

**Artigo Original**

recebido: 28/08/1999 e aceito em 14/04/2001

**Avaliação espectral da qualidade  
óssea em vértebras lombares  
humanas**

*Spectral evaluation of the human  
lumbar vertebrae bone quality*

**Resumo**

O objetivo do trabalho foi desenvolver uma nova metodologia para analisar a organização do osso trabecular dos corpos de vértebras lombares, por meio de avaliação espectral. Esta técnica denominada Transformada Rápida de Fourier (FFT) foi aplicada em imagens digitalizadas de radiografias de secções sagitais dos corpos vertebrais (L1 a L5), em quatro quadrantes. Os resultados revelaram que há um padrão arquitetônico básico onde predominam as trabéculas horizontais e verticais. No entanto, a disposição espacial do sistema trabecular variou entre os quadrantes de uma mesma vértebra e entre as diferentes vértebras. Por outro lado, os quadrantes visualmente mais porosos, revelaram uma distribuição desorganizada, com predomínio de trabéculas oblíquas. É possível que as diferenças no sistema trabecular devam-se à orientação espacial da distribuição do estresse mecânico aplicado na lordose lombar e que as modificações no osso poroso signifiquem uma reorganização do osso esponjoso, garantindo a resistência mecânica. Assim, a análise espectral pode ser empregada na avaliação da qualidade óssea em indivíduos portadores de osteoporose, complementando as análises densitométricas.

**Palavras-chave:** Análise Espectral de Fourier, Osso Trabecular, Qualidade Óssea, Vértebras Lombares.

**Abstract**

*The purpose of this study was to evaluate the accuracy of a new method based on the spectral analysis of the lumbar trabecular bone quality. The Fast Fourier Transform (FFT) was applied on four regions of interest on each radiographic image of the mid-sagittal section of each lumbar vertebral body (L1-L5). The results revealed the prevalence of the spectral cross-like pattern corresponding to the proportional distribution of vertical and horizontal trabeculae, which could vary on different regions of the same vertebra. On the other hand, osteopenic regions presented a honey-comb-like pattern with the prevalence of an oblique tract. This pattern may be associated to the process of rearrangement of the remaining trabecular rods in a way to ensure lumbar bone quality. According to these results, the FFT showed to be an effective method of diagnosis allied to the densitometric techniques.*

**Keywords:** Bone quality, Fourier spectral analysis, Lumbar vertebrae, Trabecular bone.

**Valéria Silva Braz**

Mestre pelo Programa de Ciências Morfológicas/UFRJ  
Pesquisadora Colaboradora Smithsonian Institution

**Adilson Dias Salles**

Professor Adjunto Departamento de Anatomia - UFRJ  
Laboratório de Biomineralização  
e-mail: adsalles@anato.ufrj.br

## **Extended Abstract**

### **Introduction**

There is a great incidence of bone loss associated to osteoporosis in post-menopausal women and in the elderly of both sexes. In these cases there is an increase in the susceptibility to fractures due to the reduction of the trabecular spongy bone components, particularly in the lumbar spine. The comprehension about the trabecular system architecture of the vertebral bodies is very important because of its association with the resistance of the system against compressive forces. Clinical investigations have been focused on bone mineral density (BMD) of the spongy bone but skeletal strength is associated not only to its density but also to its anatomical architecture. Therefore, the spatial orientation analysis of the spongy bone of the lumbar spine is essential. Several authors have admitted that the trabeculae of vertebral bodies are oriented in two principal trajectories: (1) a longitudinal and (2) a transversal one.

The objective of this study is to evaluate a method based on the Fast Fourier Transform (FFT) analysis of digital radiological images of mid-sagittal sections of the human lumbar spine.

Because of the spatial-frequency domain conversion, the FFT has proven to be of great value for the study of two-dimensional radiological images of bones. This analysis has also showed accuracy in the quantification of image elements (e.g. quantification of trabeculae and the spatial arrangement).

