



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS**  
**MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD**  
**CAMPO DISCIPLINARIO DE EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA**

**VALORACIÓN DEL COMPONENTE TRABECULAR VERTEBRAL**  
**EN NIÑOS SANOS POR MEDIO DE DXA A TRAVÉS DE LA**  
**ESCALA DE HUESO TRABECULAR (TRABECULAR BONE**  
**SCORE - TBS)**

**TESIS**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE**  
**MAESTRO EN CIENCIAS**

**PRESENTA**  
**DR. MIGUEL ANGEL GUAGNELLI MARTINEZ**

**TUTORA: DRA. PATRICIA CLARK PERALTA**  
**UNIDAD DE EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA HIMFG**  
**FACULTAD DE MEDICINA, UNAM**

**CIUDAD DE MÉXICO, OCTUBRE 2017**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## Índice

Resumen .....	3
Antecedentes y marco teórico .....	6
Origen de los métodos de medición de densidad ósea .....	6
Fisiología y anatomía del hueso .....	7
Fundamentos del DXA .....	9
DXA en pediatría .....	10
TBS.....	14
TBS en población adulta .....	17
TBS en niños.....	18
Edad ósea .....	21
Planteamiento del problema .....	24
Justificación.....	24
Pregunta de Investigación .....	25
Objetivos de investigación .....	25
Metodología .....	25
Criterios de inclusión. ....	26
Criterios de exclusión.....	26
Descripción de la metodología .....	27
Diseño Arquitectónico .....	28
Consideraciones éticas.....	28
Consideraciones de Bioseguridad.....	29
Resultados .....	29
Discusión.....	36
Conclusión .....	40
Bibliografía.....	41

## Resumen

### **Planteamiento del problema:**

El DXA (Absorciometría dual de rayos X o densitometría) ha demostrado ventajas en niños como una herramienta que valora la densidad ósea, tiene amplia disponibilidad, bajo costo y limita la dosis de radiación a cantidades poco significativas, mientras que proporciona información relevante respecto a los patrones de mineralización durante el periodo de crecimiento. En el grupo de edad pediátrica, sin embargo, no hay una relación tan estrecha entre densidad ósea y el riesgo de fracturas como lo existe en los adultos. Contar con una herramienta adicional para el análisis de imágenes DXA podría aportar información útil para predecir el riesgo de fracturas en población pediátrica y conocer patrones normales de osificación, además de identificar pacientes en riesgo antes de alcanzar el pico de masa ósea.

TBS (Trabecular Bone Score) es un método de análisis informático de imágenes obtenidas mediante DXA con enfoque cualitativo de la microarquitectura ósea. Utilizando las mismas imágenes obtenidas de un densitómetro, evalúa las variaciones a nivel pixel y aporta un índice indirecto de la complejidad trabecular. Esto es, a partir de un análisis del tono de grises y la homogeneidad de tonos en los pixeles en la imagen puede inferir la complejidad de hueso trabecular. No se trata de una medición física directa de la microarquitectura del hueso sino de una escala calculada a partir de la representación bidimensional de un objeto tridimensional, concretamente los cuerpos vertebrales lumbares. Existe evidencia de la utilidad de TBS en adultos para mejorar la predicción de riesgo de fracturas, con potencial para mejorar el análisis de la resistencia ósea en niños pero en este grupo no hay datos normativos. Los intentos previos por obtenerlos han dado como resultado datos difíciles de interpretar.

### **Justificación:**

Obtener datos normativos de TBS en población pediátrica puede abrir la posibilidad a un uso más amplio en niños. La acreción ósea y el aumento de complejidad ósea durante la edad pediátrica, tanto en la salud como la enfermedad, aún no son plenamente

comprendidos. El uso de TBS podría aportar información adicional de forma relativamente accesible.

### **Pregunta de Investigación:**

¿Cuáles son las diferencias de textura / microarquitectura de columna lumbar por grupo de edad medidos por medio de TBS relacionados con la edad en población en niños y adolescentes de 4 a 19 años de edad de la ciudad de México?

### **Objetivos de investigación**

Principal: Evaluar las diferencias de textura / microarquitectura de columna lumbar por grupo de edad la edad en población infantil y adolescente de ambos sexos por medio de la determinación de valores promedio de la Escala de Hueso Trabecular (TBS) adquirida por medio de DXA en una muestra de niños de 4 a 19 años de la ciudad de México.

Secundario: Valorar los cambios en valores de TBS en dicha población cuando se usa edad ósea en vez de edad cronológica al analizar los datos.

### **Material y Métodos:**

Diseño del estudio: estudio transversal

Población: niños y adolescentes clínicamente sanos de 5 a 19 años de edad de la ciudad de México.

Lugar de desarrollo del estudio: Unidad de Epidemiología Clínica del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Se realizó DXA de 565 niños (269 de sexo femenino) de 4 a 19 años. Las imágenes de columna lumbar se anonimizaron y enviaron para su análisis TBS con el desarrollador del software (MedImaps, Pessac, Francia) .

### **Resultados:**

Se realizaron gráficas de dispersión de densidad mineral ósea por área (DMOa) para edad cronológica, para evaluar su comportamiento y en la que se encontró una  $r^2$  lineal de 0.733 en niñas y de 0.66 en niños, con un comportamiento semejante al reportado previamente. Sin embargo, al realizar este mismo procedimiento para resultados de TBS, la  $r^2$  fue de de

0.36 para niños y 0.38 para niñas. Para intentar explicar mejor dichas gráficas de acuerdo a los distintos grupos de edad, se utilizó Loess (Regresión local), la cual en niñas describe una forma de U semejante a las descritas en estudios previos, con un nadir alrededor del grupo de 10 años. En niños, en cambio, no se observa la curva en forma de U pero se aprecia una inflexión alrededor de los 11 años.

Los datos se reanalizaron reemplazando edad cronológica por edad ósea para tomar en cuenta un posible efecto de las diferentes edades de inicio de pubertad en niños y niñas como potencial confusor. En las mismas gráficas de dispersión con curva Loess pero empleando edad ósea se observa un cambio notable en la curva de niñas, donde se aprecia una línea recta hasta la edad ósea de 9, a partir del cual se observa una inflexión en incremento, que igualmente es lineal hasta el final de la curva. En niños se observa la misma tendencia pero a diferencia de las niñas, el punto de inflexión se observa a la edad ósea de 11 y la pendiente posterior es menos pronunciada.

Con base en las gráficas previas, se construyeron curvas de normalidad TBS-edad ósea utilizando el método estadístico LMS, en ellas se observa el comportamiento que presentan a lo largo de las diferentes edades y los puntos de inflexión pueden observarse de forma más clara. Dichas gráficas muestran que la edad ósea puede servir efectivamente para diseñar curvas de normalidad reproducibles.

## **Antecedentes y marco teórico**

El crecimiento es tal vez la característica más notable de la infancia, su estudio es importante debido a que en muchos sentidos es un reflejo de la salud del individuo numerosos procesos patológicos pueden alterarlo. El crecimiento involucra, entre otros factores, la elongación, engrosamiento y aumento en complejidad del esqueleto que funciona como marco y andamiaje del resto del cuerpo. El crecimiento macroscópico se refleja en el aumento longitudinal para cuyo estudio en general sólo ha sido necesario contar con una cinta métrica o un estadímetro. Por ello hay casi tres siglos de experiencia en su evaluación desde las primeras observaciones respecto al patrón de crecimiento longitudinal hechas por Buffon a principios del siglo XVIII [1] y un gran número de curvas de crecimiento se han desarrollado desde entonces en distintos países y actualizadas de acuerdo a los patrones de crecimiento secular de la población.

