	1,81	1,81
Média	2,32	2,04	2,09	2,13	2,14
Desv. Padrão	0,35	0,58	0,54	0,60	0,62

Tabela 8 - Valores médios para o parâmetro BV/TV nos subvolumes (ANOVA fator Único).

BV/TV	20%	40%	60%	80%	100%
N	11	12	12	12	11
Limite Superior	0,27	0,29	0,29	0,28	0,29
Limite Inferior	0,19	0,21	0,21	0,20	0,20
Média	0,23	0,25	0,25	0,24	0,25
Desv. Padrão	0,04	0,07	0,07	0,08	0,08

As figuras 43 a 47 mostram a regressão linear estabelecida na análise dos parâmetros Conn.D, Tb. Th, Tb.Sp, Tb.N e SMI correlacionados com a fração volumétrica (BV/TV).

Figura 43 - Gráfico da Regressão Linear entre o parâmetro (Conn.D) e (BV/TV).

Figura 44 - Gráfico da Regressão Linear entre o parâmetro (Tb.Th) e (BV/TV).

Figura 45 - Gráfico da Regressão Linear entre o parâmetro (Tb.Sp) e (BV/TV).

Figura 46 - Gráfico da Regressão Linear entre o parâmetro (Tb.N) e (BV/TV).

Figura 47 - Gráfico de Regressão entre o parâmetro SMI e BV/TV.

A figura 48 apresenta o comportamento (3D) entre o grau de anisotropia (DA) e a relação de normalização entre volume ósseo e a espessura trabecular (BV/Tb.Th) nos respectivos subvolumes.

Figura 48 – Relação do Grau de Anisotropia pelo fator de normalização (BV/Tb.Th) nos respectivos subvolumes.

A tabela 9 apresenta os resultados para o teste Kruskal-Wallis ANOVA em ranks classificando as diferenças estatísticas entre os autovalores (H1, H2 e H3).

Tabela 9 - Análise de variância nos ranks (H1, H2 e H3) pelo teste Kruskal-Wallis ANOVA fator único nos ranks.

Grupos	N	Mediana	25%	75%
H1	58	1,04	0,97	1,39
H2	58	1,34	1,22	1,85
H3	58	1,17	1,08	1,52

A tabela 10 apresenta os resultados para pós-teste de Tukey com múltiplas comparações entre os grupos, realçando as diferenças estatísticas entre os autovalores.

Tabela 10 – Comparações múltiplas entre grupos (H1, H2 e H3) pelo Pós-teste de Tukey.

Comparações	P<0,05
H2 vs H1	Sim
H2 vs H3	Sim
H3 vs H1	Sim

As tabelas 11 a 13 mostram os valores médios com os respectivos desvios padrão e limites inferior e superior para os parâmetros (H1, H2 e H3) em cada subvolume analisado (teste ANOVA fator único).

Tabela 11 - Valores médios para o parâmetro H1 nos subvolumes (ANOVA fator Único).

H1	20%	40%	60%	80%	100%
N	11	12	12	12	11
Limite Superior	1,43	1,40	1,42	1,48	1,56
Limite Inferior	0,93	0,92	0,94	1,00	1,06
Média	1,18	1,16	1,18	1,24	1,31
Desv. Padrão	0,26	0,38	0,39	0,45	0,54

Tabela 12 - Valores médios para o parâmetro H2 nos subvolumes (ANOVA fator Único).

H2	20%	40%	60%	80%	100%
N	11	12	12	12	11
Limite Superior	1,97	1,92	1,97	2,06	2,16
Limite Inferior	1,12	1,11	1,15	1,24	1,31
Média	1,55	1,52	1,56	1,65	1,74
Desv. Padrão	0,43	0,59	0,66	0,80	0,94

Tabela 13 - Valores médios para o parâmetro H3 nos subvolumes (ANOVA fator Único).

H3	20%	40%	60%	80%	100%
N	11	12	12	12	11
Limite Superior	1,65	1,60	1,60	1,66	1,75
Limite Inferior	1,05	1,03	1,03	1,09	1,15
Média	1,35	1,31	1,32	1,38	1,45
Desv. Padrão	0,31	0,45	0,47	0,55	0,65

Análise do comportamento mecânico nas coordenadas da amostra (x, y, z).

Os gráficos das figuras 49 a 51 representam o comportamento da regressão linear e não linear de E_{xx} , E_{yy} e E_{zz} , respectivamente, em função da fração de volume ósseo.

Figura 49 - Gráfico de Regressão de E_{xx} em função de (BV/TV).

Figura 50 - Gráfico de Regressão de E_{yy} em função de (BV/TV).

Figura 51 - Gráfico de Regressão de E_{zz} em função de (BV/TV).

A tabela 14 apresenta os resultados para o teste Kruskal-Wallis ANOVA em ranks classificando as diferenças estatísticas entre os módulos de Young (E_{xx} , E_{yy} e E_{zz}).

Tabela 14 - Análise de variância nos ranks (E_{xx} , E_{yy} e E_{zz}) pelo teste Kruskal-Wallis ANOVA fator único nos ranks.

Grupos	N	Mediana	25%	75%
E_{xx} (MPa)	58	195,94	88,72	402,37
E_{yy} (MPa)	58	116,40	50,59	278,60
E_{zz} (MPa)	58	252,66	134,23	431,54

A tabela 15 mostra os resultados para pós-teste de Tukey com múltiplas comparações entre os grupos, destacando as diferenças estatísticas entre os módulos de Young.

Tabela 15 – Comparações múltiplas entre grupos (E_{xx} , E_{yy} e E_{zz}) pelo Pós-teste de Tukey.

Comparações	P<0,05
E_{yy} (MPa) vs E_{zz} (MPa)	Sim
E_{xx} (MPa) vs E_{zz} (MPa)	Não
E_{xx} (MPa) vs E_{yy} (MPa)	Não

Os gráficos das figuras 52 a 54 apresentam o comportamento da regressão linear e não linear de G_{yz} , G_{zx} , G_{xy} , respectivamente, em função da fração de volume ósseo.

Figura 52 - Gráfico de Regressão de G_{yz} em função de (BV/TV).

Figura 53 - Gráfico de Regressão de G_{zx} em função de (BV/TV).

Figura 54 - Gráfico de Regressão de G_{xy} em função de (BV/TV).

As tabelas 16 e 17 apresentam os resultados para o teste Kruskal-Wallis (ANOVA fator único em ranks) classificando as diferenças estatísticas entre os módulos de Torção (G_{yz} , G_{zx} e G_{xy}) e os módulos de Poisson (ν_{yx} , ν_{zx} , ν_{xy} , ν_{zy} , ν_{xz} e ν_{yz}), respectivamente.

Tabela 16 - Análise de variância nos ranks (G_{yz} , G_{zx} e G_{xy}) pelo teste Kruskal-Wallis ANOVA fator único.

Grupos	N	Mediana	25%	75%
G_{yz} (MPa)	58	100,10	52,66	168,79
G_{zx} (MPa)	58	112,25	54,07	180,08
G_{xy} (MPa)	58	86,06	51,63	155,75

Tabela 17 - Análise de variância nos ranks (ν_{yx} , ν_{zx} , ν_{xy} , ν_{zy} , ν_{xz} e ν_{yz}) pelo teste Kruskal-Wallis ANOVA One Way nos respectivos subvolumes.

Grupos	N	Mediana	25%	75%
ν_{yx}	58	0,148	0,097	0,196
ν_{zx}	58	0,137	0,088	0,210
ν_{xy}	58	0,201	0,172	0,242
ν_{zy}	58	0,123	0,061	0,212
ν_{xz}	58	0,096	0,067	0,133
ν_{yz}	58	0,071	0,038	0,107

As tabelas 18 e 19 mostram os resultados para o pós-teste de Tukey com múltiplas comparações entre os grupos, realçando as diferenças estatísticas entre os módulos de Torção e os módulos de Poisson respectivamente.

Tabela 18 – Comparações múltiplas entre grupos (G_{yz} , G_{zx} e G_{xy}) pelo Pós-teste de Tukey.

Comparações	P<0,05
G_{zx} (MPa) vs G_{xy} (MPa)	Não
G_{zx} (MPa) vs G_{yz} (MPa)	Não
G_{xy} (MPa) vs G_{yz} (MPa)	Não

Tabela 19 – Comparações múltiplas entre grupos (v_{yx} , v_{zx} , v_{xy} , v_{zy} , v_{xz} e v_{yz}) pelo Pós-teste de Tukey.

Comparações	P<0,05
v_{xy} vs v_{yz}	Sim
v_{xy} vs v_{xz}	Sim
v_{xy} vs v_{zy}	Sim
v_{xy} vs v_{zx}	Sim
v_{xy} vs v_{yx}	Sim
v_{yx} vs v_{yz}	Sim
v_{yx} vs v_{xz}	Sim
v_{yx} vs v_{zy}	Não
v_{yx} vs v_{zx}	Não
v_{zx} vs v_{yz}	Sim
v_{zx} vs v_{xz}	Não
v_{zx} vs v_{zy}	Não
v_{zy} vs v_{yz}	Sim
v_{zy} vs v_{xz}	Não
v_{xz} vs v_{yz}	Não

A tabela 19 explicita as seguintes situações:

$$(1) \quad v_{yx} = v_{zy} = v_{yz} = v_{zx} = v_{xz}$$

$$(2) \quad v_{xy} \neq v_{yz} \neq v_{xz} \neq v_{zy} \neq v_{zx} \neq v_{yx}$$

Análise do comportamento mecânico nas coordenadas do sistema rotacionado (1, 2, 3).

Os gráficos das figuras 55 a 57 representam o comportamento da regressão linear e não linear de E_1 , E_2 e E_3 , respectivamente, em função da fração de volume ósseo.

Figura 55 - Gráfico da Regressão Linear de E_1 .

Figura 56 - Gráfico da Regressão Linear de E_2 .

Figura 57 - Gráfico da Regressão de E_3 .

A tabela 20 apresenta os resultados para o teste Kruskal-Wallis ANOVA em ranks classificando as diferenças estatísticas entre os módulos de Young principais (E_1 , E_2 e E_3).

Tabela 20 - Análise de variância nos ranks (E_1 , E_2 e E_3) pelo teste Kruskal-Wallis ANOVA fator único nos ranks.

Grupos	N	Mediana	25%	75%
E_1 (MPa)	58	294,02	96,76	514,13
E_2 (MPa)	58	257,81	146,83	382,51
E_3 (MPa)	58	152,62	63,31	257,58

A tabela 21 mostra os resultados para pós-teste de Tukey com múltiplas comparações entre os grupos, destacando as diferenças estatísticas entre os módulos de Young principais.

Tabela 21 – Comparações múltiplas entre grupos (E_1 , E_2 e E_3) nos respectivos subvolumes (Pós-teste de Tukey).

Comparações	$P < 0,05$
E_2 (MPa) vs E_3 (MPa)	Sim
E_1 (MPa) vs E_2 (MPa)	Não
E_1 (MPa) vs E_3 (MPa)	Sim

Os gráficos das figuras 57 a 58 apresentam o comportamento da regressão linear e não linear de G_{23} , G_{31} , G_{12} , respectivamente, em função da fração de volume ósseo.

Figura 58 - Gráfico da Regressão de G_{23} .

Figura 59 - Gráfico da Regressão de G_{31} .

As tabelas 22 e 23 apresentam os resultados para o teste Kruskal-Wallis ANOVA em ranks classificando as diferenças estatísticas entre os módulos de Torção (G_{23} , G_{31} e G_{12}) e os módulos de Poisson (ν_{21} , ν_{31} , ν_{12} , ν_{32} , ν_{13} e ν_{23}), respectivamente.

Tabela 22 - Análise de variância nos ranks (G_{23} , G_{31} e G_{12}) pelo teste Kruskal-Wallis ANOVA fator único nos ranks.

Grupos	N	Mediana	25%	75%
G_{23} (MPa)	58	85,91	48,40	153,36
G_{31} (MPa)	58	102,62	44,76	150,59
G_{12} (MPa)	58	100,03	51,62	187,30

Tabela 23 - Análise de variância nos ranks (ν_{21} , ν_{31} , ν_{12} , ν_{32} , ν_{13} e ν_{23}) pelo teste Kruskal-Wallis ANOVA fator único nos ranks.

Grupos	N	Mediana	25%	75%
ν_{21}	58	0,121	0,079	0,155
ν_{31}	58	0,076	0,022	0,150
ν_{12}	58	0,137	0,055	0,191
ν_{32}	58	0,077	0,020	0,128
ν_{13}	58	0,141	0,073	0,207
ν_{23}	58	0,140	0,063	0,216

As tabelas 24 e 25 mostram os resultados para pós-teste de Tukey com múltiplas comparações entre os grupos, destacando as diferenças estatísticas entre os módulos de Torção e os módulos de Poisson, respectivamente.