Radiographic images of spongy bone may be represented by their frequency spectrum (FFT) and the number of trabeculae and its spatial orientation can be defined. Although, it is still possible to restore the original image from its frequency spectrum (inverse transform).

### **Material and Method**

Radiographs of mid-sagittal sections of two millimeters of five human vertebral bodies (L1 to L5) were taken at the Radiological and Nuclear Medicine Center of the Clementino Fraga Filho University Hospital (Rio de Janeiro) (Figure 1). High-resolution radiographs were acquired on a Hewlett Packard® professional scanner. Then, four 64x64 pixels

windows were selected on the digital radiographic images of each vertebral body (Figure 3). The digital images were binarized to enhance the main trabecular components. The procedures for noise reduction were the following: (1) each region of interest was selected four times and the average image was obtained, and then (2) an average medium spatial filter was applied to reduce the signal-to-noise ratio. An edge intensity slicing filter was applied on the Fourier spectrum to trace the contour around the frequency spots for a better visualization. The result made possible the isolation of the horizontal and vertical arms of the transform (Figure 5). Trabecular area and relative number of transversal and longitudinal trabeculae (pixel unit) were measured directly from the Fourier spectra.

### **Results**

The spectra showed an orthogonal pattern. The horizontal and vertical arms of the transform allowed the identification of the longitudinal and transversal trabecular systems, respectively, although there was variation on the different levels (L1 to L5) and on different quadrants of the same vertebra. Except for the L5 quadrants, in most of them the total area of the spectrum and the number of longitudinal and transversal components showed the same variations with predominance of the longitudinal trabeculae (Figure 6).

### **Discussion**

The Fourier spectral analysis showed accuracy in the determination of the spatial distribution of the lumbar vertebral trabecular system. The spatial pattern was non-homogeneous in all levels and indicating that different routes of force transmission on the vertebral structure are related with the lordotic curve and the posture. The prevalence of the longitudinal trabeculae is associated compressive forces resistance system. This method can be useful as complementary tool to bone densitometric investigations in clinical practice. Nevertheless, we ought to be aware about the artifacts that can emerge on each of the steps of image operations such as acquisition, storage, and processing. Therefore, a set of procedures must be adopted in order to minimize the artifacts and generate accurate results.

## Introdução

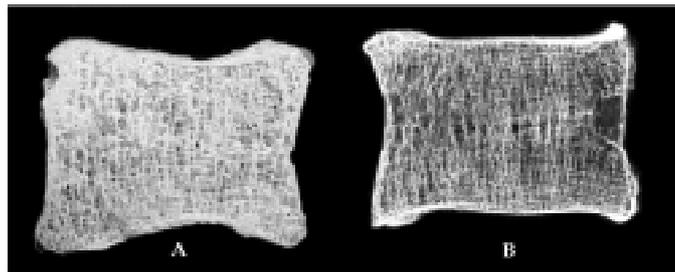
Os riscos de fraturas associadas à osteoporose têm despertado uma grande preocupação clínica, devido às modificações esqueléticas observadas, no sexo feminino, após a menopausa e, em ambos os sexos, em decorrência do envelhecimento. A perda de massa óssea, nestas condições, manifesta-se precocemente no osso esponjoso vertebral que é submetido continuamente aos efeitos do peso corporal. As alterações na arquitetura vertebral são de particular interesse na região lombar, face ao elevado estresse mecânico aplicado neste segmento. Os estudos a este respeito adquirem um caráter epidemiológico, uma vez que buscam indicadores precoces que caracterizem os grupos de risco (Trotter *et al.*, 1960; Garn *et al.* 1964; Steinbach, 1964, 1965; e Hall, 1993).

O grande desenvolvimento de métodos de densitometria óssea, nas duas últimas décadas, mostra que os esforços foram concentrados na determinação das densidades do osso trabecular. Contudo, a resistência do esqueleto ao estresse mecânico, depende, em grande parte, do arranjo espacial das trabéculas do osso esponjoso (Weinmann e Sicher, 1948; Cowin, 1985; Goldstein, 1987; Versterby, 1993; e Hert, 1994).