De forma paralela aunque no siempre simultánea, el esqueleto aumenta en complejidad y adquiere las características de resistencia estructural que lo harán soportar tanto las actividades cotidianas como traumatismos significativos. El estudio de los procesos que llevan a modificar la estructura ósea a nivel macro y microscópico no se dio sino hasta el siglo XX con el uso generalizado de la radiografía, cuando comenzaron a observarse los fenómenos relacionados con incremento de minerales y cambio en la estructura ósea durante el crecimiento y especialmente en presencia de patologías que alteran la resistencia ósea. Aunque inicialmente se realizaron estudios intentando emplear radiografía convencional utilizando algún tipo de comparación para relacionar con el contenido mineral y el riesgo de osteoporosis los resultados en general fueron poco reproducibles, ya que la fortaleza de este método está en mostrar la morfología ósea, no su densidad.

## **Origen de los métodos de medición de densidad ósea**

En la década de 1960 surgió la absorciometría de un fotón (SPA), entonces un método innovador para medir el contenido mineral óseo empleando una fuente de yodo radioactivo ( $^{125}$ ) aunque de uso limitado a extremidades. El principio básico de este método era medir

el equivalente de hidroxapatita, el principal componente mineral del hueso, y que este funcionaría como un proxy o sustituto de la resistencia ósea. Más tarde se desarrolló la absorciometría de dos fotones (DPA) utilizando gadolinio ( $Gd^{153}$ ) que emite dos tipos distintos de rayos gamma, con mejor resolución y capacidad de medir cadera y región lumbar aunque debido al bajo flujo de fotones que genera este elemento requería de tiempos prolongados de exposición. Para validar esas herramientas de imagen se realizaron estudios en modelos animales y cadáveres en los que se comparaba el contenido mineral medido contra el contenido en cenizas tras incinerar el hueso, con valores de correlación altos.

A mediados de los años 80 se desarrolló la absorciometría de rayos X de doble energía o DXA que permitió realizar mediciones de cualquier parte del cuerpo de forma reproducible y con menor tiempo de escaneo debido a que su principio se basa en un alto flujo de fotones de baja energía, exponiendo a los sujetos a menores dosis de radiación [2]. Así fue posible detectar de forma no invasiva a aquellos pacientes con mayor riesgo de fractura, antes de que ocurriera. La aparición del DXA ayudó a realizar un estudio sistemático de la forma en la que el esqueleto adquiere densidad y fuerza tanto en el aumento del contenido mineral (cristales de hidroxapatita), como del aumento en complejidad de los componentes estructurales, hueso complejo y hueso trabecular.

## Fisiología y anatomía del hueso

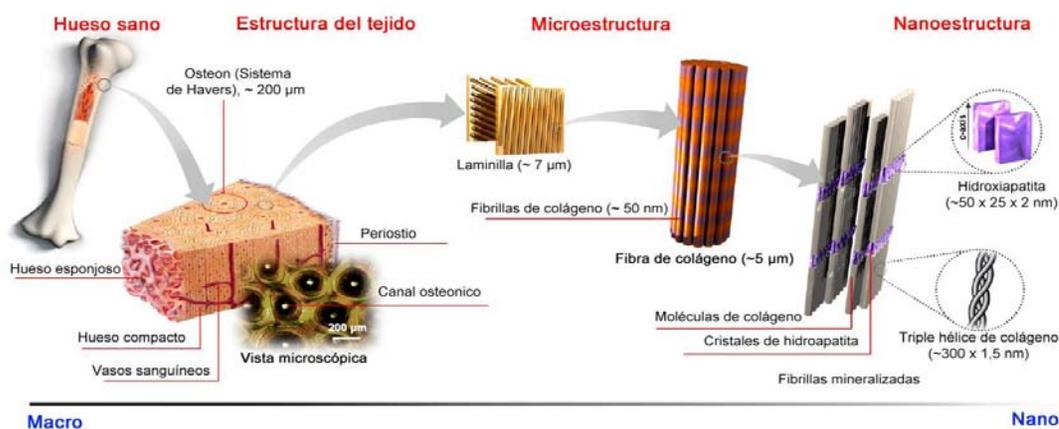


Ilustración 1 Estructura ósea de macro a micro, resalta la importancia del hueso cortical compacto del hueso trabecular o esponjoso.

El hueso es un tejido vivo y dinámico donde un equilibrio de la acreción (depósito) y resorción (disolución o reabsorción) del contenido mineral mantiene su integridad, le permite repararse a sí mismo e incluso modificar su estructura microscópica de acuerdo a influencias del medio interno (i.e. enfermedades) y externo (i.e. ejercicio). Los huesos tienen un componente externo llamado cortical que es compacto y de gran resistencia junto con otro componente interno llamado trabecular que es poroso, suave y donde en algunas zonas convive con la médula ósea. Ambos aportan características diferentes en términos de resistencia y flexibilidad, pero ambos están formados cristales de hidroxapatita en forma de laminillas que se organizan dentro de una matriz protéica formada principalmente por colágeno, proteoglicanos y proteínas glucosiladas, llamado osteoide. La interacción microscópica entre osteoide y cristales, además de la organización entre hueso cortical y hueso trabecular, aportan resistencia y flexibilidad al hueso como unidad [3].

Además de esta diferencia estructural, cortical y trabecular difieren en su tasa de recambio, es decir, en la velocidad con la que pueden sufrir cambios derivados del mencionado balance entre acreción y resorción. El hueso cortical al ser más denso suele tener una tasa de recambio más lenta por lo que el impacto tanto de enfermedades como de medicamentos suele ser más lento. En cambio, el hueso trabecular es metabólicamente más activo ya que no sólo su recambio es mayor, sino que puede ser utilizado como reservorio de calcio en situaciones en las que los niveles de este elemento en sangre son bajos. En esas situaciones se cambia el balance para aumentar la resorción y es posible emplear el contenido mineral del hueso para mantener la calcemia estable, todo esto bajo el control de una compleja red hormonal. [4]. En consecuencia, el hueso trabecular es más susceptible de modificarse como resultado influencias endocrinas (v.g. hipotiroidismo), sistémicas (v.g. nutrición), terapéuticas e incluso durante los periodos de crecimiento acelerado. La consecuencia de esto es que los huesos largos con predominio de cortical presentan una tasa metabólica menor que las vértebras, en las que predomina el trabecular. Las modificaciones resultado de las influencias antes mencionadas pueden reflejarse en estudios que valoran las cualidades óseas, como el DXA.

## Fundamentos del DXA

El principio de funcionamiento del DXA es la transmisión de rayos X producidos a partir de una fuente de rayos X estable con energías alta y baja. Los fotones se emiten con suficiente energía para atravesar el cuerpo y aún ser detectados. A mayor densidad y grosor de un tejido, mayor será la atenuación (absorción de los fotones) de los rayos X que lo atraviesan, de forma que cada tejido tendrá un patrón particular de atenuación. Utilizando un fantoma de calibración, un equipo puede emplearse para distinguir hueso de tejido blando, permitiendo medir por un lado la superficie proyectada del esqueleto (representación bidimensional de un objeto tridimensional) como calcular el contenido de calcio de las estructuras óseas basándose en la atenuación. El uso de dos energías diferentes permite mejorar significativamente la capacidad de detección, por lo que además de mejorar la detección de diferencias en el hueso, equipos de nuevas generaciones son capaces de distinguir masa grasa de masa magra y pueden ser empleados para estudiar la composición corporal basada en un modelo de tres componentes [5].