Tabela 24 – Comparações múltiplas entre grupos (G_{23} , G_{31} e G_{12}) pelo Pós-teste de Tukey.

Comparações	P<0,05
G_{12} (MPa) vs G_{23} (MPa)	Não
G_{12} (MPa) vs G_{31} (MPa)	Não
G_{31} (MPa) vs G_{23} (MPa)	Não

Tabela 25 – Comparações múltiplas entre grupos (v_{21} , v_{31} , v_{12} , v_{32} , v_{13} e v_{23}) pelo Pós-teste de Tukey.

Comparações	P<0,05
v_{13} vs v_{32}	Sim
v_{13} vs v_{31}	Não
v_{13} vs v_{21}	Não
v_{13} vs v_{12}	Não
v_{13} vs v_{23}	Não
v_{23} vs v_{32}	Sim
v_{23} vs v_{31}	Não
v_{23} vs v_{21}	Não
v_{23} vs v_{12}	Não
v_{12} vs v_{32}	Sim
v_{12} vs v_{31}	Não
v_{12} vs v_{21}	Não
v_{21} vs v_{32}	Sim
v_{21} vs v_{31}	Não
v_{31} vs v_{32}	Não

A tabela 25 explicita as seguintes situações:

(1) $v_{13} \neq v_{32}$	(5) $v_{12} = v_{21}$
(2) $v_{23} \neq v_{32}$	(6) $v_{13} = v_{23}$
(3) $v_{12} \neq v_{32}$	(7) $v_{31} = v_{32}$
(4) $v_{21} \neq v_{32}$	

Condições nas quais classificam a simetria do material como transversalmente isotrópica. Duas direções preferenciais de carregamento a direção 3 e a direção (1=2).

A tabela 26 apresentam os resultados dos valores médios para os parâmetros (E_1 , E_2 , E_3 , G_{12} , G_{23} , G_{31} , v_{21} , v_{31} , v_{12} , v_{32} , v_{13} e v_{23}) em cada subvolume analisado (teste ANOVA fator único).

Tabela 26 -.Valores médios dos módulos de Young, Torção e Poisson nos respectivos subvolumes.

Parâmetro	20%	40%	60%	80%	100%
N	11	12	12	12	11
E₁ (MPa)	458,93	279,99	284,67	242,38	139,10
E₂ (MPa)	347,86	309,72	272,12	221,85	127,52
E₃ (MPa)	172,36	218,97	122,39	128,20	90,46
G₁₂ (MPa)	173,02	101,29	88,44	83,74	52,18
G₂₃ (MPa)	102,06	111,74	80,73	73,44	48,23
G₃₁ (MPa)	116,95	118,67	93,37	85,96	49,01
ν_{21}	0,120	0,125	0,116	0,118	0,127
ν_{31}	0,053	0,087	0,122	0,085	0,041
ν_{12}	0,172	0,118	0,010	0,155	0,116
ν_{32}	0,101	0,095	0,086	0,054	0,035
ν_{13}	0,117	0,148	0,148	0,167	0,086
ν_{23}	0,192	0,173	0,136	0,097	0,097

Capítulo 7 Discussão

A escolha das regiões de interesse, bem como o volume de interesse, nas vértebras humanas foi realizada de maneira restritiva (regiões sem muitos defeitos estruturais). Foram selecionados os volumes de interesse com o maior número de conexões (expressa visualmente pelo software de análise microestrutural da Scanco) que representassem adequadamente a amostra cúbica. A seleção dos VOIs demandou muito tempo para que fossem selecionadas regiões com alto grau de conectividade e se evitasse aquelas com fraturas severas e regiões com osteofitose. Os osteófitos, que surgem como consequência da desidratação do disco intervertebral, e que favorecem a aproximação das vértebras e torna possível a compressão das raízes nervosas, apareceram em algumas das vértebras visualizadas. Este comprometimento microestrutural alterou a rigidez da estrutura óssea, como pode-se perceber pelo aumento dos valores dos módulo de Young nos subvolumes analisados. Em média houve um aumento de 4 vezes nestes valores, por exemplo de L4 e L5 em relação a L3 no espécime C0011069.

A relação entre a densidade de conectividade (Conn.D) com a fração de volume ósseo (BV/TV) nos respectivos subvolumes, mapeado no gráfico 3D da figura 42, mostra a tendência de um aumento do grau de conectividade das trabéculas a medida que ocorre uma redução dos subvolumes analisados (100% para 20% ou em milímetros de 18,5 para 3,7) acompanhado de um acréscimo dos valores da fração de volume ósseo.

A tendência observada de diminuição da separação trabecular (Tb.Sp) e o aumento do número de trabéculas por unidade de comprimento (Tb.N) com a diminuição do volume de interesse, reforça a proposta de se analisar as possíveis variações dos parâmetros morfométricos e mecânicos em domínios específicos (caracterização topológica da arquitetura óssea trabecular) nos sítios anatômicos (Saha et al. 2000).

Os parâmetros (Conn.D, Tb.Th, Tb.Sp, Tb.N, SMI, BV/TV) analisados pelo teste ANOVA fator único para cada subvolume não apresentaram diferenças estatisticamente significantes com a redução do volume analisado. Entretanto, os valores médios mostram uma possível tendência para que valores analisados em volumes menores estejam melhores associados à microarquitetura óssea trabecular (Marangalou et. al. 2013). Como exemplo, o aumento dos valores médios da densidade de conectividade (com exceção do subvolume 20%) e do número médio de trabéculas por unidade de comprimento, associados à diminuição da separação trabecular, são fatores que tendem a realçar esta hipótese.

O gráficos de regressão linear estabelecidos na análise dos parâmetros (Conn.D, Tb.Th, Tb.Sp, Tb.N e SMI) correlacionados com a fração volumétrica (BV/TV) mostraram a fraca correlação (r^2 abaixo de 0,55 chegando a 0,32) de ordem linear que os parâmetros obtiveram, apresentando uma dispersão alta dos valores tabelados, com exceção da regressão analisada para o SMI ($r^2 = 0,93$). Os valores de SMI estiveram na média acima de 2 o que representa uma estrutura com mais bastonetes do que placas.

O comportamento (3D) observado para o parâmetro do grau de anisotropia (DA) relacionado ao fator de normalização do volume ósseo e a espessura trabecular (BV/Tb.Th), nos respectivos subvolumes, realça a tendência da diminuição do grau de anisotropia microestrutural a medida que se reduz o volume amostral com a subsequente redução do fator de normalização (BV/Tb.Th). Os resultados da diferença estatística evidenciados na tabela 10, pelo teste Kruskal-Wallis ANOVA em ranks para os autovalores (H1, H2 e H3) com um pós-teste de Tukey (múltiplas comparações entre os grupos), mostram que existem três autovalores distintos da matriz **M** (tensor anisotropia) e, portanto, a microestrutura óssea trabecular das vértebras lombares humanas coletadas apresenta uma tendência à simetria ortotrópica segundo a abordagem do MIL (fabric) (Cowin, 1985; Cowin, 1989). Entretanto, os valores médios para os autovalores de **M** analisados pelo teste ANOVA fator único não apresentaram diferença estatística entre as medidas para cada subvolume do método.

O comportamento das regressões lineares e não lineares de E_{xx} , E_{yy} , E_{zz} , G_{yz} , G_{zx} e G_{xy} , respectivamente, em função da fração de volume ósseo (nas coordenadas da amostra) apresentaram ajustes melhores de regressão (*fittings*) para o modelo cúbico. A única exceção foi para o módulo de Young - E_{zz} , no qual se observou uma grande dispersão dos pontos no gráfico. A análise estatística pelo teste Kruskal-Wallis ANOVA em ranks para os módulos de Young resultou nos valores médios $E_{xx} = 195,94$ (MPa), $E_{yy} = 116,40$ (MPa), $E_{zz} = 252,66$ (MPa) revelando uma diferença entre os módulos. No entanto na aplicação do pós-teste de Tukey (múltiplas comparações entre os grupos) conclui-se que $E_{yy} \neq E_{zz}$, $E_{zz} = E_{xx}$ e $E_{yy} = E_{xx}$. Os módulos de Torção apresentaram os valores médios $G_{yz} = 100,10$ (MPa), $G_{zx} = 112,25$ (MPa) e $G_{xy} = 86,06$ (MPa). Quando aplicado o pós-teste de Tukey a diferença estatística entre os módulos, também esperada, não foi observada. A análise dos módulos de Poisson por comparações múltiplas resultou em $\nu_{yx} = \nu_{zy} = \nu_{yz} = \nu_{zx} = \nu_{xz}$ e $\nu_{xy} \neq \nu_{yz} \neq \nu_{xz} \neq \nu_{zy} \neq \nu_{zx} \neq \nu_{yx}$, revelando uma incongruência nos resultados pois as deformações laterais nos ensaios de deformação infinitesimal são diferentes para as direções **y** e **z** em relação a **x**.

O comportamento das regressões lineares e não lineares de E_1 , E_2 , E_3 , G_{23} , G_{31} e G_{12} , respectivamente, em função da fração de volume ósseo (nas coordenadas rotacionadas) apresentaram melhores ajustes de regressão (*fittings*) para o modelo cúbico. A análise estatística pelo teste Kruskal-Wallis ANOVA em ranks para os módulos de Young principais resultou nos valores médios $E_1 = 294,02$ (MPa), $E_2 = 257,81$ (MPa), $E_3 = 152,62$ (MPa). O pós-teste de Tukey mostrou que $E_1 \neq E_3$, $E_2 \neq E_3$ e $E_1 = E_2$, que indicam que a direção associada à E_3 é preferencial às direções associadas à E_1 e E_2 . Os valores médios dos módulos de Torção foram $G_{23} = 85,91$ (MPa), $G_{31} = 102,62$ (MPa) e $G_{12} = 100,03$ (MPa). A diferença estatística esperada não ocorreu segundo o pós-teste de Tukey. Os módulos de Poisson obtiveram da análise por comparações múltiplas as condições mostradas na tabela 25 que relatam 7 condições que classificam a isotropia transversa e que mostram a direção 3 e a direção axial formada pelos planos da direções 1 e 2 como direções principais da microestrutura na análise da deformação lateral.

A tabela 26 indica a tendência de um aumento nos valores dos módulos de Young, Poisson e torção nas coordenadas do sistema rotacionando quando há a redução do volume amostral. A análise do teste ANOVA fator único, entretanto, mostra que não diferença estatística entre os valores em relação aos subvolumes.

A análise das propriedades mecânicas pelo Método de Elementos Finitos das vértebras humanas resultou em matrizes completas simétricas 6x6 com 21 elementos independentes. Na procura pelas direções preferenciais através de uma rotação do sistema de coordenadas foram obtidos 9 elementos independentes, mas os demais elementos da matriz não foram zeros absolutos. Considera-se razoável assumir que o comportamento mecânico ósseo pode ser reduzido para um caso de *ortotropia* (no qual existam três direções preferenciais de carregamento com 9 elementos independentes). O uso de melhores resoluções microtomográficas nas imagens digitalizada possibilitará uma visualização completa da região de interesse, com segmentação ajustada (*threshold*) para que haja uma boa conversão voxel-elemento no modelo (Depalle et. al 2012).

A técnica de microtomografia tem dado contribuições relevantes para se investigar o aprimoramento da caracterização da qualidade óssea (Odgaard. 2001, Dreossi, 2007). No campo da histomorfometria microscópica, o estudo da microarquitetura é baseado na medida da largura, do número e da separação das trabéculas, bem como da sua organização espacial. Seguindo essa linha de análise as investigações apontam como fatores estruturais determinantes da resistência mecânica óssea a espessura e a porosidade do osso cortical; a

forma, o número, a espessura, a conectividade e a anisotropia do osso trabecular (Dalle Carbonare; 2005).

Nos últimos anos observou-se que não apenas a densidade mineral óssea, mas também a morfologia da estrutura óssea (simetria), desempenham um importante papel na caracterização da rigidez. Luo et al. (1999) demonstrou que a densidade óssea contribui apenas com cerca de 65% da variação da resistência óssea, e que acrescentando à densidade mineral óssea informações da microarquitetura e parâmetros mecânicos, pode-se aumentar o valor para 90%.

Neste sentido um estudo mais detalhado da morfometria trabecular associada ao comportamento mecânico passou a despertar um grande interesse na comunidade médica (Chapard, 1999) buscando-se medições mais apuradas para melhorar o diagnóstico e tratamento da osteoporose através de recursos mais sensíveis, não invasivos e de resposta mais rápida na avaliação das intervenções terapêuticas (Waldir, 2007).