Assim, a partir de imagens radiográficas digitalizadas de seções de corpos de vértebras lombares, analisamos a arquitetura do osso esponjoso, por meio Transformada Rápida de Fourier (FFT = *Fast Fourier Transform*). Este método permite investigar, com precisão, a quantidade relativa e a orientação espacial das trabéculas do osso esponjoso vertebral. É de extrema importância, pois se trata de um método que pode ser empregado em imagens de tomografia computadorizada de indivíduos portadores de osteoporose, complementando os resultados da densitometria nas decisões clínicas (Salles & Braz, 1998; Oxnard, 1993).

Internamente, as trabéculas do osso esponjoso vertebral lombar dispõem-se em dois sistemas principais: longitudinal e transversal (Figura 1), que mostram grande participação na sua resistência física. Estas trabéculas compõem uma malha que dissipa o estresse mecânico imposto pelo peso corporal e pela atividade muscular (Steindler, 1964; Kapandji, 1980); Gibson, 1985; Pope, (1989).

A Transformada de Fourier é uma ferramenta importante no processamento de imagens. Fundamenta-se na série de Fourier, aplicada ao estudo das funções periódicas (Batschelet, 1975; Kreysig, 1976). Como as imagens não são formadas, exclusivamente, por funções periódicas, a aplicação de um método de integralização – Integral de Fourier – foi necessária neste processo. Como estamos considerando o estudo de imagens digitais, representada por elementos discretos: o pixel (*picture element*), empregamos a Transformada Discreta de Fourier (DFT = *Discrete Fourier Transform*), que embora não contenha todas as frequências que formam a imagem original, ela opera com os componentes necessários para descrever o domínio espacial da imagem. Assim, a imagem em estudo encontra-se no domínio espacial e a transformada converte (transforma) as informações para o domínio da frequência (Gonzales & Woods, 1993; Baxes, 1994; Inoué & Spring, 1997). Como as imagens são representadas em uma matriz bidimensional, cria-se uma complexidade em computar um grande número de dados (Watkins *et al.* 1993). A Transformada Rápida de Fourier reduz esta complexidade, especialmente em imagens de grandes dimensões, utilizando uma base logarítmica. (Spiegel, 1972; Lim, 1990). No domínio da frequência, cada ponto representa uma determinada frequência contida no domínio espacial, sem perda de informação. O número de componentes de frequência corresponde



**Figura 1.** Secção sagital do corpo de uma vértebra lombar humana normal (A) e uma imagem radiográfica (B). Observe os componentes trabeculares longitudinal e transversal, formando um sistema ortogonal. **Figure 1.** Saggital section of the lumbar vertebral body (A) and a digitized radiographic image (B). An orthogonal pattern of the longitudinal transversal is evident.

ao número de pixels no domínio espacial da imagem, isto é, a imagem em ambos os domínios têm o mesmo tamanho (Watkins et al., 1993; Lillesand & Kiefes, 1994). Uma das grandes aplicações da FFT é o estudo das características geométricas de uma imagem no domínio espacial (Ballard & Brown, 1982). Uma vez operando no domínio da frequência, podemos proceder a um processo inverso, por meio da técnica de deconvolução, que permite restabelecer as informações no domínio espacial (Inoué & Spring, 1997).

A aplicação da FFT em imagens radiográficas que sejam constituídas por barras claras e escuras é de extrema importância, pois cada componente espectral codifica uma informação específica da imagem, como: grau de espaçamento dos elementos da imagem (barras) e definição de seus contornos (Gonzales & Woods, 1993). Cria-se, assim, um espectro de frequências que contém os componentes da imagem no domínio espacial (Figura 2). O primeiro componente do espectro indica o espaçamento entre as barras e os demais componentes (frequências mais altas) estão envolvidos no grau de detalhamento da imagem