Los datos que se obtienen a partir de un estudio DXA son superficie ósea en centímetros cuadrados y contenido mineral óseo (CMO) medido en equivalente de gramos de hidroxiapatita. Al dividir CMO entre la superficie se obtiene la densidad mineral ósea (DMO) que puede ser empleado como un valor sucedáneo de la resistencia ósea. Al emplearse en el estudio de mujeres posmenopáusicas y hombres mayores de 55 años se encontró que un valor bajo comparado con una población de referencia (T-score) se relaciona con mayor riesgo de fracturas, es decir, un valor bajo de DMO se diagnostica como osteoporosis y esta implica un mayor riesgo de fracturas de columna, de cadera y otros huesos [6]. Basado en datos procedentes de DXA, la OMS publicó una definición de osteoporosis en 1994 [7] que actualizó posteriormente en el año 2003 [8]. Actualmente la Sociedad Internacional para la Densitometría Clínica (ISCD) emite recomendaciones periódicamente sobre el uso de DXA y de su aplicación en el contexto clínico.

La DMO, sin embargo, se basa en una proyección bidimensional de un objeto tridimensional. Con la aparición de métodos diferentes de medición que son capaces de evaluar el volumen óseo, se ha preferido llamar densidad mineral ósea por área o DMOa al

resultado obtenido por DXA, en contraste a la volumétrica o DMOv que se puede obtener por otros métodos. Al contar con métodos diferentes de análisis de la resistencia ósea, se ha hecho evidente que la DMOa medida por DXA es un método *cuantitativo* de medición que determina el contenido de cristales de calcio, pero no es capaz de discriminar características cualitativas como la organización de las trabéculas ni el grosor o porosidad del hueso cortical, mismas que le confieren al hueso su resistencia.

### **DXA en pediatría**

El DXA además de cambiar el paradigma en el estudio de la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas y adultos mayores, empezó a tener amplia disponibilidad, lo que aunado al uso de poca radiación permitió comenzar a realizar estudios en pacientes pediátricos. Charles Enrique Dent, pionero en la investigación del metabolismo óseo, ya en 1973 señaló que “La osteoporosis senil es una enfermedad pediátrica” [9] refiriéndose a la importancia de una adecuada acreción ósea durante el crecimiento para prevenir la osteoporosis.

La ilustración 1 muestra la historia natural de la masa ósea; esta se comienza a adquirir en el tercer trimestre del embarazo, de forma que al nacimiento se aproxima a los 50g en un neonato a término. A partir de ahí incrementará de forma constante durante la infancia y más acelerada durante el brote de crecimiento puberal. Durante toda la etapa de crecimiento, el sustrato genético determina alrededor del 80% del proceso de adquisición de masa ósea, pero tres factores tienen una influencia significativa en el resto: nutrición, (particularmente la disponibilidad de calcio, vitamina D y proteínas), hormonas (tiroideas y hormona de crecimiento inicialmente, a lo que se suman los esteroides sexuales durante la pubertad) y la realización de ejercicio [10]. Su presencia inadecuada o insuficiente durante este periodo puede influir significativamente en el resultado final. La elongación ósea responsable del crecimiento longitudinal termina entre los 13 y los 19 años, pero la masa ósea continúa aumentando hasta la tercera década de la vida, cuando llega a un punto máximo llamado masa ósea pico y que es de aproximadamente 2kg en mujeres y 3kg en hombres. A partir de ese punto establece una meseta y continuará un proceso de reorganización, pero no aumentará más hasta que alrededor de los 50 años coincidiendo

con la menopausia en mujeres o aproximadamente a los 60 años en hombres comenzará su declive, mismo que puede llevar a una pérdida significativa de masa ósea, en un proceso continuo que primero lleva a la osteopenia o masa ósea baja y que puede progresar hacia la osteoporosis, que incrementa el riesgo de fracturas. La evolución de la masa ósea a lo largo de la vida es influenciada por factores como los ya mencionados (nutrición, hormonas y ejercicio) sobre la base de un importante componente genético[11], aunque también puede ser modificada por estilo de vida (i.e. tabaquismo), enfermedades (i.e. diabetes) consumo de medicamentos, entre otros. Se ha estimado que cambios relativamente pequeños pueden tener un impacto significativo: un incremento de 10% en la masa ósea pico promedio puede retrasar hasta en 15 años la osteoporosis y umbral de fractura, mientras que 10% por debajo del promedio puede adelantarla en 10 años [12].

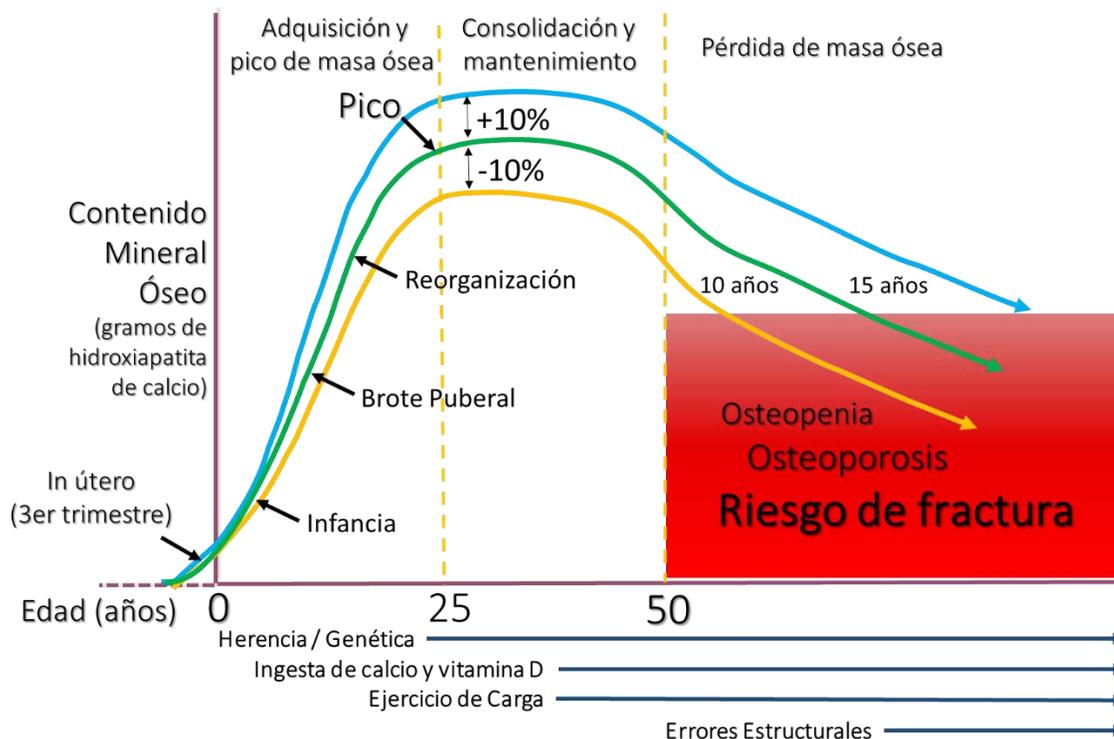


Ilustración 2 Historia natural de la masa ósea y los factores que predisponen al desarrollo de osteoporosis. Modificado de Heaney et al., 2000 y de Hernandez et al., 2003

Como se mencionó previamente, el incremento de la masa ósea es paralelo pero no siempre simultáneo al crecimiento longitudinal que corresponde al incremento de talla corporal. Por

ejemplo, al realizar estudios de seguimiento con DXA a nivel lumbar durante la pubertad, se observa que presenta un pico en la velocidad de acreción [13] y que este se presenta en promedio un año después del pico en la velocidad de crecimiento del brote puberal [14] como se ve en la ilustración 2. En su momento esto contrastó con los estudios iniciales realizados con densitometría periférica en equipos antiguos, en donde se observó que la acreción ósea puberal a nivel periférico parecía ser lineal, lo que evidenció las diferencias entre diferentes sitios anatómicos, confirmando la diferencia en la tasa metabólica de los huesos de extremidades –formados primordialmente por hueso cortical- y las vértebras –formadas primordialmente por hueso trabecular-.