Capítulo 8 Conclusão

A metodologia empregada mostrou ser bastante conveniente para a caracterização do osso trabecular da região lombar de vértebras humanas nos cinco subvolumes amostrais apesar da existência de regiões com fraturas visíveis e osteófitos. A análise estatística dos parâmetros morfométricos e mecânicos nos subvolumes avaliados não mostrou diferença estatística entre as medidas, o que resulta na viabilidade de se utilizar volumes menores (domínios) na interpretação dos dados morfométricos e do comportamento mecânico, os quais possibilitam processamentos computacionais mais rápidos.

Os autovalores da matriz $\mathbf{M}$ (tensor anisotropia) expressaram uma tendência da microestrutura trabecular das vértebras humanas para a simetria ortotrópica (três direções preferenciais de carregamento mecânico). A análise por Elementos Finitos para a obtenção dos módulos de Young, Poisson e Torção expressou a tendência para uma simetria transversalmente isotrópica (duas direções principais). Conclui-se que a medida do MIL (*fabric tensor*), a qual se baseia em médias, não é uma boa representação como parâmetro para a classificação da simetria dos materiais em análise.

Os resultados da análise microestrutural (3D) dessa investigação, através do microtomógrafo de raio-x de alta resolução XtremeCT (Scanco), evidenciam que os parâmetros microestruturais (fração de volume, conectividade, espessura trabecular, separação trabecular, número trabecular) e os parâmetros mecânicos (módulos de Young, Poisson e Cisalhamento) podem ser descritos em regiões locais com menores tamanhos com o objetivo de caracterização da qualidade óssea e resistência mecânica para melhorar o diagnóstico e a avaliação terapêutica das doenças do metabolismo ósseo.

No sentido de aprimorar a técnica da quantificação microestrutural e modelamento por Elementos Finitos de estruturas ósseas humanas no XtremeCT (Scanco Medical AG), os *Scripts* desenvolvidos neste trabalho possibilitaram uma extensa avaliação da microestrutura e do comportamento mecânico de ossos trabeculares.

A utilização de resoluções microtomográficas menores, e de investigações de correlações entre a microtomografia e a histomorfometria, em regiões distais da tíbia e do rádio e ulna, contribuirão para o aprimoramento da caracterização clínica da qualidade óssea no diagnóstico de doenças do metabolismo ósseo como a osteoporose.

Referências ¹

Alves, J. M. (1996). **Caracterização do tecido ósseo por ultra-som para diagnóstico de osteoporose**. Tese de Doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos, Instituto de Física, Universidade de São Paulo.

Boskey, A.; Coleman. R. (2010). Aging and Bone. **Journal of Dental Research**. 89: 1333-1348.

Buskirk, W.C.V., Cowin, S.C., Ward, R.N. (1981). Ultrasonic measurement of orthotropic elastic constants of bovine femoral bone, **Journal of Biomechanics Engineering**, 103: 67 – 72.

Carter, D.R., Hayes, W.C. (1977). The compressive behavior of bone as a two-phase porous structure, **Journal of Bone and Joint Surgery**, 59A, 954 – 962.

Chapard, D.; Legrand, E.; Pascaretti, C.; Baslé, M. F; Audran, M. (1999) “Comparison of Eight Histomorphometric Methods for Measuring Trabecular Bone Architecture by Image Analysis on Histological Sections”, **Microscopy Research and Technique**, 45, 303-312.

Cheung, A.M.; Hanley, D.A.; Kendler, D.L.; Davison, K.S.; Josse R.; Brown, J.P.; Ste Marie, L.G.; Kremer R.; Erlandson M.C.; Dian L.; Burghardt, A.J.; Boyd, S.K. (2013). High-Resolution Peripheral Quantitative Computed-Tomography for the Assesment of Bone Strength and Structure: A Review by the Canadian Bone Strength Working Group, **Current Osteoporosis Reports**, 11:136-146.

Ciarelli, M.J.; Goldstein, S.A.; Kuhn, J.L.; Cody, D.D.; Brown, M.B. (1991). Evaluation of orthogonal mechanical properties and density of human trabecular bone from the major metaphyseal regions with materials testing and computed tomography, **Journal of Orthopaedic Research**, 9:674 – 682.

Cowin, S.C. (1985). The Relationship between the elasticity tensor and the fabric tensor, **Mechanics of Material**. **Mechanics of Materials**, 4, 137-147.

Cowin, S.C.; Mehrabadi, M.M. (1987). On the identification of material symmetry for anisotropic elastic materials, **Quartely Journal of Mechanics and Applied Mathematics**, 40:451-476.

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas NBR 6023.

Cowin, S.C.; Mehrabadi, M.M. (1989). Identification of the elastic symmestry of bone and other materials, **Journal of Biomechanics**, 22(6/7):503-515.

Cowin, S.C.; Doty S.B. (2006). **Modeling Material Microstructures**. In: Tissue Mechanics, Springer.

CT-Analyser (2008): **Bone Biology User Guide**, Skyscan, Belgium.

Currey, J.D. (1969). The mechanical consequences of variation in the mineral content of bone. **Journal of Biomechanics**, 2:1 – 11.

Dalle Carbonare, L.; Valenti, M. T.; Bertoldo, F.; Zanatta, M.; Zenari, S.; Realdi, G.; Lo Cascio, V.; Giannini, S. (2005). “Bone Microarchitecture Evaluated by Histomorphometry”, **Micron**, 36: 609-616.

Depalle, B.; Chapurlat, R.; Walter-Le-Berre, H.; Bou-Said B.; Follet, H. (2012). Finite element dependence of stress evaluation for human trabecular bone. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, [http://dx.doi.org/10,1016/j.jmbbm.2012.08.012](http://dx.doi.org/10.1016/j.jmbbm.2012.08.012).

Dreossi, D.; Cosmi, E. (2007). Numerical and experimental structural analysis of trabecular architecture, **Meccanica**, 42:85-93.

Feldkamp, L.A.; Godstein, S.A.; Parfitt, A.M.; Jasion, G.; Kleerekoper, M. (1989). The direct examination of three-dimensional bone architecture in vitro by computed tomography. **Journal of Bone and Mineral Research**, 4:3 – 11.

Goldsstein, S.A.; Wilson, D.L.; Sonstegard, D.A.; Matthews, L.S. (1983). The Mechanical properties of human trabecular bone as a function of metaphyseal location. **Journal of Biomechanics**, 16: 959 – 969.

Goulet, R.W.; Goldstein, S.A.; Ciabelli, M.J.; Kuhn, J.L.; Brown, M.B.; Feldkamp, L.A. (1994). The relationship between the structural and orthogonal compressive properties of trabecular bone. **Journal of Biomechanics**, 27: 375-389.

Guilak, F. (1994). Volume and surface area of viable chondrocytes in situ using geometric modeling of serial confocal sections, **Journal of Microscopy**, 173:245-256.

Harrigan, T.; Mann, R.W. (1984). Characterization of Microstructural Anisotropy in Orthotropic Materials using a Second Rank Tensor. **Journal of Materials Science**, 19:761-767.

Hayes, M. (1969). A simple statistical approach to the measurement of the elastic constants in anisotropic media, **Journal of Materials Science**, 4:10-14.

Hildebrand, T.; Laib, A.; Muller, R.; Dequeker, J.; Ruegsegger, P. (1999). Direct Three-Dimensional Morphometric Analysis of Human Cancellous Bone: Microstructural Data from Spine, Femur Iliac Crest and Calcaneus, **Journal of Bone and Mineral Research**, 14(7): 1167-1174.

Fonseca, J. S. O.; (2002), **Mecânica dos Sólidos para a Engenharia Mecânica**. [online]http://www.gmap.mecanica.ufrgs.br/siteGmap/download/mecsol_MEC077_turmaU.pdf.

Feldkamp, L.A.; Davis, L.C.; Kress, J.W. (1984). Practical cone beam algorithm, **Journal of the Optical Society of America**

Feldkamp, L.A.; Goldstein, S.A.; Parfitt, M.; Jasion, G.; Kleerekoper, M. (1989). The direct estimation of the three-dimensional bone architecture in vitro by computed tomography, **Journal of Bone and Mineral Research**, 4 (1):3-11.

Gurtin, M.E. (1981). “**An Introduction to Continuum Mechanics**”, Academic Press.

Junqueira, L.C.; Carneiro, J.; Kelley, R.O. (1989). In: Bone, **Basic Histology**, Apleton & Lange.

Kinney, J.H.; Lane, N.E.; Haupt, D.L. (1995). In-vivo, three-dimensional microscopy of trabecular bone, **Journal of Bone and Mineral Research**, 10 (2): 264-270).

Kuhn, J.L.; Goldstein, S.A.; Feldkamp, L.A.; Goulet, R.W.; Jasion, G. (1990). Evaluation of a Microcomputed Tomography System to Study Trabecular Bone Structure, **Journal of Orthopaedic Research**, 8:833-842.

Lasso, P. R. O.; Vaz, C. M. P.; Naime, J. M. (2008). Recomendações para utilização do microtomógrafo de raios-X Sky Scan 1172 em ciências agrárias e biológicas. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 22 p. (**Embrapa Instrumentação Agropecuária. Documentos, 37**)

Lee, C.N.; Rosenfeld, A. (1987). Computing the Euler Number of a 3D image, **Proceedings of the First International Conference on Computer Vision**, 567-571.

LeMaitre, J. (2001), Elastic Properties of Bone Tissue, In: **Handbook of Materials Behavior Models**, 1048-1056.

Lima, I.; Lopes, R.T.; Oliveira, L.F.; Alves, J.M. (2009). Análise de Estrutura Óssea Através de Microtomografia Computadorizada 3D. **Revista Brasileira de Física Médica**, 2 (1), 6-10.

Lorensen, W.E.; Cline, H.E. (1987). Marching cubes: a high resolution 3D surface construction algorithm, **Computer Graphics**, 21:163-169.

Luo, G.; Kinney, J. H.; Kaufman, J. J.; Haupt, D.; Chiabrera, A.; Siffert, R. S. (1999). “Relationship Between Plain Radiographic Patterns and Three-dimensional Trabecular Architecture in The Human”, **Osteoporosis Int.**, 9: 339-345.

Macedo, A.; Cruvinel, P.; Torre Neto, A.; Crestana, S.. Construção e uso de um tomógrafo para investigação do interior de amostras com resolução micrométrica.. In: PACHECO, M T T. (Org.). **Instrumentação: Catálogo de trabalhos completos submetidos ao Grupo de Instrumentação do XIX Encontro Nacional de Física da Matéria Condensada**. 1ed.São José dos Campos: UNIVAP-ID&D, 1996, v. 1, p. 72-79.

MacNeil, J. A.; Boyd, S. K. (2008). Bone strength at the distal radius can be estimated from high-resolution peripheral quantitative computed tomography and the finite element method. **Bone**, 42(6):1203–1213.

Majumdar, S.; Bay, B.K (editors). (2000). **Noninvasive assessment of trabecular bone architecture and the competence of bone**, Editora Kluwer Academic/Plenum Publishers.

Marangalou, J. H.; Eckstein, F.; Kuhn, V.; Ito, K.; Cataldi, M.; Taddei, F.; Van Rietbergen, B. (2013). Locally measured microstructural parameters are better associated with vertebral areghth than whole bone density. **Osteoporos Int.** doi 10.1007/s00198-013-2591-3.

Mary, L.B.; Stephen, K. B.; Blaine, A. C.; Robert, E. G.; Karl, J.J.; Ralph, M. (2010). Guidelines for Assessment of Bone Microstructure in Rodents Using Micro–Computed Tomography. **Journal of Bone and Mineral Research**, Review, 25 (7): 1468-1486.

Mccreadie, B.; Goldstein, S.A. (2000). Biomechanics of fracture: is bone mineral density sufficient to assess risk? **Journal of Bone and Mineral Research**, 15 (12): 2302-2308.

Muller, R.; Hildebrand, T.; Ruegsseger, P. (1994). Non-invasive bone biopsy: a new method to analyse and display the three-dimensional structure of trabecular bone, **Physics in Medicine and Biology**, 29:145-164.

Odgaard, A.; Gundersen, H.J.G. (1991). Determination of connectivity in trabecular bone. **The International Society for Stereology**, Irvine, CA, USA.

Odgaard, A. (1997a). Three-dimensional methods for quantification of cancellous bone, **Bone**, 20(4): 315-328.

Odgaard, A.; Kabel, J.; Rietbergen, B.V.; Dalstra, M.; Huiskes, R. (1997b). Fabric and elastic principal directions of cancellous bone are closely related. **Journal of Biomechanics**, 30 (5):487-495.

Odgaard, A. (2001). Quantification of cancellous bone architecture, In: Cowin SC, **Bone Mechanics Handbook**, Informa HealthCare.