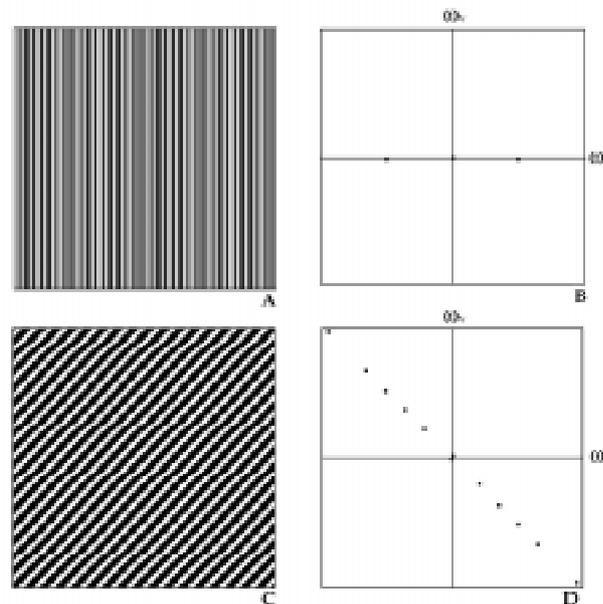
(Meyer-Arendt, 1995). As barras apresentadas mostram menor (A) e maior (C) definição em suas bordas e diferentes graus de espaçamento. A leitura do espaçamento faz-se perpendicularmente à orientação espacial das barras.

Assim, os componentes espectrais da imagem das barras verticais, dispõem-se no braço horizontal do espectro ( $\omega_h$ ) e as barras horizontais são representadas no braço vertical ( $\omega_v$ ).

Assim, entendemos que o uso da FFT na investigação da arquitetura interna do corpo vertebral traz valiosas informações a respeito das características morfofuncionais da região vertebral da coluna lombar e permita inferir a respeito da sua resistência mecânica.

### Material e Métodos

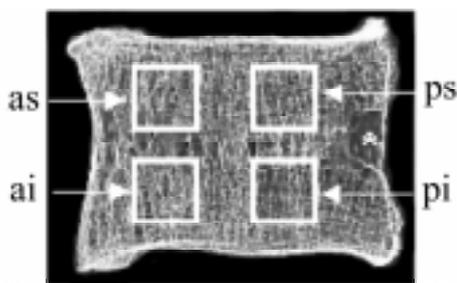
Foram analisadas cinco vértebras lombares de um mesmo indivíduo (L1-L5), sem evidências de qualquer anormalidade, proveniente do acervo do Departamento de Anatomia, Instituto de Ciências Biomédicas, UFRJ. Os corpos vertebrais foram seccionados (plano sagital mediano) com a utilização de uma serra



**Figura 2.** Imagens de barras (A e C) seus respectivos espectros de frequência (B e D). Observe que em A as distâncias entre as barras são pequenas e seu espectro é composto por frequências altas. Em C o espaçamento é maior e, em consequência, o primeiro componente está mais próximo do centro (frequências mais baixas). Neste caso, os demais componentes estão relacionados à definição da imagem [ $\omega_h$  e  $\omega_v$  são os componentes (frequência) horizontal e vertical do espectro, respectivamente]. **Figure 2.** Images with bar patterns (A and C) and respective frequency spectra (B and D). Note that A presents a pattern with bars close to each other, and the spectrum is composed by high frequencies. In C the space between bars is higher and thus the first spectral component is closer to the center (lowest frequencies). In this case, the remaining components are related to image definition [ $\omega_h$  and  $\omega_v$  are the horizontal and vertical frequency components of the spectrum, respectively].

circular, gerando fatias com espessura de 2,0 mm. As superfícies de corte das secções foram levemente polidas e, em seguida, enxaguadas com água corrente, sendo, posteriormente secas à temperatura ambiente. Os espécimes foram, então, radiografados em um aparelho MEDIMAM-HFG (Medicor), com as seguintes especificações técnicas: 30 kV, 200 mAs e 1 m de distância foco-filme. Utilizamos filmes Min-R™ (Kodak) de 18x24 cm. Trata-se de um sistema de alta resolução, comumente utilizado em mamografias. As radiografias foram digitalizadas em um scanner de mesa Scanjet II (HP), adaptado com transiluminador de transparências, com resolução de 300 pixels/pol e amplitude de 8 bits/pixel. O uso de secções, da mesma forma que a tomografia computadorizada, elimina os inconvenientes da superposição de imagens (Hjalgim *et al.*, 1995). Todos os procedimentos radiográficos foram realizados no Serviço de Radiodiagnóstico e Medicina Nuclear do Hospital Clementino Fraga Filho/UFRJ.