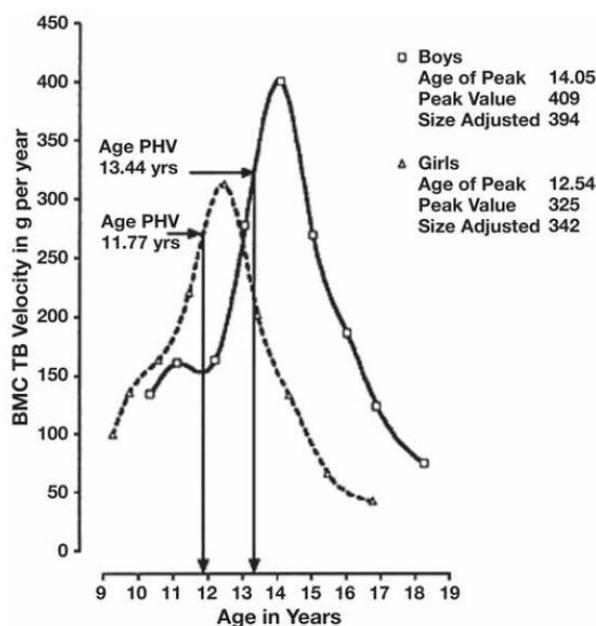


Ilustración 3 Velocidades pico de acreción de DMO en niños y niñas según Bailey y cols. 1999

Actualmente la densitometría es utilizada ampliamente en pediatría con fines clínicos y de investigación. Numerosos países han generado curvas de normalidad de la DMO en población pediátrica como Tailandia [15], Países Bajos [16], India [17], Corea del Sur [18], China [19], Japón [20], Suecia [21], España [22], Reino Unido [23] EUA y Canadá [24], por mencionar algunos. La ISCD emite posicionamientos sobre el uso de DXA en población pediátrica, el más reciente en 2014 [25].

Sin embargo, el simple contenido de minerales en el hueso es insuficiente para predecir el riesgo de fracturas en niños, en quienes la que la microestructura ósea es tan importante como el contenido de minerales [26]. Se estima que la Densidad Mineral Ósea (DMO) en adultos (excluyendo poblaciones de riesgo) sólo explica del 60 al 80% de la resistencia ósea, por lo que sigue siendo un sucedáneo que puede ser mejorado [27]. En niños esta cifra es aún menor.

Una de las principales limitantes para el uso de la información procedente de DXA convencional es su incapacidad para discernir hueso cortical o compacto del hueso trabecular o esponjoso. Como se mencionó previamente, ambos aportan al hueso una parte de su resistencia estructural y evolucionan a diferentes ritmos tanto en la acreción de hueso en el crecimiento como en la pérdida del mismo en la edad adulta [28], además de que tampoco toma en cuenta otros componentes como la calidad del osteoide. Tal vez tiene que poner arriba que el DXA es un método cuantitativo, que mide con precisión los cristales de hidroxipatita. Estos se encuentran tanto en el hueso cortical como en el trabecular. Este método no mide otros componentes de la estructura que también se encuentran relacionados con la resistencia del hueso.

En poblaciones diferentes a las mujeres posmenopáusicas y hombres mayores de 55 años, especialmente en niños, no contar con estos datos limita la aplicabilidad de la DMOa como un índice de resistencia ósea. Con metodologías distintas se han podido obtener medidas específicas de hueso trabecular y cortical, como la tomografía cuantitativa (QCT) en vértebras y la tomografía cuantitativa periférica (pQCT) en brazos y piernas, lo que mejora el cálculo de resistencia ósea [29]. Sin embargo, estos estudios en general se han limitado a su uso en investigación debido a factores como el exceso de radiación necesaria, el alto costo de los equipos y a poca disponibilidad de datos normativos [27]. De ahí la necesidad de contar con nuevos elementos para analizar la estructura trabecular al interior del hueso, donde se encuentra la mayor parte de la fortaleza estructural del mismo, idealmente obtenida por medio de DXA, ya que es el método más disponible; se estima que existen más

de 50,000 densitómetros de cuerpo entero alrededor del mundo, en todos los continentes y en todos los países [30].

## **TBS**

Al contar con equipos que generan mejores imágenes, ha sido posible desarrollar estrategias diferentes para el análisis de los datos generados por el DXA. Uno de ellos es la escala de hueso trabecular o Trabecular Bone Score (TBS). Esta es una herramienta basada en software para el análisis que intenta medir la microarquitectura ósea en la región lumbar. Se diseñó para analizar imágenes 2D procedentes directamente del sensor del equipo, en las que mide las variaciones en tono de gris de los píxeles. Para hacerlo toma en cuenta las amplitudes y distribuciones del tono de gris sobre la imagen de DXA para crear un variograma, mismo que puede calcularse como la suma de las diferencias en tono de gris entre píxeles a una distancia específica. Dicho de una forma sencilla, el variograma surge de un análisis del tono de grises y la homogeneidad de tonos en los píxeles.

Por medio de un algoritmo, el variograma es usado para realizar la reconstrucción de un objeto tridimensional (el cuerpo vertebral, de forma de cilíndrica) a partir de una silueta bidimensional, como lo es la proyección de una vértebra lumbar. Esto se hace aprovechando la naturaleza porosa del hueso trabecular dentro de la vértebra, que le confiere características particulares de atenuación de los rayos X. De esta forma, si se conoce la imagen y el variograma de una vértebra con una complejidad trabecular adecuada y con una resistencia conocida, al igual que las de una vértebra con trabecular dañada y resistencia disminuida, puede calcularse la diferencia y estimar la disminución en complejidad trabecular, como un proxy de resistencia física. Esto fue mostrado de forma experimental como se observa en la ilustración 4 [31]:

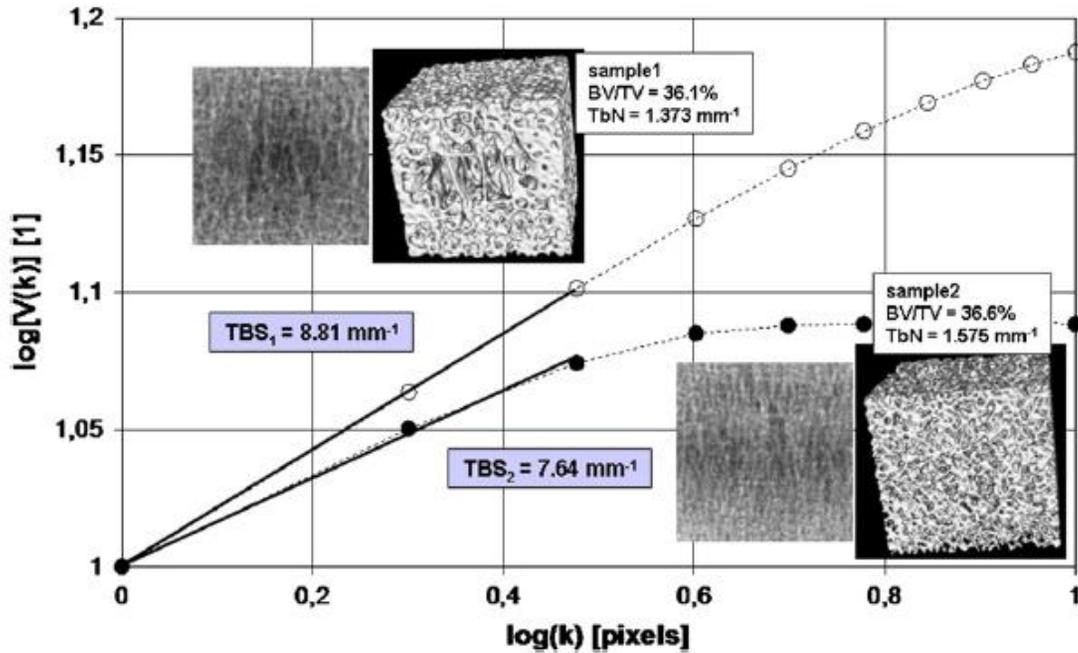
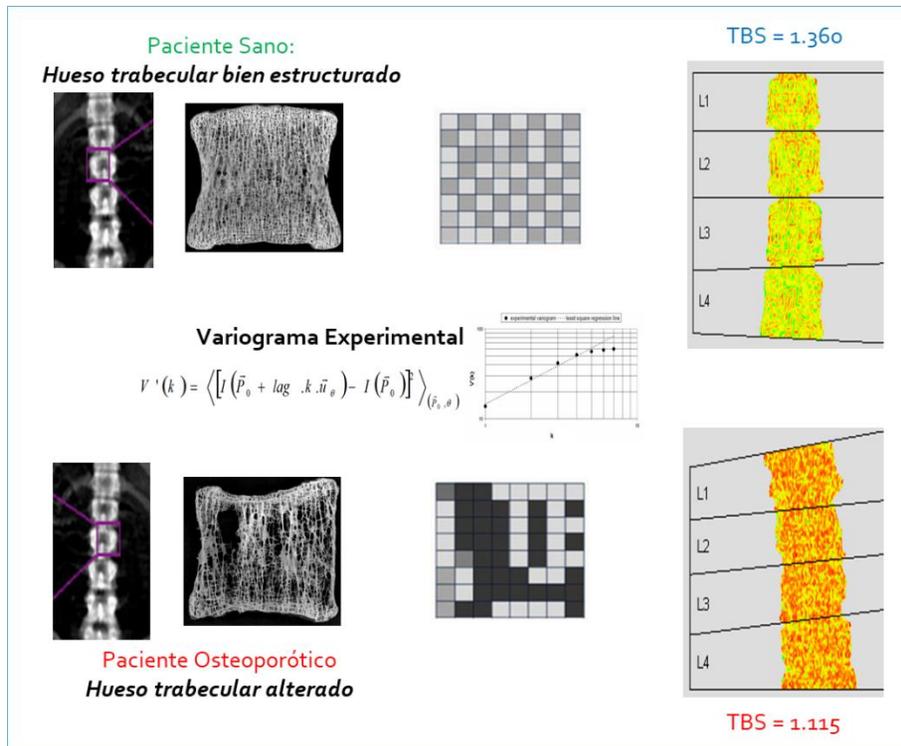


Ilustración 4 Ejemplo del diseño de variograma con dos vértebras, una de mayor densidad trabecular, otra menor y su correlación con la resistencia a compresión. De acuerdo a Pothuaud, L. y cols. 2008

En la imagen pueden observarse dos vértebras cadavéricas a las que se realizó histología para valorar la complejidad trabecular, micro tomografía computada ( $\mu\text{CT}$ ) para análisis estructural y pruebas de resistencia física. El principal valor obtenido de la  $\mu\text{CT}$  fue la diferencia entre volumen vertebral total (BV) y el volumen trabecular (TV), que al dividirse emite una cifra sin unidades, misma que puede relacionarse con la densidad de grises aportado por el variograma. Este valor sin unidades fue llamado TBS.

Así, el TBS puede calcularse como la pendiente de la transformación logarítmica del variograma, el cual correlaciona con la complejidad del hueso trabecular en los cuerpos vertebrales lumbares de forma que la textura de la imagen obtenida por DXA está ligada a la textura del hueso proyectado y a su resistencia.



**Ilustración 5 Representación de las diferencias en TBS en relación al daño en la microarquitectura vertebral en dos individuos con densidad mineral ósea (DMO) semejantes**

Esta metodología fue sometida a varios pasos de validación incluyendo análisis de elementos finitos en vértebras obtenidas de cadáveres en los cuales un menor TBS se relacionó con una mayor fragilidad vertebral al someterlas a pruebas de stress y correlacionar con imágenes tomográficas [31]. Estos datos se ajustaron en simulaciones para tomar en cuenta el tejido adiposo abdominal que “suaviza” el patrón de grises al adquirir las imágenes por DXA y añade cierto ruido, que debe tomarse en cuenta [32]. Finalmente en un estudio de casos y controles de mujeres pre vs posmenopáusicas usando tomografía como estándar de oro permitió trazar una curva ROC [33]. A partir del 2011 se han publicado al menos 10 estudios de cohorte en diferentes países, en mujeres posmenopáusicas y hombres mayores de 50 años [34].

Actualmente, en su versión comercial, el análisis de TBS se considera un índice de textura que por medio de análisis informático evalúa las variaciones a nivel pixel en escala de grises de las imágenes de vértebras lumbares obtenidas por DXA convencional y aporta un índice indirecto de la microarquitectura trabecular [35]. No se trata de una medición física directa

de la microarquitectura del hueso sino de una escala calculada por computadora de la representación bidimensional de un objeto tridimensional, pero permite obtener más información por medio de un procedimiento sencillo, rápido y de poca radiación como es el DXA [36]. Al utilizar DMO y TBS en estudios tanto retrospectivos como prospectivos en mujeres y hombres adultos, es posible mejorar la capacidad de predecir fracturas respecto al sólo valor de DMO [37]. La Sociedad Internacional para la Densitometría Clínica (ISCD) emitió un posicionamiento en 2015 acerca de la aplicabilidad y limitaciones del TBS en población adulta [27].

### **TBS en población adulta**

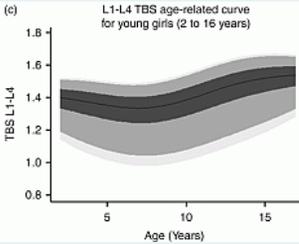
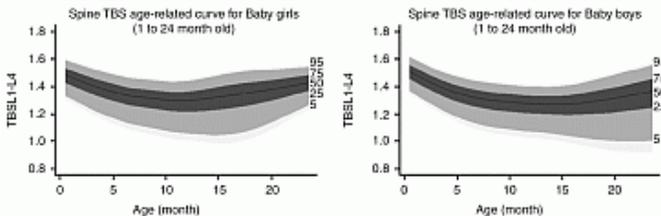
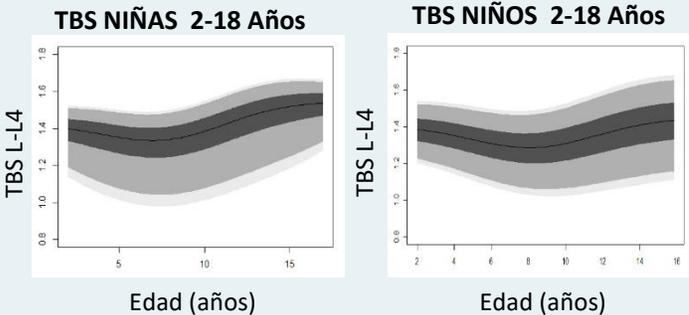
Durante los últimos años se ha observado un aumento en la incidencia de osteoporosis en la población adulta y se estima que las fracturas de cadera y vertebras aumentarán de forma significativa conforme la población continúa creciendo en tamaño y envejece [38]. Esto conlleva un aumento en la morbilidad, mortalidad y una carga económica al sistema de salud. Estas incrementan de forma significativa después de los 50 años, particularmente en mujeres, pero su origen se encuentra en la infancia y en la juventud debido a una pérdida acelerada de masa ósea o a que no se logró una masa ósea pico adecuada [39] como ya se explicó previamente.