Parfitt, A. M. (1983). "Bone Histomorphometry: Techniques and Interpretation. In **The Physiologic and Clinical Significance of Bone Histomorphometric Data**. Ed. R. R. Recker, CRC Press, Boca Raton, USA. 143-224.

Parfitt, A.M.; Drezner, M.K.; Glorieux, F.H.; Kanis, J.A.; Malluche, H.; Meunier, P.J.; Ott, S.M.; Recker, R.R. (1987). Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. **Journal Bone Mineral Research**, 2 (6): 595-610.

Rice, J.C.; Cowin, S.C.; Bowman, J.A. (1988). On the dependence of elasticity and strength of cancellous bone on apparent density. **Journal of Biomechanics**, 21: 155 – 168.

Richard, A. L.; David M.L.C., Sarah A.; and Benedikt, H. (2008). Articular constraint, handedness, and directional asymmetry in the human second metacarpal. **Journal of Human Evolution**, 54 (6): 575-585.

Rietbergen, B.V.; Odgaard, A.; Kabel, J.; Huiskes, R. (1998). Relationships between bone morphology and bone elastic properties can be accurately quantified using high resolution computer reconstructions. **Journal of Orthopaedic Research**, 16: 23-28.

Rodrigues, M. E. S. (2003). **Análise do risco de fratura óssea por ultrasonometria e ensaio mecânico de compressão**. Dissertação Mestrado. Escola de Engenharia de São

Carlos/Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.

Ruegsegger, R.; Koller, B.; Muller, R. (1996). A microtomographic system for the nondestructive evaluation of bone architecture. **Calcified Tissue International**, 58:24-29.

Saha, P. K.; Gomberg, B. R.; Wehrli F. W. (2000). Three-Dimensional Digital Topological Characterization of Cancellous Bone Architecture. **John Wiley & Sons, Inc.** 11:81-90

Silva AMH. Análise Morfométrica 2D e 3D de Amostras de Osso Trabecular Utilizando Microtomografia Tridimensional por Raios-X [Dissertação]. São Carlos: Escola de Engenharia de São Carlos, 2009.

Silva, A.M.H.; Alves, J. M.; da Silva, O. L.; Junior, N. F. S. (2014). Two and Three-dimensional Morphometric Analysis of Trabecular Bone Using X-ray Microtomography (μ CT). **Brazilian Journal of Biomedical Engineering**, 30(1), 1-9.

Savassi, W. “**Introdução ao método dos elementos finitos em análise linear de estruturas**”. [EESC], 260p, 2000.

Soriano, H. L. “**Método de Elementos Finitos em Análise de Estruturas**”. [Edusp], 580p, 2003.

Vivacqua, C.F.P.P.(2011); **Propriedades mecânicas em flexão e torção do osso cortical bovino**. Dissertação de Mestrado. Ciência dos Materiais, Instituto Militar de Engenharia

Waldir, L. R.; Antonio, C. A. S.; Denis, X. B.; Felix, C. R. (2007). Um Sistema Computacional Baseado no Processamento de Imagens Tomográficas para Estudo da Estrutura Trabecular. **VII Workshop de Informática Médica – WIM**. 156-165.

Willians, J.L.; Lewis, J.L. (1982). Properties and anisotropic model of cancellous bone from the proximal tibial epiphysis. **Journal of Biomedical Engineering**, 104: 169 – 173.

Whitehouse, W.J.; Dyson, E.D. (1974). Scanning Electron Microscope Studies of Trabecular Bone in the Proximal End of the Human Femur. **Journal of Anatomy**, 118: 417-444.

Whitehouse, W.J. (1974). The Quantitative Morphology of Anisotropic Trabecular Bone. **Journal of Microscopy**, 101:153-168.

Yang, G.; Kabel, J.; Rietbergen, B.V.; Odgaard, A.; Huiskes, R.; Cowin, S.C. (1999). The anisotropic Hooke's Law for Cancellous Bone and Wood, **Journal of Elasticity**, 53:125-146.

Anexos

Anexo A (Script Cutout)

Processamento para a extração dos cubos de todos os segmentos de vértebra. (Submit_All_Cutout)

```

$!
$ QUEUE_NAME := SYS$FAST
$ SCRIPT = "DISK4:[BONELAB.PROJECTS.ALESSANDRO.COM]IPL_CUTOUT.COM"
$ MODEL_DIR = "DISK4:[BONELAB.PROJECTS.ALESSANDRO.MODELS]"
$ LOG_DIR = "DISK4:[BONELAB.PROJECTS.ALESSANDRO.LOG]"
$!
$! GO TO TEST
$ GO TO START
$!
$!
$TEST:
$ FILE := "C0011068"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.ISQ) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUTOUT.LOG)
$!
$ EXIT
$!
$START:
$ FILE := "C0011068"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.ISQ) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUTOUT.LOG)
$ FILE := "C0011069"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.ISQ) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUTOUT.LOG)
$ FILE := "C0012342"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.ISQ) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUTOUT.LOG)
$ FILE := "C0012343"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.ISQ) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUTOUT.LOG)
$ FILE := "C0012344"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.ISQ) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUTOUT.LOG)
$ FILE := "C0012345"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.ISQ) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUTOUT.LOG)
$ FILE := "C0012361"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.ISQ) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUTOUT.LOG)
$ FILE := "C0012367"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.ISQ) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUTOUT.LOG)
$ FILE := "C0012368"

```

```

$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.ISQ) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUTOUT.LOG)
$ FILE := "C0012369"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.ISQ) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUTOUT.LOG)
$ EXIT

```

Image Processing Language - IPL_Cutout

```

$!      _/_/_/_/_/_/_/_
$!      _/_/_/_/_      Image Processing Language
$!      _/_/_/_/_
$!      _/_/_/_/_      (c) Tor Hildebrand, IBT/ETH Zürich
$!      _/_/_/_/_      Andres Laib, Scanco Medical
$!
$!
$!
$! IPL Batch Scanco
$!
$!
$! Step #1 is to extract the AIM cube from ISQ files
$!
$!
$ FILENAME = F$PARSE("P1",,"NAME")
$ DEV      = F$PARSE("P1",,"DEVICE")
$ DIR      = F$PARSE("P1",,"DIRECTORY")
$!
$ ISQ_FILENAME      := 'DEV"DIR"FILENAME'.ISQ
$ ORG_FILENAME      := 'DEV"DIR"FILENAME'.AIM
$ GOBJ_FILENAME     := 'DEV"DIR"FILENAME'.GOBJ
$!
$ def isq_filename   'ISQ_FILENAME'
$ def org_filename   'ORG_FILENAME'
$ def gobj_filename  'GOBJ_FILENAME'
$!
$ set noverify
$ write sys$output ""
$ write sys$output "INPUT:"
$ write sys$output "*ISQ File:      "ISQ_FILENAME""
$ write sys$output " GOBJ File:      "GOBJ_FILENAME""
$ write sys$output ""
$ write sys$output "OUTPUT:"
$ write sys$output " AIM File:      "ORG_FILENAME""
$ write sys$output ""
$!
$ ipl_scanco_prog := $um:ipl_scanco_fe.exe
$!
$ ON ERROR THEN EXIT
$ ipl_scanco_prog

```

```
!
! Read the ISQ file and cut out an AIM
!
```

```
/db_sanco_activate false
```

```
/isq_to_aim
-aim_name          in
-isq_filename      isq_filename
```

```
/gobj_maskaimpeel_ow
-input_output      in
-gobj_filename     gobj_filename
-peel_iter         0
```

```
/bounding_box_cut
-input            in
-output          out
-z_only          false
-border          2 2 2
```

```
/write out org_filename
-compress bin
```

```
..
$ EXIT
```

Anexo B (Script Cubes)

Processamento para a extração dos subvolumes de todos os cubos extraídos dos segmentos de vértebra. (Submit_All_Cubes)

```
$!
$ QUEUE_NAME ::= SYS$FAST
$ SCRIPT = "DISK4:[BONELAB.PROJECTS.ALESSANDRO.COM]IPL_CUBES.COM"
$ MODEL_DIR = "DISK4:[BONELAB.PROJECTS.ALESSANDRO.MODELS]"
$ LOG_DIR = "DISK4:[BONELAB.PROJECTS.ALESSANDRO.LOG]"
$!
$! GOTO TEST
$ GOTO START
$!
$!
$TEST:
$ FILE := "C0011068"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.AIM) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUBES.LOG)
$!
$ EXIT
$!
$START:
```

```

$ FILE := "C0011068"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.AIM) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUBES.LOG)
$ FILE := "C0011069"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.AIM) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUBES.LOG)
$ FILE := "C0012342"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.AIM) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUBES.LOG)
$ FILE := "C0012343"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.AIM) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUBES.LOG)
$ FILE := "C0012344"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.AIM) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUBES.LOG)
$ FILE := "C0012345"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.AIM) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUBES.LOG)
$ FILE := "C0012361"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.AIM) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUBES.LOG)
$ FILE := "C0012367"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.AIM) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUBES.LOG)
$ FILE := "C0012368"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.AIM) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUBES.LOG)
$ FILE := "C0012369"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'.AIM) /LOG=('LOG_DIR"FILE'_CUBES.LOG)
$ EXIT

```

Image Processing Language - IPL_Cubes

```

$!
$!  _/_/_/_/_/_/_/_
$!  _/_/_/_/_/_/_/_  Image Processing Language
$!  _/_/_/_/_/_/_/_
$!  _/_/_/_/_/_/_/_  (c) Tor Hildebrand, IBT/ETH Zürich
$!  _/_/_/_/_/_/_/_  Andres Laib, Scanco Medical
$!
$!
$!
$! IPL Batch Scanco
$!
$! Step #2 is to read the AIM and create multiple sized thresholded AIM files
$!
$ FILENAME = F$PARSE("P1",,"NAME")
$ DEV      = F$PARSE("P1",,"DEVICE")
$ DIR      = F$PARSE("P1",,"DIRECTORY")

```



```

$!
$ ORG_FILENAME      := 'DEV"DIR"FILENAME'.AIM
$ SEG_FILENAME      := 'DEV"DIR"FILENAME'_SEG.AIM
$ GOBJ_FILENAME     := 'DEV"DIR"FILENAME'.GOBJ
$!
$ def org_filename   'ORG_FILENAME'
$ def seg_filename   'SEG_FILENAME'
$ def gobj_filename  'GOBJ_FILENAME'
$!
$ SEG_FILENAME_100   := 'DEV"DIR"FILENAME'_100_SEG.AIM
$ SEG_FILENAME_080   := 'DEV"DIR"FILENAME'_080_SEG.AIM
$ SEG_FILENAME_060   := 'DEV"DIR"FILENAME'_060_SEG.AIM
$ SEG_FILENAME_040   := 'DEV"DIR"FILENAME'_040_SEG.AIM
$ SEG_FILENAME_020   := 'DEV"DIR"FILENAME'_020_SEG.AIM
$!
$ def seg_filename_100 'SEG_FILENAME_100'
$ def seg_filename_080 'SEG_FILENAME_080'
$ def seg_filename_060 'SEG_FILENAME_060'
$ def seg_filename_040 'SEG_FILENAME_040'
$ def seg_filename_020 'SEG_FILENAME_020'
$!
$ sigma := 1.2
$ support := 2
$ thres := 92
$!
$ set noverify
$ write sys$output ""
$ write sys$output "INPUT:"
$ write sys$output "*ORG File:      "ORG_FILENAME"
$ write sys$output " GOBJ File:      "GOBJ_FILENAME"
$ write sys$output ""
$ write sys$output "OUTPUT:"
$ write sys$output " SEG File:      "SEG_FILENAME"
$ write sys$output " SEG 100 File:   "SEG_FILENAME_100"
$ write sys$output " SEG  80 File:   "SEG_FILENAME_080"
$ write sys$output " SEG  60 File:   "SEG_FILENAME_060"
$ write sys$output " SEG  40 File:   "SEG_FILENAME_040"
$ write sys$output " SEG  20 File:   "SEG_FILENAME_020"
$ write sys$output ""
$ write sys$output "PARAMETERS:"
$ write sys$output " sigma          = " + F$STRING(sigma)
$ write sys$output " support        = " + F$STRING(support)
$ write sys$output " thres          = " + F$STRING(thres)
$ write sys$output ""
$!
$!
$ ipl_sanco_prog := $um:ipl_sanco_fe.exe
$!
$!
$ ON ERROR THEN EXIT