As imagens radiográficas digitalizadas das secções foram binarizadas, permitindo uma melhor visualização dos principais componentes trabeculares, sem perda de informações relevantes, por metodologia descrita por Russ (1991), Gonzales e Woods (1993), Watkins *et al.* (1993), Baxes (1994) e Meyer-Arendt (1995). Selecionamos em cada radiograma, quatro regiões de interesse (quadrantes) nos corpos vertebrais (as = anterosuperior; ai = anteroinferior; ps = posterosuperior e pi = posteroinferior), com áreas (janelas) de 64 x 64 pixels (Figura 3), evitando as regiões de entrada de vasos sanguíneos, como recomenda Oxnard (1993).

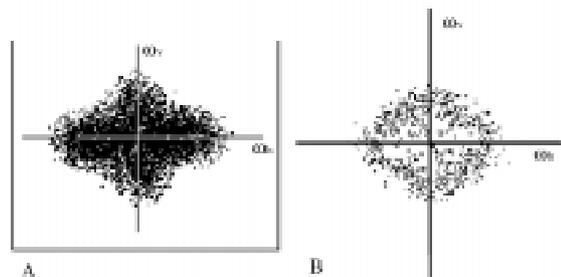


**Figura 3.** Imagem radiográfica digitalizada (64 x 64 pixels) de secção sagital de vértebra lombar, com a definição dos quadrantes (janelas). O asterisco mostra a região da entrada dos vasos. **Figure 3.** Digitized radiographic image (64 x 64 pixels) of the saggital section of the lumbar vertebral body with four quadrants (windows). The asterisk shows the vascular area.

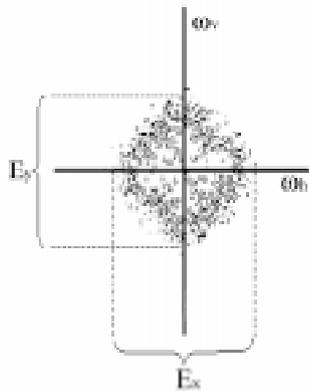
Em cada quadrante, o processo de obtenção da transformada foi repetido quatro vezes para obter a média dos resultados. Nestas janelas utilizamos um filtro espacial médio para redução do ruído proveniente dos processos de aquisição da imagem (Gonzales e Woods, 1993). Empregando o protocolo de Widgerowitz *et al.* (1997), aplicamos um envelope sobre os componentes de interesse da imagem por meio de um processamento denominado *edge intensity slicing* (Figura 4) permitindo obter melhor visualização da forma do espectro.

Foi possível, assim, realçar o contorno dos principais componentes espectrais que correspondem aos sistemas de trabéculas longitudinais e transversais na imagem original, produzindo um contorno com eixos horizontal ( $E_x$ ) e vertical ( $E_y$ ), que delimitaram os braços da transformada (Figura 5).

Quantificou-se a área trabecular (correspondente à área ocupada pelos componentes de frequência, em pixels), o número médio ( $N$ ) de trabéculas nos dois eixos principais do espectro de freqüências ( $E_x, y$ ), e a sua angulação. Devido ao caráter especular do espectro, dividiu-se cada um dos eixos ( $E$ ) por dois para se obter o número médio de trabéculas ( $N$ ) que é definido pelo tamanho a partir da definição dos braços em cada direção. Todo o processamento digital foi realizado no software NIH Image™ para Macintosh, elaborado por Wayne Rasband (National Institute of Health, USA).