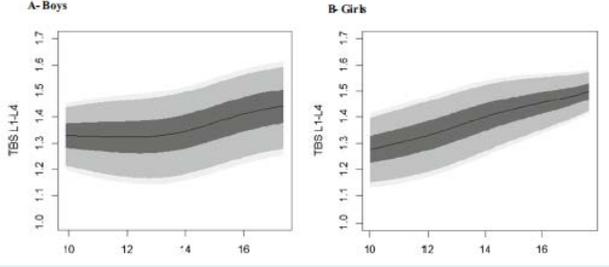
La interpretación de imágenes obtenidas por DXA a través de TBS es una herramienta de reciente desarrollo y la información que provee está siendo probada en muchos centros en el mundo en población adulta. Ejemplos de estudios son la cohorte retrospectiva de Manitoba, Canadá en el que se analizó la historia clínica e imágenes de 29,407 mujeres [40] y en el que se encontró que el TBS es comparable a la DMO en predicción de fracturas, pero juntos predicen mucho mejor el riesgo de fracturas. Otra cohorte prospectiva de 1007 mujeres de tres ciudades europeas que se siguieron durante un promedio de seis años [41] arrojó resultados semejantes, confirmando que añadir el TBS a la DMO aumenta las posibilidades de predecir una fractura vertebral. En total, entre 2011 y 2015 se han publicado siete estudios de cohorte que incluyen más de 50 mil hombres y mujeres de diez países, que han explorado el score TBS lumbar y el riesgo de fractura en adultos [34]. Un estudio de validación posterior realizado en vértebras de donadores analizadas ex vivo por

TBS y posteriormente a través de  $\mu$ CT y análisis mecánico, con lo que se encontró que TBS y su relación con la resistencia mecánica tiene una correlación débil con la DMO, por lo que constituye un predictor de resistencia ósea por si mismo[42].

### TBS en niños

La información disponible sobre estudios con TBS hechos en niños sanos se limita a una publicación y cuatro comunicaciones de congresos que se resumen a continuación:

Del Río LM et al 2013 [43]	España	Transversal	415 niñas sanas de 1 a 16 años	
Winzenrieth R et al 2013 [44]	Francia	Transversal	143 niñas, 109 niños sanos de 0 a 2 años	
Del Río LM et al 2014 [45]	España	Transversal	4126 Niños y adolescentes de ambos sexos. (2606 Niñas y 1520 Niños) Edad 0-19 años	
Libber J et al 2015 [46]	EUA	Longitudinal	68 niñas a lo largo de 18 meses	TBS incrementó 5.5% de 1.269 basal a 1.342 al mes 18.

Shawwa K et al 2016 [47]	Líbano	Transversal	170 niños, 168 niñas de 10-17 años	
--------------------------	--------	-------------	--	--

Lo más relevante de esta tabla es que en los datos obtenidos en todos los estudios parece haber una curva en forma de U, que no es consistente con el género de los participantes y que incluso se presenta en el estudio de España que incluye mayor número de pacientes. Esto ha llevado a dudar acerca de la naturaleza de estas curvas, si es realmente un fenómeno biológico o existe algún posible factor confusor, lo que ha evitado también que se publiquen datos de normalidad de TBS para niños.

Una posible explicación para esta heterogeneidad de datos es la presencia de factores emergentes durante el desarrollo que modifiquen la complejidad trabecular evaluada por TBS pero que aparezcan de forma dispar respecto al tiempo. En particular, el proceso de la pubertad involucra una serie de cambios fisiológicos que incluyen el inicio de producción de esteroides sexuales por parte de las gónadas, un brote de crecimiento longitudinal seguido de un incremento en la densidad mineral ósea y el logro de la estatura final que tendrá el individuo en su vida adulta. En la ilustración 6 puede observarse la gráfica de velocidad de crecimiento para varones realizada por Carrascosa y colaboradores basada en una cohorte de más de 30 años en España [48]. En ella se observa la velocidad de crecimiento en función de la edad, inicialmente rápida y en descenso pronunciado durante los primeros dos años de vida para mantenerse relativamente estable durante la edad preescolar y hasta el periodo prepuberal, para nuevamente acelerarse durante el pico de crecimiento puberal y finalmente disminuir conforme el crecimiento se acerca a su final.

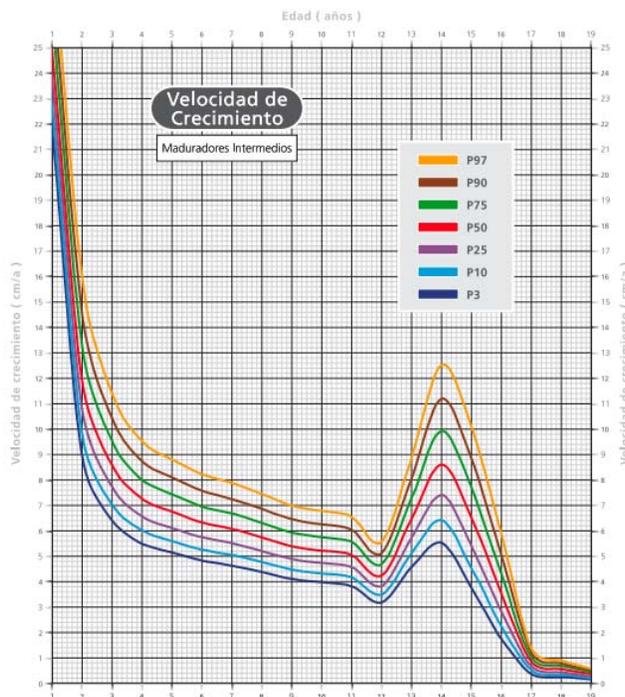
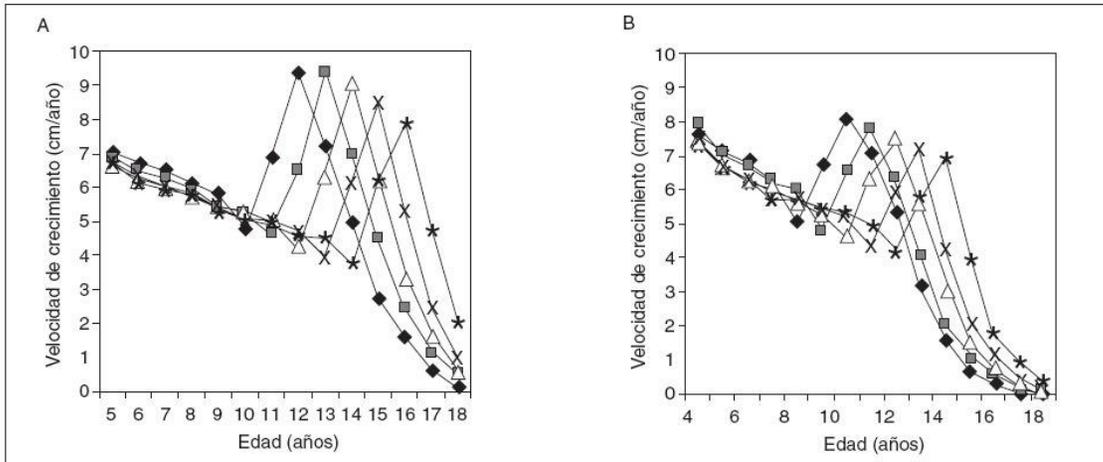