```

```

$ ipl_sanco_prog

!
! First create the master segmented AIM file
!

/db_sanco_activate false

/read
-name          org
-filename      org_filename

/seg_gauss
-input         org
-output        seg
-sigma         "sigma
-support       "support
-lower_in_perm_aut_al  "thres
-upper_in_perm_aut_al  100000.00000
-value_in_range  127
-unit          0

/gobj_maskaimpeel_ow
-input_output   seg
-gobj_filename  gobj_filename
-peel_iter      0

/write seg seg_filename
-compress bin

..
$ ON ERROR THEN CONTINUE
$ write sys$output " Creating cube: "SEG_FILENAME_100"
$ ipl_sanco_prog

!
! Create 100 cube
!

/db_sanco_activate false

/read
-name          seg
-filename      seg_filename

/sub_get
-input         seg
-output        sub
-pos           -1 -1 -1
-dim           226 226 226

```

```

-global_pos_flag      false

/write
-name                 sub
-filename              seg_filename_100

/examine               seg_filename_100
..
$ ON ERROR THEN CONTINUE
$ write sys$output " Creating cube: "SEG_FILENAME_080"
$ ipl_sanco_prog

!
! Create 80 cube
!

/db_sanco_activate false

/read
-name                 seg
-filename              seg_filename

/sub_get
-input                seg
-output               sub
-pos                  20 20 20
-dim                   181 181 181
-global_pos_flag      false

/write
-name                 sub
-filename              seg_filename_080

/examine               seg_filename_080

..
$ ON ERROR THEN CONTINUE
$ write sys$output " Creating cube: "SEG_FILENAME_060"
$ ipl_sanco_prog

!
! Create 60 cube
!

/db_sanco_activate false

/read
-name                 seg
-filename              seg_filename

```

```

/sub_get
-input          seg
-output         sub
-pos            40 40 40
-dim            136 136 136
-global_pos_flag      false

/write
-name           sub
-filename       seg_filename_060

/examine        seg_filename_060

..
$ ON ERROR THEN CONTINUE
$ write sys$output " Creating cube: "SEG_FILENAME_040"
$ ipl_sanco_prog

!
! Create 40 cube
!

/db_sanco_activate false

/read
-name           seg
-filename       seg_filename

/sub_get
-input          seg
-output         sub
-pos            60 60 60
-dim            90 90 90
-global_pos_flag      false

/write
-name           sub
-filename       seg_filename_040

/examine        seg_filename_040

..
$ ON ERROR THEN CONTINUE
$ write sys$output " Creating cube: "SEG_FILENAME_020"
$ ipl_sanco_prog

!
! Create 20 cube
!
```

```
/db_scanco_activate false
```

```
/read
```

```
-name          seg  
-filename      seg_filename
```

```
/sub_get
```

```
-input         seg  
-output        sub  
-pos           80 80 80  
-dim           45 45 45  
-global_pos_flag false
```

```
/write
```

```
-name          sub  
-filename      seg_filename_020
```

```
/examine      seg_filename_020
```

```
..
```

```
$ EXIT
```

Anexo C (Script Eval)

Processamento para o cálculo dos parâmetros morfométricos em todos os subvolumes extraídos dos segmentos de vértebra. (Submitt_All_Eval)

```
$!
$ QUEUE_NAME := SYS$FAST
$ SCRIPT = "DISK4:[BONELAB.PROJECTS.ALESSANDRO.COM]IPL_EVAL.COM"
$ MODEL_DIR = "DISK4:[BONELAB.PROJECTS.ALESSANDRO.MODELS]"
$ LOG_DIR = "DISK4:[BONELAB.PROJECTS.ALESSANDRO.LOG]"
$!
$! GOTO TEST
$ GOTO START
$!
$!
$TEST:
$ FILE := "C0011068_100"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$!
$ EXIT
$!
$START:
$ FILE := "C0012342_100"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012342_080"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012342_060"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012342_040"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012342_020"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012343_100"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012343_080"
```

```

$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012343_060"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012343_040"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012343_020"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012344_100"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012344_080"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012344_060"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012344_040"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012344_020"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012345_100"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012345_080"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012345_060"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012345_040"

```

```

$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012345_020"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012361_100"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012361_080"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012361_060"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012361_040"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012361_020"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012367_100"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012367_080"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012367_060"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012367_040"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012367_020"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012368_100"

```



```

$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012368_080"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012368_060"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012368_040"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012368_020"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012369_100"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012369_080"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012369_060"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012369_040"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)
$ FILE := "C0012369_020"
$ SUBMIT/QUEUE='QUEUE_NAME'/NOPRINT/LOG=SYS$SCRATCH:'FILE'.LOG
'SCRIPT'/PARAM=('MODEL_DIR"FILE'_SEG.AIM)
/LOG=('LOG_DIR"FILE'_EVAL.LOG)

$ EXIT

```

Image Processing Language - IPL_Eval

```

$!
$!  _/_/_  _/_/_  _/
$!  _/  _/  _/  _/  Image Processing Language
$!  _/  _/_/_  _/
$!  _/  _/  _/  (c) Tor Hildebrand, IBT/ETH Zürich
$!  _/_/_  _/  _/_/_/  Andres Laib, Scanco Medical

```

```

$!
$!
$!
$! IPL Batch Scanco
$!
$! Step #3 is to read the segmented AIM and perform an analysis
$!
$ FILENAME = F$PARSE("P1",,,,"NAME")
$ DEV    = F$PARSE("P1",,,,"DEVICE")
$ DIR    = F$PARSE("P1",,,,"DIRECTORY")
$!
$ SEG_FILENAME    := 'DEV"DIR"FILENAME'.AIM
$!
$ def seg_filename    'SEG_FILENAME'
$!
$ set noverify
$ write sys$output ""
$ write sys$output "INPUT:"
$ write sys$output "*SEG File:      "SEG_FILENAME""
$ write sys$output ""
$ write sys$output "OUTPUT:"
$ write sys$output " None"
$ write sys$output ""
$!
$!
$ ipl_scanco_prog := $um:ipl_scanco_fe.exe
$!
$!
$ ON ERROR THEN EXIT
$ ipl_scanco_prog

/db_scanco_activate false

/read seg "seg_filename

/vox_scanco_param
-input      seg

! SMI, Surface and mean directions
/tri_da_metric_db
-input      seg
-output     tri
-gobj_filename    none
-peel_iter        -1
-ip_sigma         0.000000
-ip_support       0
-ip_threshold     50
-nr_ave_iter      2
-t_dir_radius     2
-epsilon         1.200000

```

```

-size_image      512 512
-scale_image     0.700000
-edges           false
-nr_views        0

```

```

!..
!$ ON ERROR THEN CONTINUE
!$ ipl_sanco_prog
!/db_sanco_activate false

```

```

! Trabecular Thickness
/dt_object_param
-input           seg
-output          out
-gobj_filename   none
-peel_iter       -1
-roi_radius_factor 10000.000000
-ridge_epsilon   0.900000
-assign_epsilon  1.800000
-version2        true
-histofile_or_screen none

```

```

!..
!$ ON ERROR THEN CONTINUE
!$ ipl_sanco_prog
!/db_sanco_activate false

```

```

! Trabecular Separation
/dt_background_param
-input           seg
-output          out
-gobj_filename   none
-peel_iter       -1
-roi_radius_factor 10000.000000
-ridge_epsilon   0.900000
-assign_epsilon  1.800000
-version2        true
-histofile_or_screen none

```

```

!..
!$ ON ERROR THEN CONTINUE
!$ ipl_sanco_prog
!/db_sanco_activate false

```

```

! Trabecular Number
/dt_mat_param
-input           seg
-output          out
-gobj_filename   none
-peel_iter       -1

```

```

-roi_radius_factor      10000.000000
-ridge_epsilon          0.900000
-assign_epsilon         1.800000
-version2               true
-histofile_or_screen    none

```

```

!..
!$ ON ERROR THEN CONTINUE
!$ ipl_sanco_prog
!/db_sanco_activate false

```

```

! Connectivity
/connectivity
-in_out                seg

```

```

!..
!$ ON ERROR THEN CONTINUE
!$ ipl_sanco_prog
!/db_sanco_activate false

```

```

! MIL
/mil_param
-input                seg
-ray_plane_scale      2.000000
-roi_radius_factor    1.000000
-t_dir_ortho          no
-t_dir_ortho_nr        8
-t_dir_radius         2
-fabric_tensor        yes

```

```

..
$ EXIT

```

Anexo D

(Script modelamento por elementos finitos)

microct@TheGNU:~/Alessandro\$ n88directmechanics C0011069_020_SEG.AIM
 n88directmechanics version 6.0-pre5
 Copyright (c) 2012, Numerics88 Solutions Ltd.

input_file = C0011069_020_SEG.AIM
 material_table = homogeneous
 isotropic_youngs_modulus = 6829.0
 isotropic_poissons_ratio = 0.3
 connectivity_filter = on

0.00 Reading image file C0011069_020_SEG.AIM
 0.00 Read 97336 points from image file.
 0.00 Applying connectivity filter.
 0.00 Masked out 946 unconnected voxels.
 0.00 Converting to hexahedral cells.
 0.01 Generated 14491 hexahedrons
 0.01 Creating material table.
 0.01 Creating three uniaxial models.
 0.03 Writing n88 model file: C0011069_020_SEG_strain_xx.n88model
 0.23 Writing n88 model file: C0011069_020_SEG_strain_yy.n88model
 0.43 Writing n88 model file: C0011069_020_SEG_strain_zz.n88model
 0.60 Creating three symshear models.
 0.63 Writing n88 model file: C0011069_020_SEG_strain_yz.n88model
 0.82 Writing n88 model file: C0011069_020_SEG_strain_zx.n88model
 1.02 Writing n88 model file: C0011069_020_SEG_strain_xy.n88model
 1.20 Calling solver on C0011069_020_SEG_strain_xx.n88model
 11.24 Calling solver on C0011069_020_SEG_strain_yy.n88model
 20.58 Calling solver on C0011069_020_SEG_strain_zz.n88model
 29.85 Calling solver on C0011069_020_SEG_strain_yz.n88model
 36.31 Calling solver on C0011069_020_SEG_strain_zx.n88model
 44.38 Calling solver on C0011069_020_SEG_strain_xy.n88model
 52.75 Reading n88 model file: C0011069_020_SEG_strain_xx.n88model
 52.77 Reading n88 model file: C0011069_020_SEG_strain_yy.n88model
 52.78 Reading n88 model file: C0011069_020_SEG_strain_zz.n88model
 52.80 Reading n88 model file: C0011069_020_SEG_strain_yz.n88model
 52.81 Reading n88 model file: C0011069_020_SEG_strain_zx.n88model
 52.82 Reading n88 model file: C0011069_020_SEG_strain_xy.n88model

Volume fraction = 0.15903

Apparent stiffness matrix in specimen coordinate system

```
[[ 157.007  40.886  15.173  -2.208   8.605   6.836]
 [  40.886 202.141   9.611 -15.755   2.284  17.426]
 [  15.173   9.611 138.83  10.583 -11.053   5.01 ]
```

```
[ -2.208 -15.755 10.583 69.698 -0.313 0.842]
[ 8.605 2.284 -11.053 -0.313 86.67 1.132]
[ 6.836 17.426 5.01 0.842 1.132 82.81 ]]
```

Apparent compliance matrix in specimen coordinate system

```
[[ 6.831e-03 -1.318e-03 -7.070e-04 2.549e-05 -7.305e-04 -2.341e-04]
[ -1.318e-03 5.413e-03 -2.906e-04 1.238e-03 -3.099e-05 -1.025e-03]
[ -7.070e-04 -2.906e-04 7.487e-03 -1.216e-03 1.033e-03 -3.353e-04]
[ 2.549e-05 1.238e-03 -1.216e-03 1.482e-02 -1.323e-04 -3.379e-04]
[ -7.305e-04 -3.099e-05 1.033e-03 -1.323e-04 1.174e-02 -1.549e-04]
[ -2.341e-04 -1.025e-03 -3.353e-04 -3.379e-04 -1.549e-04 1.234e-02]]
```

Material parameters in specimen coordinate system

```
-----
Exx = 146.39
Eyy = 184.76
Ezz = 133.56
Gyz = 67.49
Gzx = 85.15
Gxy = 81.06
```

```
-----
nu_yx = 0.24345
nu_zx = 0.09443
nu_xy = 0.19289
nu_zy = 0.03880
nu_xz = 0.10350
nu_yz = 0.05368
-----
```

Optimum rotation matrix R:

```
[[ 0.54081 0.84094 0.0187 ]
[ 0.80727 -0.51265 -0.29241]
[-0.23631 0.17323 -0.95611]]
```

Apparent stiffness matrix in best orthotropic coordinate system

```
[[ 225.63 18.869 22.923 -11.471 8.206 -0.785]
[ 18.869 157.217 16.788 -0.045 7.812 -3.382]
[ 22.923 16.788 129.309 -1.312 -6.448 1.043]
[ -11.471 -0.045 -1.312 89.704 3.077 4.461]
[ 8.206 7.812 -6.448 3.077 78.368 -4.287]
[ -0.785 -3.382 1.043 4.461 -4.287 64.017]]
```