**Figura 4.** Espectro de freqüências da imagem radiográfica da Figura 3 mostrando: (A) um padrão ortogonal, com diversos componentes espectrais, e (B) a delimitação do contorno dos dois principais (vertical e horizontal), que correspondem aos sistemas trabeculares transversal e longitudinal, respectivamente, na imagem original. **Figure 4.** Frequency spectrum of the radiographic image of Figure 3 shown (A) an orthogonal pattern, with various spectral components, and (B) the contour plot of the main components (vertical and horizontal), which correspond respectively to transversal and longitudinal trabecular systems in the original message.



**Figura 5.** Delimitação dos braços horizontal ( $E_x$ ) e vertical ( $E_y$ ) do espectro, após a aplicação do envelope (edge intensity slicing). Os eixos  $\omega_h$  e  $\omega_v$  são os componentes (frequência) horizontal e vertical do espectro. **Figure 5.** Determination of the horizontal ( $E_x$ ) and vertical ( $E_y$ ) arms of the spectrum, after the application of the edge intensity slicing method. The axis  $\omega_h$  e  $\omega_v$  are the horizontal and vertical spectral components.

Na caracterização dos componentes do espectro de frequências, consideramos as seguintes variáveis:

1. Área trabecular dentro de cada janela, que corresponde ao número de pixels ocupados por componentes relativos aos sistemas trabeculares;
2.  $N_x$  e  $N_y$  = número médio de trabéculas nos braços horizontal ( $E_x$ ) e vertical ( $E_y$ ) da transformada.

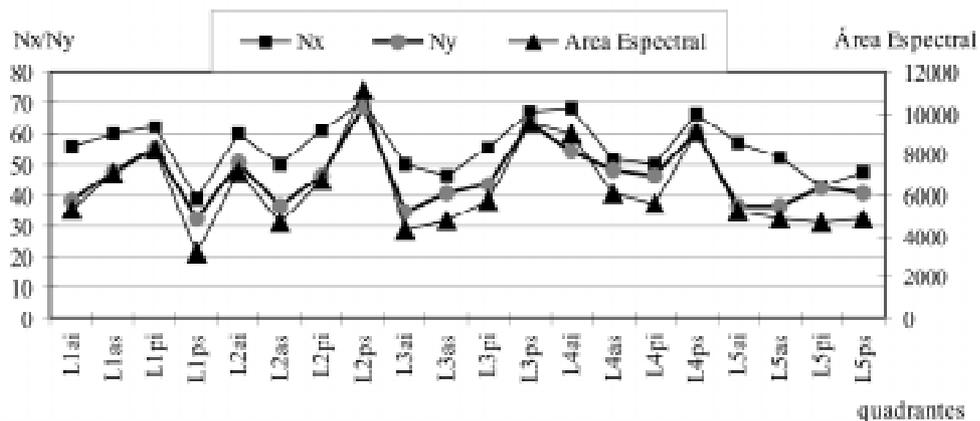
A diferença entre os valores  $N_x$  e  $N_y$  foi avaliada pelo teste t (Student) com  $p = 0,05$ .

## Resultados

Os resultados estão representados na Figura 6. Pode-se observar claramente que o arranjo do sistema trabecular do osso esponjoso dos corpos das vértebras lombares varia entre as diferentes vértebras e, principalmente, entre os diferentes quadrantes da mesma vértebra. O padrão ortogonal do sistema trabecular foi mantido, em todos os quadrantes, com a presença de um sistema de trabéculas longitudinais (componente horizontal do espectro) e transversais (componente vertical). O componente horizontal  $N_x$  predominou quantitativamente sobre o transversal  $N_y$  e esta diferença foi estatisticamente significativa ( $t = 3,20$ ;  $p = 0,05$ ). Assim, as trabéculas longitudinais são mais numerosas do que as transversais. Na grande maioria dos quadrantes, as variações do componente horizontal do espectro  $N_x$  acompanharam as variações do componente vertical  $N_y$ . Embora isto não tenha sido observado nos quadrantes de L5. Excetuando-se, ainda, os quadrantes de L5, os valores de área espectral seguiram as mesmas tendências de  $N_x$  e  $N_y$ . Em L5, a área seguiu a tendência do componente horizontal do espectro (trabéculas longitudinais).