Ilustración 6 Curvas de velocidad de crecimiento para varones en cm/año de acuerdo a Carrascosa y cols. 2010

La pubertad puede variar tanto en el inicio de presentación como en su duración, fenómeno ampliamente estudiado por Tanner en el Reino Unido durante la década de 1970 [49] y confirmado a lo largo de las siguientes décadas en otras poblaciones. El inicio de la pubertad puede ser tan temprano como 8 años en niñas o 9 en niños y tan tardío como 12 en niñas o 14 en niños, un rango amplio para un fenómeno biológico. Para fines de estudio y predicción de talla final, se ha clasificado a niños y niñas por el tiempo de inicio de la pubertad como maduradores tempranos (8 años niñas, 9 años niños), intermedios (10 años niñas, 12 años niños) y tardíos (12 años niñas, 14 años niños), con lo cual se encuentran ciertos patrones de regularidad para dicho fenómeno. En un estudio más detallado, el grupo colaborador de España incluso lo clasifica en 5 grupos (maduradores muy tempranos, tempranos, intermedios, tardíos y muy tardíos) para explicar mejor el fenómeno de diferencia de edades de inicio de pubertad y de aparición del brote puberal de crecimiento como se puede ver en la ilustración 7 [50].



**Ilustración 7** Edad de presentación del brote de desarrollo puberal de acuerdo al tipo de maduración en niños y niñas de acuerdo a Carrascosa y cols. 2008

A este respecto, Tanner y su equipo encontraron que pese a la variación en edades de inicio, es posible predecir el inicio del brote puberal de crecimiento por medio de las características de los núcleos de osificación de la mano [51], la llamada edad ósea.

### Edad ósea

Desde la aparición de la radiografía, fue evidente que en niños el proceso de osificación no está aún completo sino hasta el final de la pubertad. Aunque se hicieron intentos por describir el patrón en el que suceden estos eventos tan temprano como 5 años después del descubrimiento de la radiografía [52], fueron necesarios estudios de seguimiento durante las décadas de los años 1930 a 1950 para obtener métodos reproducibles con los cuales fuera posible el cálculo de la edad a partir de una imagen, resultando la mano elegida por sencillez y reproducibilidad. Basado en uno de ellos, llevado a cabo por la fundación Bright en Cincinnati entre 1929 y 1959, el atlas radiográfico del desarrollo esquelético de la mano y la muñeca publicado en 1958 por William Walter Greulich y S. Idell Pyle [53] se estableció como un método relativamente sencillo.

El cálculo de edad ósea se basa en el principio de progresión gradual y predecible de los núcleos de osificación epifisarios y de los huesos del carpo que al nacimiento están formados predominantemente de cartílago y que gradualmente se osifican hasta la fusión total de los extremos con la desaparición de la placa de crecimiento como se puede observar con el ejemplo de la rodilla en la ilustración 8.



Ilustración 8 Progresión de la osificación en la articulación de rodilla. Fémur, tibia y peroné se osifican de forma predecible aunque a edades distintas (rosa niñas, azul niños) Tomado de Hermanussen M. y cols. 2013

Siguiendo esta línea de pensamiento, al observar características que comúnmente se presentan a cierta edad, puede crearse un sistema para calcular la maduración ósea que se expresa en años y meses. Así se crearon dos metodologías diferentes para calcular la maduración ósea de un individuo en edad pediátrica, con el sistema de atlas del cual el de Greulich y Pyle ya mencionado es el más empleado[53], o el sistema de puntaje, del cual el ejemplo más comúnmente utilizado es el de Tanner y Whitehouse[54].

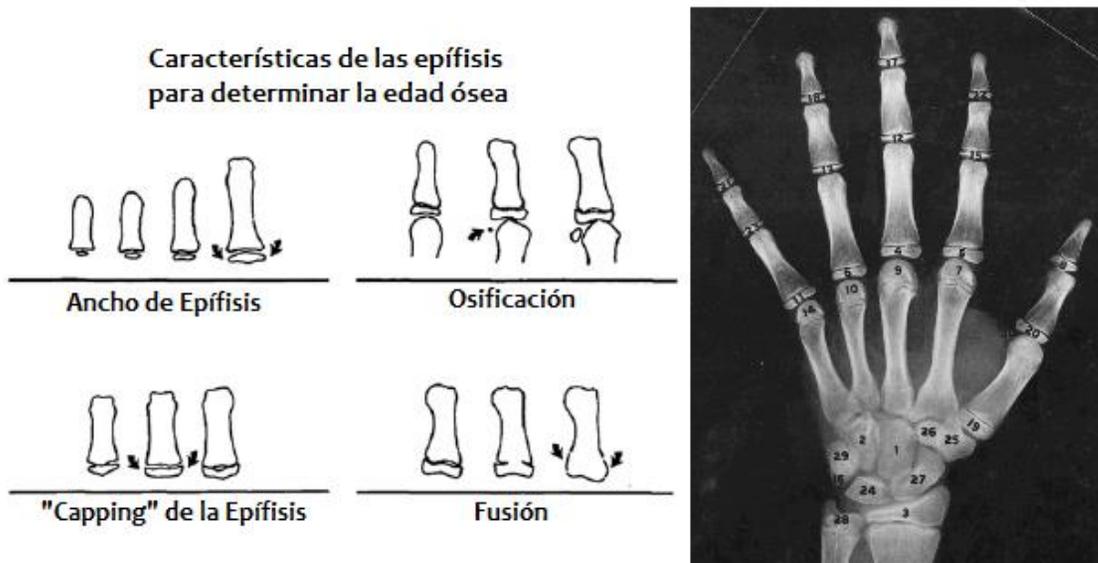


Ilustración 9 De acuerdo a Greulich y Pyle (1959) las características que determinan la edad ósea a distintas edades, además de la aparición de los huesos del carpo

Como se mencionó previamente, Tanner y colaboradores al estudiar el proceso normal de la pubertad en niños y niñas, encontraron que pese a las diferencias en edad cronológica

de inicio de la pubertad, la edad ósea es consistente con el inicio del brote puberal ya que los cambios morfológicos en las epífisis tienen una relación directa con la presencia de esteroides sexuales, mismos que caracterizan el inicio de la pubertad [55]. Debido a lo anterior, la edad ósea es capaz de controlar la variabilidad en la edad del inicio de la pubertad pese a las diferentes edades cronológicas en las que puede iniciar.

La obtención de la edad ósea habitualmente se hace a partir de la lectura directa de radiografías convencionales analógicas en película o digitales al comparar la imagen con el patrón del atlas o con la escala. Es de resaltar, sin embargo, que Hoyer-Kuhn y colaboradores han empleado DXA para obtener imágenes de mano y encontraron un coeficiente de correlación intraclase de 0.97 al comparar radiografía digital convencional con imágenes obtenidas de DXA [56]. Basado en estos datos y aprovechando el tiempo en densitometría, fue posible adquirir imágenes de mano apropiadas para el cálculo de edad ósea e incluir los datos en el estudio.