Apparent compliance matrix in best orthotropic coordinate system

```
[[ 4.597e-03 -4.431e-04 -7.774e-04 5.959e-04 -5.263e-04 -3.117e-05]
[ -4.431e-04 6.539e-03 -8.060e-04 -5.836e-05 -6.523e-04 3.136e-04]
[ -7.774e-04 -8.060e-04 8.017e-03 -4.144e-06 8.146e-04 -1.278e-04]]
```

```
[ 5.959e-04 -5.836e-05 -4.144e-06  1.128e-02 -5.447e-04 -8.184e-04]
[ -5.263e-04 -6.523e-04  8.146e-04 -5.447e-04  1.302e-02  8.554e-04]
[ -3.117e-05  3.136e-04 -1.278e-04 -8.184e-04  8.554e-04  1.575e-02]]
```

Material parameters in best orthotropic coordinate system

```
-----
Exx = 217.51
Eyy = 152.93
Ezz = 124.73
Gyz = 88.63
Gzx = 76.83
Gxy = 63.48
```

```
-----
nu_yx = 0.06776
nu_zx = 0.09697
nu_xy = 0.09638
nu_zy = 0.10054
nu_xz = 0.16910
nu_yz = 0.12327
-----
```

53.32 Done.

Anexo E

(Graphical Objets – GOBJ e *Thresholds* para as Vértébras)

Espécime C0011069 - GOBJ (L3); *Threshold* 92; 82 μ m resolução

Espécime C0011069 - GOBJ (L4); *Threshold 92; 82μm resolução*

Espécime C0011069 - GOBJ (L5); *Threshold 92; 82μm resolução*

Espécime C0012342 - GOBJ (L3); Threshold 80; *Slice 1160*; 82µm resolução

Espécime C0012342 - GOBJ (L4); Threshold 80; *Slice 737*; 82µm resolução

μCT Evaluation Program V6.5-3

File Edit Zoom Tasks LUT Options Scripts

XY XZ YZ 0V XZ YZ XYZ 3D SCV 1...1099

DEFAULT PATIENT

5.0 mm

Z: 864 864 Load

P1 X/Y/Z [p]: 627 258 864
P2 X/Y/Z [p]: 874 505 864
Vol [p]: 248x248
Area [cm³]: 4.1355

3D-Evaluation

Task: 4: 3D Segmentation of VOI, 1 solid object Select...

VOI Start: Dim: Segmentation:
X: 627 248 1/1000
Y: 258 248 Default VOI
Z: 716 265

1,0 2
Gauss Sigma Gauss Support
80 1000
Lower Threshold Upper Threshold
Preview Grayscale Reset

Start Evaluation Close Window

-337.5 73.9% 26.1%

Espécime C0012343 - GOBJ (L5); Threshold 80; *Slice 371*; 82 μ m resolução

Espécime C0012344 - GOBJ (L4); Threshold 80; *Slice 733*; 82 μ m resolução

Espécime C0012344 - GOBJ (L5); Threshold 80; *Slice* 346; 82μm resolução

Espécime C0012367 - GOBJ (L4); Threshold 92; 82μm resolução

Espécime C0012367 - GOBJ (L5); Threshold 92; 82 μ m resolução

Anexo F

(Tabelas dos Espécimes com 82 µm de resolução)

Tabela 27 - Espécime C0011069 (L3)

Parâmetros	100%	80%	60%	40%	20%
BV (mm³)	1298,73	618,73	266,53	81,28	8,51
TV (mm³)	6364,54	3269,47	1386,94	401,95	50,24
BS (mm²)	10122,68	5001,16	2104,84	596,53	61,44
BV/TV (%)	0,20	0,19	0,19	0,20	0,17
BS/BV (1/mm)	8,07	8,51	8,33	7,79	7,86
Conn.D (1/mm³)	0,90	0,86	0,85	0,85	0,62
SMI	2,50	2,62	2,60	2,59	2,88
Tb.Th (mm)	0,36	0,34	0,35	0,35	0,34
Tb.Sp (mm)	0,95	0,94	0,93	0,98	0,80
Tb.N (1/mm)	0,99	1	0,99	0,95	1,21
DA	1,6	1,63	1,63	1,5	1,41
H1	2,71	2,39	1,97	1,89	1,69
H2	4,33	3,90	3,21	2,83	2,39
H3	3,20	2,89	2,44	2,39	2,00
E_{xx} (MPa)	68,92	63,76	84,49	134,64	146,39
E₁ (MPa)	36,85	47,96	64,74	113,24	217,51
E_{yy} (MPa)	32,83	46,63	63,86	114,72	184,76
E₂ (MPa)	166,92	139,47	190,25	249,54	152,93
E_{zz} (MPa)	138,85	117,84	178,97	215,59	133,56
E₃ (MPa)	95,57	64,12	86,01	149,39	124,73
G_{yz} (MPa)	38,75	32,71	40,6	62,25	67,49
G₂₃ (MPa)	38,22	37,4	48,46	66,7	88,63
G_{zx} (MPa)	36,37	39,06	49,64	84,62	85,15
G₃₁ (MPa)	21,95	33,58	41,38	55,92	76,83
G_{xy} (MPa)	32,96	32,61	40,92	59,68	81,06
G₁₂ (MPa)	34,38	29,14	38,58	70,10	63,48
v_{yx}	0,079	0,171	0,149	0,119	0,243
v₂₁	0,004	0,035	0,069	0,129	0,068
v_{zx}	0,107	0,171	0,232	0,097	0,094
v₃₁	-0,095	0,258	0,212	0,096	0,097
v_{xy}	0,167	0,234	0,197	0,139	0,193
v₁₂	0,001	0,012	0,023	0,059	0,096
v_{zy}	0,099	0,148	0,118	0,104	0,039
v₃₂	0,056	0,071	0,094	0,027	0,101
v_{xz}	0,053	0,092	0,109	0,061	0,104
v₁₃	-0,037	0,193	0,159	0,073	0,169
v_{yz}	0,023	0,058	0,042	0,055	0,054
v₂₃	0,097	0,154	0,207	0,044	0,123

Obs: Sistema de Coordenadas da Amostra (x, y, z) e Sistema Rotacionado nas direções principais (1,2,3).

Tabela 28 – Espécime C0011069 (L4)

Parâmetros	100%	80%	60%	40%	20%
BV (mm³)	2032,18	1047,76	421,73	113,58	13,69
TV (mm³)	5773,14	3269,47	1386,94	401,95	50,24
BS (mm²)	10038,72	5607,16	2449,16	704,23	78,14
BV/TV (%)	0,35	0,32	0,30	0,28	0,27
BS/BV (1/mm)	4,92	5,42	5,93	6,39	6,11
Conn.D (1/mm³)	0,95	0,95	1,03	1,05	0,89
SMI	1,59	1,83	1,93	1,93	2,00
Tb.Th (mm)	0,53	0,47	0,44	0,41	0,41
Tb.Sp (mm)	0,86	0,85	0,83	0,83	0,99
Tb.N (1/mm)	1,05	1,05	1,06	1,05	1,00
DA	1,25	1,27	1,31	1,35	1,30
H1	1,05	1,04	1,00	1,04	1,27
H2	1,31	1,33	1,31	1,40	1,65
H3	1,14	1,13	1,10	1,17	1,51
Exx (MPa)	784,29	654,48	496,44	293,28	358,81
E₁ (MPa)	808,1	668,95	521,95	596,06	712,54
Eyy (MPa)	504,6	367,33	282,57	280,1	277,61
E₂ (MPa)	532,59	443,56	416,92	310,31	390,12
Ezz (MPa)	286,88	373,75	400,81	587,59	707,57
E₃ (MPa)	289,54	367,83	283,22	270,2	256,26
Gyz (MPa)	207,71	205,93	173,64	153,63	209,65
G₂₃ (MPa)	198,44	177,35	173,91	127,83	159,48
Gzx (MPa)	209,69	209,41	197,11	200,12	246,55
G₃₁ (MPa)	206,1	210,93	178,48	153,35	207,09
Gxy (MPa)	301,96	248	183,23	130,44	157,95
G₁₂ (MPa)	298,38	238,11	187,16	200,41	254,79
v_{yx}	0,156	0,153	0,148	0,19	0,095
v₂₁	0,165	0,161	0,076	0,09	0,131
v_{zx}	0,049	0,083	0,1	0,163	0,249
v₃₁	0,041	0,089	0,14	0,065	0,074
v_{xy}	0,247	0,273	0,26	0,2	0,123
v₁₂	0,251	0,243	0,095	0,171	0,24
v_{zy}	0,031	0,053	0,108	0,153	0,182
v₃₂	0,015	-0,02	0,076	0,175	0,092
v_{xz}	0,134	0,146	0,124	0,081	0,126
v₁₃	0,115	0,162	0,258	0,144	0,205
v_{yz}	0,055	0,052	0,076	0,073	0,071
v₂₃	0,028	-0,024	0,111	0,2	0,14

Obs: Sistema de Coordenadas da Amostra (x, y, z) e Sistema Rotacionado nas direções principais (1,2,3).

Tabela 29 - Espécime C0011069 (L5)

Parâmetros	100%	80%	60%	40%	20%
BV (mm³)	2294,98	1311,38	524,91	125,97	12,05
TV (mm³)	5519,69	3179,15	1386,94	401,95	50,24
BS (mm²)	11185,75	6407,86	2738,33	734,75	72,37
BV/TV (%)	0,42	0,41	0,38	0,31	0,24
BS/BV (1/mm)	4,81	4,86	5,27	6,00	6,43
Conn.D (1/mm³)	1,28	1,30	1,29	1,15	0,83
SMI	0,73	0,70	1,08	1,62	2,09
Tb.Th (mm)	0,51	0,49	0,45	0,42	0,39
Tb.Sp (mm)	0,77	0,75	0,77	0,83	0,82
Tb.N (1/mm)	1,12	1,15	1,11	1,06	1,05
DA	1,20	1,21	1,24	1,25	1,30
H1	0,91	0,91	0,93	0,97	1,12
H2	1,09	1,10	1,15	1,21	1,46
H3	1,00	1,00	1,04	1,08	1,30
Exx (MPa)	859,34	898,22	731,58	427,24	237,46
E₁ (MPa)	908,14	970,93	818,25	656,27	612,15
Eyy (MPa)	621	705,19	547,83	376,9	155,94
E₂ (MPa)	801,22	843,1	677,12	472,74	347,86
Ezz (MPa)	810,43	860,81	716,39	631,5	572,34
E₃ (MPa)	588,98	691,89	539,8	380,45	230,69
Gyz (MPa)	318,46	334,82	314,05	219,34	168,81
G₂₃ (MPa)	310,67	323,92	292,3	170,06	71,19
Gzx (MPa)	319,62	345,87	321,91	235,54	166,5
G₃₁ (MPa)	314,93	343,21	302,38	217,31	145,35
Gxy (MPa)	306,03	351,38	297,61	193,88	137,86
G₁₂ (MPa)	326,38	358,89	333,78	243,92	188,25
v_{yx}	0,145	0,17	0,158	0,185	0,323
v₂₁	0,127	0,125	0,099	0,135	0,12
v_{zx}	0,125	0,112	0,091	0,142	0,221
v₃₁	0,153	0,159	0,166	0,122	0,022
v_{xy}	0,201	0,217	0,211	0,209	0,492
v₁₂	0,144	0,144	0,12	0,188	0,212
v_{zy}	0,206	0,189	0,208	0,18	-0,033
v₃₂	0,143	0,136	0,127	0,09	0,045
v_{xz}	0,133	0,117	0,093	0,096	0,092
v₁₃	0,237	0,223	0,252	0,211	0,058
v_{yz}	0,158	0,154	0,159	0,107	-0,009
v₂₃	0,195	0,166	0,159	0,112	0,069

Obs: Sistema de Coordenadas da Amostra (x, y, z) e Sistema Rotacionado nas direções principais (1,2,3).