## Discussão

A heterogeneidade da organização trabecular do osso esponjoso vertebral deveu-se, provavelmente, ao fato de que a distribuição do estresse mecânico na coluna vertebral é dinâmica, considerando as curvaturas e posturas humanas. O predomínio do número de trabéculas longitudinais (sistema primário) está relacionado à função de resistência mecânica às forças



**Figura 6.** Áreas espectrais e componentes horizontais ( $N_x$ ) e verticais ( $N_y$ ) dos quadrantes das vértebras lombares, correspondendo às trabéculas longitudinais e transversais, respectivamente. **Figure 6.** Spectral areas, horizontal ( $N_x$ ) and vertical ( $N_y$ ) components of the quadrants of the lumbar vertebrae that correspond to longitudinal and transversal trabeculae, respectively.

de compressão aplicadas, enquanto que o sistema transversal (secundário) estabelece uma conexão das trabéculas longitudinais (Steindler, 1964; Hert, 1994). O aumento da densidade trabecular (aumento de área espectral), que poderia ser observada em L5, devido ao elevado grau de estresse mecânico aplicado não se confirmou neste espécime, provavelmente devido à existência da curvatura lordótica, neste nível, que reduz acentuadamente as forças de compressão, segundo modelo biomecânico de Pope (1998).

Contudo, pelo fato deste trabalho direcionar-se à aplicação de uma metodologia no estudo morfofuncional da estrutura vertebral, a amostra foi pequena e a questão exige maior apreciação.

O processamento de imagens pode levar ao risco de retirar informações relevantes (Gonzalez e Woods, 1993; Widgerowitz, 1997). Por esta razão tomamos os cuidados, já apresentados e usamos, ainda, a Transformada Inversa de Fourier (FFT<sup>-1</sup>), ao final, para confirmar a imagem trabecular.

Oxnard (1993) utilizou a FFT no estudo de vértebras lombares, comparando um modelo normal com um porótico, sem considerar, contudo, os diferentes níveis vertebrais. Empregamos este mesmo método (Salles e Braz, 1998) no estudo de epífises de rádio e do osso calcâneo, em indivíduos normais e portadores de osteoporose, com resultados expressivos na caracterização dos padrões do osso esponjoso.

Assim, acreditamos que este método pode ser empregado na avaliação da qualidade do osso esponjoso vertebral e trazer informações mais detalhadas a respeito do osso normal e porótico, uma vez que a densitometria não responde às questões a respeito da arquitetura vertebral.

### Agradecimentos

Ao Professor Marcos Farina de Souza, Chefe do Laboratório de Biomineralização do Departamento de Anatomia/ICB/UFRJ pela revisão no processamento matemático. À Prof<sup>á</sup>. Elise Tonomura (Chefe do Serviço) e aos funcionários James Coelho e Neuza Fernandez, do Serviço de Radiodiagnóstico e Medicina Nuclear do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho/UFRJ pelos procedimentos radiográficos.

### Referências

Ballard, D. Brown, C (1982) Computer Vision. New Jersey: Prentice-Hall.  
 Batschelet, E. (1975), *Introduction of Mathematics for Life Scientists*, Berlin: Springer-Verlag, 2<sup>nd</sup> Edition.  
 Baxes, G.A. (1994). *Digital Image Processing: Principles and Applications*, New York: John Wiley & Sons.