Tabela 30 - Espécime C0012342 (L3)

Parâmetros	100%	80%	60%	40%	20%
BV (mm³)	980,33	571,74	293,18	95,08	12,37
TV (mm³)	5181,75	2962,39	1386,94	401,95	50,24
BS (mm²)	7430,77	4381,25	2259,71	719,74	92,70
BV/TV (%)	0,19	0,19	0,21	0,24	0,25
BS/BV (1/mm)	7,79	7,96	8,01	7,94	8,08
Conn.D (1/mm³)	0,70	0,77	0,93	1,18	1,22
SMI	2,53	2,51	2,32	2,11	2,03
Tb.Th (mm)	0,36	0,35	0,34	0,34	0,31
Tb.Sp (mm)	1,00	0,94	0,86	0,80	0,68
Tb.N (1/mm)	0,97	1,01	1,09	1,15	1,37
DA	1,26	1,28	1,28	1,24	1,23
H1	1,17	1,10	1,05	1,00	0,93
H2	1,47	1,41	1,34	1,25	1,14
H3	1,27	1,19	1,12	1,08	1,00
Exx (MPa)	90,13	111,63	147,69	198,75	207,06
E₁ (MPa)	7,38	113,07	157,21	101,2	164,69
Eyy (MPa)	2,49	28,62	50,92	84,27	166,53
E₂ (MPa)	92,6	29,59	149,28	323,45	366,06
Ezz (MPa)	3,38	7,77	104,63	241,03	367,43
E₃ (MPa)	2,19	7,43	79,09	208,52	210,09
Gyz (MPa)	9,61	33,43	71,28	103,29	168,78
G₂₃ (MPa)	36,3	47,14	56,56	108,59	152,38
Gzx (MPa)	27,43	44,72	65,8	117,18	154,18
G₃₁(MPa)	2,93	45,89	28,98	67,43	106,51
Gxy (MPa)	21,7	50,43	52,02	66,19	107,12
G₁₂(MPa)	35,52	49,58	59,56	63,14	173,02
v_{yx}	0,018	0,082	0,091	0,075	0,123
v₂₁	0,797	0,079	0,12	0,007	0,395
v_{zx}	0,027	0,028	0,094	0,198	0,292
v₃₁	-0,526	0,029	-0,186	0,193	0,149
v_{xy}	0,665	0,321	0,263	0,178	0,153
v₁₂	0,064	0,3	0,127	0,002	0,178
v_{zy}	-0,601	-0,069	0,287	0,371	0,377
v₃₂	0,035	-0,05	0,145	0,139	0,163
v_{xz}	0,709	0,4	0,133	0,163	0,165
v₁₃	-1,772	0,433	-0,37	0,094	0,117
v_{yz}	-0,443	-0,255	0,14	0,13	0,171
v₂₃	1,496	-0,199	0,274	0,216	0,285

Obs: Sistema de Coordenadas da Amostra (x, y, z) e Sistema Rotacionado nas direções principais (1,2,3).

Tabela 31 - Espécime C0012342 (L4)

Parâmetros	100%	80%	60%	40%	20%
BV (mm³)	1236,55	715,14	336,51	106,01	13,46
TV (mm³)	6364,54	3269,47	1386,94	401,95	50,24
BS (mm²)	9432,49	5200,12	2392,12	714,79	87,23
BV/TV (%)	0,19	0,22	0,24	0,26	0,27
BS/BV (1/mm)	7,82	7,47	7,28	6,97	6,88
Conn.D (1/mm³)	0,73	0,84	0,94	1,01	1,05
SMI	2,40	2,22	2,03	1,84	2,01
Tb.Th (mm)	0,36	0,36	0,36	0,36	0,35
Tb.Sp (mm)	0,99	0,93	0,85	0,82	0,66
Tb.N (1/mm)	0,97	1,01	1,08	1,09	1,41
DA	1,33	1,34	1,33	1,28	1,24
H1	1,12	1,04	0,99	0,97	0,89
H2	1,49	1,39	1,31	1,24	1,10
H3	1,26	1,17	1,12	1,13	1,04
Exx (MPa)	48,41	155,11	189,37	260,86	428,15
E₁ (MPa)	52,01	57,85	108,78	191,53	476,83
Eyy (MPa)	-1,1	57,88	109,38	195,97	278,29
E₂ (MPa)	-9,66	265,81	466,27	618,97	418,15
Ezz (MPa)	6,37	265,83	466,05	610,2	483,88
E₃ (MPa)	-1,56	155,84	190,97	261,54	275,73
Gyz (MPa)	12,05	54,01	70,71	108,2	145,61
G₂₃ (MPa)	30,62	75,93	115,65	171,29	156,3
Gzx (MPa)	16,94	75,75	115,18	168,62	217,23
G₃₁ (MPa)	18,22	68,27	81,85	124,15	143,95
Gxy (MPa)	1793,36	68,49	82,85	125,77	155,01
G₁₂ (MPa)	26,25	53,92	71,34	110,37	230,51
v_{yx}	-0,042	0,097	0,123	0,23	0,127
v₂₁	-0,151	0,125	0,123	0,156	0,148
v_{zx}	0,092	0,161	0,237	0,2	0,139
v₃₁	-0,042	0,258	0,207	0,303	0,044
v_{xy}	1,853	0,259	0,212	0,306	0,196
v₁₂	0,812	0,027	0,029	0,048	0,169
v_{zy}	1,804	0,125	0,109	0,12	0,083
v₃₂	-0,464	0,095	0,099	0,086	0,127
v_{xz}	0,697	0,094	0,096	0,086	0,123
v₁₃	1,402	0,096	0,118	0,222	0,076
v_{yz}	-0,311	0,027	0,026	0,038	0,048
v₂₃	-2,872	0,162	0,242	0,203	0,192

Obs: Sistema de Coordenadas da Amostra (x, y, z) e Sistema Rotacionado nas direções principais (1,2,3).

Tabela 32 - Espécime C0012342 (L5)

Parâmetros	100%	80%	60%	40%	20%
BV (mm³)	1298,86	725,39	315,77	97,62	13,58
TV (mm³)	6139,25	3269,47	1386,94	401,95	50,24
BS (mm²)	9927,81	5488,56	2372,82	697,02	92,35
BV/TV (%)	0,21	0,22	0,23	0,24	0,27
BS/BV (1/mm)	7,82	7,81	7,78	7,41	7,25
Conn.D (1/mm³)	0,78	0,91	0,96	0,96	1,20
SMI	2,34	2,26	2,19	2,06	1,87
Tb.Th (mm)	0,35	0,35	0,35	0,35	0,33
Tb.Sp (mm)	0,89	0,85	0,83	0,79	0,70
Tb.N (1/mm)	1,04	1,08	1,11	1,15	1,40
DA	1,32	1,33	1,32	1,31	1,24
H1	1,10	1,07	1,03	0,97	0,98
H2	1,46	1,42	1,36	1,26	1,22
H3	1,20	1,17	1,13	1,07	1,11
E_{xx} (MPa)	67	166,67	169,61	193,13	186,7
E₁ (MPa)	68,8	83,44	112,72	368,44	743,65
E_{yy} (MPa)	28,23	83,57	113,13	191,5	279,52
E₂ (MPa)	31,57	249,81	274,36	194,99	282,03
E_{zz} (MPa)	0,74	247,14	273,84	364,69	734,5
E₃ (MPa)	0,74	168,11	171,16	191,94	183,01
G_{yz} (MPa)	9,24	56,44	63,6	87,43	188,47
G₂₃ (MPa)	7,86	70,94	78,27	102,05	161,64
G_{zx} (MPa)	12,07	71,37	78,84	113,79	175,72
G₃₁ (MPa)	10,12	59,35	67,96	113,18	177,27
G_{xy} (MPa)	42,4	59,3	67,83	100,64	159,29
G₁₂ (MPa)	41,62	55,96	63,63	85,42	187,7
v_{yx}	0,135	0,153	0,187	0,221	0,301
v₂₁	0,155	0,137	0,112	0,029	0,077
v_{zx}	-0,003	0,09	0,112	0,142	0,192
v₃₁	-0,007	0,311	0,285	0,072	0,053
v_{xy}	0,319	0,305	0,281	0,222	0,201
v₁₂	0,339	0,046	0,046	0,055	0,204
v_{zy}	-0,02	0,146	0,115	0,08	0,206
v₃₂	-0,024	0,059	0,068	0,229	0,198
v_{xz}	-0,29	0,061	0,069	0,075	0,049
v₁₃	-0,605	0,153	0,188	0,138	0,215
v_{yz}	-0,77	0,049	0,048	0,042	0,078
v₂₃	-1	0,087	0,109	0,233	0,306

Obs: Sistema de Coordenadas da Amostra (x, y, z) e Sistema Rotacionado nas direções principais (1,2,3).

Tabela 33 - Espécime C0012343 (L4)

Parâmetros	100%	80%	60%	40%	20%
BV (mm³)	1638,72	865,46	352,30	96,63	10,37
TV (mm³)	6364,54	3269,47	1386,94	401,95	50,24
BS (mm²)	12069,52	6201,30	2516,22	689,65	75,84
BV/TV (%)	0,26	0,27	0,25	0,24	0,21
BS/BV (1/mm)	7,49	7,34	7,39	7,49	8,16
Conn.D (1/mm³)	1,18	1,23	1,12	1,00	0,95
SMI	2,11	2,03	2,13	2,29	2,70
Tb.Th (mm)	0,36	0,36	0,36	0,35	0,30
Tb.Sp (mm)	0,81	0,81	0,83	0,85	0,75
Tb.N (1/mm)	1,11	1,11	1,08	1,07	1,24
DA	1,24	1,23	1,22	1,19	1,09
H1	1,00	1,01	1,06	1,13	1,38
H2	1,24	1,25	1,30	1,34	1,50
H3	1,01	1,03	1,11	1,23	1,42
Exx (MPa)	119,44	212,69	158,84	124,04	253,51
E₁ (MPa)	139,1	450	412,12	183,01	458,93
Eyy (MPa)	97,88	196,45	217,26	277,31	408,87
E₂ (MPa)	127,52	220,93	245,27	122,71	272,89
Ezz (MPa)	142,45	420,04	374,55	192,86	134,45
E₃ (MPa)	90,46	193,71	155,96	286,22	142,49
Gyz (MPa)	57,94	111,42	118,65	130,13	123,06
G₂₃ (MPa)	56,33	91,93	83,18	95,44	74,03
Gzx (MPa)	53,48	115,72	107,58	92,04	80,31
G₃₁ (MPa)	66,35	103,65	104,89	147,2	116,95
Gxy (MPa)	58,87	88,09	83,32	99,26	152,4
G₁₂ (MPa)	52,18	111,52	105,54	92,21	142,58
v_{yx}	0,139	0,171	0,215	0,297	0,278
v₂₁	0,09	0,103	0,034	0,107	0,154
v_{zx}	0,113	0,233	0,243	0,157	0,056
v₃₁	0,127	0,074	0,103	0,144	0,021
v_{xy}	0,169	0,185	0,158	0,133	0,173
v₁₂	0,098	0,21	0,058	0,159	0,259
v_{zy}	0,107	0,225	0,16	0,06	0,03
v₃₂	0,099	0,191	0,147	0,274	0,018
v_{xz}	0,095	0,118	0,103	0,101	0,105
v₁₃	0,196	0,171	0,272	0,092	0,067
v_{yz}	0,074	0,105	0,093	0,087	0,091
v₂₃	0,14	0,217	0,231	0,117	0,034

Obs: Sistema de Coordenadas da Amostra (x, y, z) e Sistema Rotacionado nas direções principais (1,2,3).

Tabela 34 - Espécime C0012343 (L5)

Parâmetros	100%	80%	60%	40%	20%
BV (mm³)	1788,72	952,93	441,74	149,28	24,23
TV (mm³)	6364,54	3269,47	1386,94	401,95	50,24
BS (mm²)	12573,21	6472,70	2848,10	860,67	110,04
BV/TV (%)	0,28	0,29	0,32	0,37	0,48
BS/BV (1/mm)	7,09	6,89	6,53	5,85	4,69
Conn.D (1/mm³)	1,31	1,42	1,52	1,63	1,82
SMI	1,91	1,76	1,53	1,01	-0,51
Tb.Th (mm)	0,37	0,38	0,39	0,41	0,43
Tb.Sp (mm)	0,79	0,77	0,75	0,70	0,66
Tb.N (1/mm)	1,14	1,16	1,19	1,24	1,32
DA	1,21	1,20	1,20	1,20	1,17
H1	0,94	0,91	0,85	0,82	0,82
H2	1,15	1,09	1,02	0,99	0,96
H3	1,00	0,97	0,92	0,89	0,84
E_{xx} (MPa)	173,72	263,98	395,57	590,24	1080,9
E₁ (MPa)	181,28	539,61	434,74	979,44	1809,95
E_{yy} (MPa)	137,09	282,89	365,22	545,83	1206,38
E₂ (MPa)	130,79	313,96	379,97	657,77	1209,8
E_{zz} (MPa)	186,9	486,08	515,38	895,3	1783,28
E₃ (MPa)	244,32	282,56	595,74	584,53	1080,32
G_{yz} (MPa)	84,95	155,39	189,72	301,54	637,84
G₂₃ (MPa)	71,6	111,14	166,14	240,77	558,25
G_{zx} (MPa)	74,37	145,59	193,14	313,56	657,53
G₃₁ (MPa)	77,82	136,15	197,92	277,32	655,13
G_{xy} (MPa)	81,21	128,83	172,46	273,78	556,11
G₁₂ (MPa)	76,88	157,98	157,07	314,35	629,21
v_{yx}	0,16	0,24	0,216	0,189	0,211
v₂₁	0,122	0,111	0,168	0,142	0,167
v_{zx}	0,081	0,17	0,161	0,206	0,262
v₃₁	0,13	0,081	0,187	0,123	0,156
v_{xy}	0,199	0,224	0,234	0,204	0,189
v₁₂	0,169	0,19	0,192	0,211	0,25
v_{zy}	0,017	0,186	0,172	0,24	0,255
v₃₂	-0,091	0,153	0,109	0,13	0,193
v_{xz}	0,075	0,093	0,124	0,136	0,159
v₁₃	0,097	0,155	0,136	0,206	0,261
v_{yz}	0,012	0,108	0,122	0,146	0,173
v₂₃	-0,048	0,17	0,07	0,146	0,216

Obs: Sistema de Coordenadas da Amostra (x, y, z) e Sistema Rotacionado nas direções principais (1,2,3).