Cowin, S.C. (1985), "The Relationship Between the Elasticity Tensor and the Fabric Tensor". *Mechanics of Materials*, v.4, n.137-147.  
 Garn, S.M., Rohmann, C.G., Nolan, P. Jr. (1964), *The Developmental Nature of Bone Changes. Relations of Development and Aging*. Springfield: Charles C. Thomas, p. 41-61. Apud: Steinbach, H.L. (1965), "Roentgenology of the Skeleton in the Aged." *Radiologic Clinics of North America*, v. 3, n. 2, p. 277-350.  
 Gibson, L.J. (1985), "The Mechanical Behavior of Cancellous Bone". *Journal of Biomechanics*, v. 18, n. 5, p. 317-328.  
 Gonzales, R.C., Woods, R.E. (1993), *Digital Image Processing*. Massachusetts: Addison-Wesley Publish. Co., p. 81-128.  
 Hall, S. (1993), *Biomecânica Básica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 45-46.  
 Hert, J. (1994), "A New Attempt at the Interpretation of the Functional Architecture of the Cancellous Bone". *Journal of Biomechanics*, v. 27, n. 2, p. 239-242.  
 Hjalgrim, H., Lynerup, N, Petersen, D, Möhr, F. (1993) Stereolithography: Potential Applications in Anthropological Studies. *American Journal of Physical Anthropology*, v. 97, p. 329-333.  
 Inoué, S, Spring, KR, (1997) *Video Microscopy: The Fundamentals*. New York: Plenum Press, 2<sup>nd</sup> Ed.  
 Kapandji, I. (1980), *Fisiologia Articular: Esquemas Comentados da Mecânica Humana*. São Paulo: Manole, v. 1, p. 22-23.  
 Kreysig, E. (1976), *Matemática Superior*. Rio de Janeiro: Livros Técnicos-Científicos, vol. 3.  
 Lillesand, T.M., Kiefes, R.W. (1994), *Remote Sensing and Image Interpretation*. New York: John Wisley & Son.  
 Lim, JS (1990), *Two-Dimensional Signal and Image Processing*. New Jersey: Prentice-Hall.  
 Meyer-Arendt, J.R. (1995), *Introduction to Classical and Modern Optics*. New Jersey: Prentice Hall, 4<sup>th</sup> edition.  
 Oxnard, C.E. (1993), "Bone and Bones, Architecture and Stress, Fossils and Osteoporosis". *Journal of Biomechanics*, 26 (suppl. 1), p. 63-79.  
 Pope, M.H. (1989), "Biomechanics of the lumbar spine". *Annals of Medicine*, v. 21, n. 5, p. 347-351.  
 Russ, J.C. (1991), *Computer-Assisted Microscopy: The Measurement and Analysis of Images*. New York: Plenum Press.  
 Salles, A.D., Braz, V.S. (1998), "Osteoporose: Um Novo Olhar. Processamento Digital de Imagens Radiográficas". *Radiologia Brasileira*, n. 31, p. 369-373.  
 Spiegel, M.R. (1972), *Cálculo Avançado – Coleção Schaum*. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, Ltda.  
 Steinbach, H.L. (1964), "The Roentgen Appearance of Osteoporosis". In: *Radiologic Clinics of North America*, v. 2, n. 2, p. 191-207.  
 Steinbach, H.L. (1965), "Roentgenology of the Skeleton in the Aged". In: *Radiologic Clinics of North America*, v. 3, n. 2, p. 277-350.  
 Steindler, A. (1964), *Kinesiology of the human body: under normal and pathological conditions*. Illinois: Charles Thomas Publishier. 2<sup>nd</sup> ed., p. 139-141.  
 Trotter, M., Broman, G.E., Peterson, R.R. (1960), "Density of Bones of White and Negro Skeletons". *Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume*, v.42, p. 50-58.

- Versterby, A. (1993), "Star Volume in Bone Research: a Histomorphometric Analysis of Trabecular Bone Structure using Vertical Sections". *Anatomical Record*, v. 235, n. 2, p. 325-334.
- Watkins, C., Sadun, A., Marenka, S. (1993), *Modern Image Processing: Warping, Morphing, and Classical Techniques*. Boston: Academic Press Professional.
- Weinmann, J.P., Sicher, H. (1948), *Bone and Bones - Fundamentals of Bone Biology*. St. Louis: C.V. Mosby.
- Wigderowitz, C.A., Abel, E.W., Rowley, D.I. (1997), "Evaluation of cancellous structure in the distal radius using spectral analysis". *Clinical Orthopaedics and Related Research*, v. 335, p. 152-61.