Tabela 35 - Espécime C0012344 (L4)

Parâmetros	100%	80%	60%	40%	20%
BV (mm³)	701,97	411,42	182,13	50,01	8,78
TV (mm³)	5632,34	3251,41	1386,94	401,95	50,24
BS (mm²)	5737,08	3313,85	1396,43	375,81	55,86
BV/TV (%)	0,13	0,13	0,13	0,12	0,17
BS/BV (1/mm)	8,65	8,56	8,15	8,14	6,82
Conn.D (1/mm³)	0,34	0,35	0,36	0,31	0,43
SMI	2,98	2,98	2,96	3,02	2,65
Tb.Th (mm)	0,36	0,37	0,38	0,37	0,38
Tb.Sp (mm)	1,32	1,29	1,28	1,26	0,91
Tb.N (1/mm)	0,71	0,72	0,72	0,75	1,00
DA	1,31	1,31	1,29	1,30	1,50
H1	1,86	1,85	1,95	1,94	1,44
H2	2,44	2,42	2,52	2,52	2,15
H3	1,95	1,93	2,06	2,04	1,73
E_{xx} (MPa)	10	10,96	15,09	9,6	66,38
E₁ (MPa)	2,97	13,25	20,4	123,76	398,13
E_{yy} (MPa)	3,04	16,73	26,34	37,45	115,22
E₂ (MPa)	56,2	94,01	187,81	46,97	116,28
E_{zz} (MPa)	46,66	68,82	138,55	86,6	258,17
E₃ (MPa)	9,86	21,21	29,93	10,19	66,59
G_{yz} (MPa)	9,65	14,07	22,94	23,49	83,26
G₂₃ (MPa)	10,36	12,28	19,42	12,07	63,26
G_{zx} (MPa)	11,23	19,08	32,54	33,71	110,71
G₃₁ (MPa)	6,25	5,27	7,68	32,39	106,5
G_{xy} (MPa)	5,68	7,24	10,97	15,07	61,51
G₁₂ (MPa)	9,87	18,1	32,13	18,27	66,31
v_{yx}	0,077	0,299	0,258	0,542	0,144
v₂₁	0,201	0,409	0,597	0,006	0,048
v_{zx}	0,154	0,358	0,484	0,638	0,674
v₃₁	0,287	0,117	0,011	0,078	0,107
v_{xy}	0,255	0,196	0,148	0,139	0,083
v₁₂	0,011	0,058	0,065	0,017	0,166
v_{zy}	0,119	0,203	0,374	0,283	0,303
v₃₂	0,014	-0,001	0,018	0,1	0,151
v_{xz}	0,033	0,057	0,053	0,071	0,173
v₁₃	0,086	0,073	0,007	0,946	0,641
v_{yz}	0,008	0,049	0,071	0,122	0,135
v₂₃	0,08	-0,002	0,112	0,462	0,263

Obs: Sistema de Coordenadas da Amostra (x, y, z) e Sistema Rotacionado nas direções principais (1,2,3).

Tabela 36 - Espécime C0012344 (L5)

Parâmetros	100%	80%	60%	40%	20%
BV (mm³)	739,26	419,98	218,00	69,62	10,33
TV (mm³)	4703,00	2655,32	1295,16	401,95	50,24
BS (mm²)	5837,16	3291,80	1644,91	515,02	70,69
BV/TV (%)	0,16	0,16	0,17	0,17	0,21
BS/BV (1/mm)	8,25	8,27	7,94	7,92	7,54
Conn.D (1/mm³)	0,52	0,54	0,57	0,65	0
SMI	2,82	2,82	2,81	2,77	2,66
Tb.Th (mm)	0,37	0,37	0,38	0,37	0,36
Tb.Sp (mm)	1,15	1,12	1,09	1,06	0,89
Tb.N (1/mm)	0,81	0,83	0,85	0,87	1,03
DA	1,26	1,29	1,31	1,33	1,42
H1	1,47	1,46	1,42	1,42	1,32
H2	1,85	1,89	1,85	1,88	1,88
H3	1,59	1,59	1,53	1,54	1,48
E_{xx} (MPa)	32,19	38,67	33,72	32,55	66,12
E₁ (MPa)	16,73	169,86	33,73	49,15	62,76
E_{yy} (MPa)	15,53	24,78	30,32	49,59	91,85
E₂ (MPa)	102,53	50,71	213,45	309,27	455,82
E_{zz} (MPa)	85,15	140,69	180,82	269,2	392,81
E₃ (MPa)	41,23	28,11	53,2	61,89	100,43
G_{yz} (MPa)	25,58	33,56	38,8	61,27	116,94
G₂₃ (MPa)	21,41	13,53	39,27	60,8	102,06
G_{zx} (MPa)	20,18	31,93	40,23	59,6	109,39
G₃₁ (MPa)	10,76	27,49	13,66	16,33	59,37
G_{xy} (MPa)	13,14	18,2	21,3	28,7	57,35
G₁₂ (MPa)	19,25	33,28	34,5	50,06	106,05
v_{yx}	0,072	0,134	0,171	0,283	0,113
v₂₁	0,34	0,086	0,337	0,257	0,55
v_{zx}	0,13	0,207	0,295	0,377	0,541
v₃₁	0,021	0,069	-0,046	-0,053	0,154
v_{xy}	0,149	0,209	0,19	0,186	0,081
v₁₂	0,055	0,287	0,053	0,041	0,076
v_{zy}	0,523	0,576	0,435	0,378	0,479
v₃₂	0,073	0,021	0,077	0,068	0,086
v_{xz}	0,049	0,057	0,055	0,046	0,091
v₁₃	0,009	0,419	-0,029	-0,042	0,096
v_{yz}	0,095	0,101	0,073	0,07	0,112
v₂₃	0,182	0,038	0,309	0,341	0,388

Obs: Sistema de Coordenadas da Amostra (x, y, z) e Sistema Rotacionado nas direções principais (1,2,3).

Tabela 37 - Espécime C0012367 (L4)

Parâmetros	100%	80%	60%	40%	20%
BV (mm³)	1647,61	798,97	367,77	127,31	14,81
TV (mm³)	6364,54	3269,47	1386,94	401,95	50,24
BS (mm²)	10143,78	5063,95	2232,50	717,78	90,81
BV/TV (%)	0,26	0,24	0,27	0,32	0,29
BS/BV (1/mm)	6,20	6,45	6,15	5,75	6,67
Conn.D (1/mm³)	0,93	0,88	0,92	1,06	1,07
SMI	2,13	2,06	1,77	1,31	2,27
Tb.Th (mm)	0,47	0,41	0,42	0,41	0,34
Tb.Sp (mm)	1,00	0,99	0,92	0,78	0,62
Tb.N (1/mm)	0,99	1,00	1,08	1,24	1,51
DA	1,27	1,26	1,23	1,21	1,32
H1	1,17	1,13	1,04	0,97	0,93
H2	1,49	1,41	1,29	1,18	1,23
H3	1,39	1,33	1,21	1,09	1,09
Exx (MPa)	215,64	280,52	438,02	675,96	422,78
E₁ (MPa)	292,2	314,9	475,23	703,96	511,52
Eyy (MPa)	216,13	180,25	193,32	392,12	117,57
E₂ (MPa)	215,54	216,08	269,88	423,15	379,08
Ezz (MPa)	112,26	41,91	55,81	228,98	287,79
E₃ (MPa)	110,23	58,03	67,08	229,41	172,36
Gyz (MPa)	93,46	84,13	96,9	198,85	183,43
G₂₃ (MPa)	92,4	36,59	52,16	179,89	82,55
Gzx (MPa)	92,84	129,57	164,11	255	233,64
G₃₁ (MPa)	97,43	109,71	136,86	252,14	163,53
Gxy (MPa)	123,18	122,18	158,66	259,48	197,61
G₁₂ (MPa)	94,51	138,57	180,28	264,03	224,03
v_{yx}	0,143	0,122	0,106	0,169	0,059
v₂₁	0,008	0,128	0,129	0,174	0,089
v_{zx}	0,046	0,009	0,013	0,048	0,04
v₃₁	0,047	0,013	0,015	0,05	-0,005
v_{xy}	0,142	0,191	0,241	0,291	0,214
v₁₂	0,01	0,187	0,227	0,289	0,12
v_{zy}	0,061	0,025	-0,022	0,042	0,082
v₃₂	0,07	-0,193	-0,176	0,017	-0,216
v_{xz}	0,088	0,057	0,105	0,143	0,059
v₁₃	0,124	0,072	0,107	0,153	-0,014
v_{yz}	0,118	0,107	-0,075	0,073	0,033
v₂₃	0,137	-0,717	-0,709	0,031	-0,475

Obs: Sistema de Coordenadas da Amostra (x, y, z) e Sistema Rotacionado nas direções principais (1,2,3).

Tabela 38 - Espécime C0012367 (L5)

Parâmetros	100%	80%	60%	40%	20%
BV (mm³)	1209,60	723,93	366,31	100,65	10,62
TV (mm³)	4787,49	2709,51	1325,75	401,95	50,24
BS (mm²)	8504,79	5094,73	2668,93	821,22	80,55
BV/TV (%)	0,25	0,27	0,28	0,25	0,21
BS/BV (1/mm)	7,07	7,12	7,43	8,59	9,26
Conn.D (1/mm³)	1,18	1,39	1,59	1,78	1,14
SMI	1,94	1,77	1,74	1,93	2,39
Tb.Th (mm)	0,39	0,37	0,35	0,30	0,28
Tb.Sp (mm)	0,97	0,88	0,75	0,74	0,73
Tb.N (1/mm)	1,03	1,16	1,28	1,31	1,35
DA	1,24	1,25	1,26	1,29	1,28
H1	1,02	0,93	0,85	0,85	1,01
H2	1,29	1,16	1,07	1,10	1,30
H3	1,23	1,12	1,02	1,05	1,19
Exx (MPa)	289,59	442,53	438,23	357,53	307,31
E₁ (MPa)	295,84	462,95	462,47	393,59	318,61
Eyy (MPa)	86,52	101,23	90,47	63,72	35,13
E₂ (MPa)	85,9	222,77	279,98	267,47	205,44
Ezz (MPa)	7,75	222,22	279,17	280,7	205,2
E₃ (MPa)	7,81	100,55	88,81	63,78	35,26
Gyz (MPa)	48,61	103,96	110,33	123,88	111,4
G₂₃ (MPa)	48,23	103,99	112,76	114,88	110,69
Gzx (MPa)	54,26	133,23	148,9	147,67	126,25
G₃₁ (MPa)	49,01	148,95	149,67	101,58	81,15
Gxy (MPa)	80,91	148,98	151,58	95,86	84,02
G₁₂ (MPa)	82,37	131,66	149,81	144,62	126,69
v_{yx}	0,034	0,044	0,047	0,034	0,021
v₂₁	0,038	0,076	0,098	0,12	0,111
v_{zx}	0,004	0,083	0,102	0,135	0,11
v₃₁	-0,0004	0,044	0,047	0,036	0,017
v_{xy}	0,114	0,192	0,23	0,19	0,182
v₁₂	0,13	0,157	0,162	0,177	0,171
v_{zy}	0,0003	0,105	0,068	0,166	0,661
v₃₂	0,0002	0,048	0,026	0,035	0,113
v_{xz}	0,133	0,164	0,16	0,172	0,165
v₁₃	-0,016	0,205	0,243	0,222	0,157
v_{yz}	0,003	0,048	0,022	0,038	0,113
v₂₃	0,002	0,106	0,083	0,146	0,659

Obs: Sistema de Coordenadas da Amostra (x, y, z) e Sistema Rotacionado nas direções principais (1,2,3).