## Planteamiento del problema

El DXA en niños ha demostrado ventajas al tener amplia disponibilidad, bajo costo y limitar la dosis de radiación a cantidades poco significativas, mientras que proporciona información relevante respecto a los patrones de mineralización durante el periodo de crecimiento y puede ayudar a potenciar su masa ósea final [57]. En esta población, sin embargo, no hay una relación tan estrecha entre DMO y riesgo de fracturas como lo existe en los adultos, por lo que la Sociedad Internacional de Densitometría Clínica desalienta el uso del término osteoporosis en esta población y recomienda hablar de “pérdida de masa ósea” [25]. Contar con una herramienta adicional para el análisis de imágenes DXA podría aportar información útil para predecir el riesgo de fracturas en población pediátrica y conocer patrones normales de osificación, además de identificar pacientes en riesgo antes de alcanzar el pico de masa ósea [57].

TBS es un método de análisis de imágenes obtenidas mediante DXA con enfoque cualitativo de la microarquitectura ósea con potencial para mejorar el análisis de la resistencia ósea en niños. Existe evidencia de la utilidad de TBS en adultos para mejorar la predicción de riesgo de fracturas, pero en niños no hay datos normativos. Los intentos previos por obtenerlos han dado como resultado datos difíciles de interpretar.

Existen sectores de la población pediátrica en riesgo de desarrollar alteraciones en la densidad ósea, el más notable de todos es el de los niños con sobrepeso y obesidad, pero también pacientes portadores de enfermedades crónicas como insuficiencia renal, neoplasias sanguíneas y sólidas, receptores de trasplante de órgano sólido, y los trastornos del apetito por mencionar algunos [58]. Para conocer la evolución del tejido óseo durante el crecimiento y sus alteraciones debidas a procesos patológicos, es necesario comprender a profundidad los cambios en los componentes estructurales del hueso.

## Justificación

Obtener datos normativos de TBS en población pediátrica puede abrir la posibilidad a un uso más amplio en niños. La acreción ósea y el aumento de complejidad ósea durante la edad pediátrica, tanto en la salud como la enfermedad, aún no son plenamente

comprendidos. El uso de TBS podría aportar información adicional de forma relativamente accesible.

## Pregunta de Investigación

¿Cuáles son las diferencias por grupo de edad de textura / microarquitectura de columna lumbar medidos por medio de TBS relacionados con la edad en población en niños y adolescentes de 4 a 19 años de edad de la ciudad de México?

## Objetivos de investigación

### Principal:

Identificar las diferencias de textura / microarquitectura de columna lumbar por grupo de edad en población infantil y adolescente de ambos sexos por medio de la determinación de valores promedio de la Escala de Hueso Trabecular (TBS) adquirida por medio de DXA en una muestra de niños de 4 a 19 años de la ciudad de México.

### Secundario:

Valorar los cambios en valores de TBS en dicha población cuando se usa edad ósea en vez de edad cronológica al analizar los datos.

## Metodología

Diseño del estudio: estudio transversal

**Población:** niños clínicamente sanos de 4 a 19 años de edad de la Ciudad de México.

**Lugar de desarrollo del estudio:** El estudio se llevará a cabo en la Unidad de Epidemiología Clínica del Hospital Infantil de México Federico Gómez-Facultad de Medicina UNAM.

**Tamaño de muestra:** Se basó en el cálculo de un intervalo de confianza para una media, con base en un promedio de 1.2 desviaciones estándar por grupo de edad, tomado de los reportados en estudios de valores normativos en varios países para densidad mineral ósea como se observa en la tabla 1.

Tabla 1 Estudios de normalidad de DMO en diferentes países

Autor	País	Año	n (hombres)	Edades	Menor DE (edad)	Mayor DE (edad)
-------	------	-----	-------------	--------	-----------------	-----------------

Del Río	España	1994	471 (256)	3m – 21a	0.05 (1)	0.12 (19)
Van der Sluis	Países bajos	2002	444 (188)	4-20 a	0.062 (4)	0.187 (19)
Ward	Reino Unido	2007	442 (239)	6-17 a	0.048 (7)	0.14 (14)
Lee	Corea del sur	2007	446 (224)	2-18 a	0.01 (3)	0.18 (15)
Xu	China	2007	877 (505)	5-14	0.031 (5)	0.073 (14)
Baxter-Jones	Canada/EUA	2009	5173 (1944)	8-25 a	0.34 (hombres)	0.56 (mujeres)
Alwis	Suecia	2010	1469 (759)	6-30 a	0.03 (6)	0.23 (13)
Zemel	EUA	2011	2014 (992)	5-23 a	0.113 (18)	0.131 (8)
Nakavachara	Tailandia	2014	367 (174)	5-18 a	0.040 (6)	0.150 (11)

Además, se utilizó 1.5 como intervalo de confianza para buscar diferencias entre grupos de edad con lo que se obtuvo una N de 10 individuos por sexo y grupo de edad, en total 300 considerando grupos de 4 a 19 años.

$$N = \frac{4Z\alpha^2 S^2}{W^2}$$

Za=1.96

S= 1.2 (doble de la reportada)

W=1.5 (ancho del intervalo de confianza)

N= 10 x grupo de edad y por sexo Total = 300

La muestra fue consecutiva y a conveniencia dado que se trata de un estudio exploratorio

### **Criterios de inclusión.**

Niños de 4 a 19 años de edad.

Firma de consentimiento y asentimiento informado (en mayores de 8 años).

Clínicamente sanos por historia clínica

### **Criterios de exclusión.**

Uso crónico de glucocorticoides

Enfermedades crónicas

## Descripción de la metodología

Se invitó a pacientes clínicamente sanos (determinado por historia clínica) a participar en el estudio, previa explicación del estudio y firma de consentimiento informado de sus padres o representantes legales y de asentimiento por los niños. Se invitó igualmente a hermanos o familiares que desearan participar.

Se les citó en la Unidad de Epidemiología Clínica del Hospital Infantil de México Federico Gómez-Facultad de Medicina UNAM, donde se realizó una breve historia clínica y se tomaron parámetros antropométricos (talla y peso). Se obtuvieron escaneos por DXA en un equipo iDXA (General Electric) con un software pediátrico y modo rápido de escaneo que incluyó cuerpo completo, columna lumbar y además de mano no dominante para calcular edad ósea.

La dosis de radiación del DXA es extremadamente baja, estimada entre 5 y 10  $\mu\text{Sv}$ , la cual es equivalente a la exposición de la radiación natural durante un día. El escaneo general toma entre 5 y 10 minutos y no requiere sedación.

Para el cálculo de TBS se trabajó con los desarrolladores del software (Medimaps, Francia) quienes desarrollaron una versión personalizada que incluye corrección de tejidos blandos (particularmente tejido adiposo) para sujetos pediátricos.

La edad ósea fue interpretada por un mismo sujeto (el autor de este trabajo) usando las tablas de Greulich y Pyle y empleando la metodología estándar[53].

## Diseño Arquitectónico

### Estudio Transversal

#### Forma de Selección de los Pacientes:

Muestra consecutiva y a conveniencia



#### Demarcación

##### Diagnóstica

Sin antecedentes  
de fracturas  
Sin consumo  
crónico de  
glucocorticoides

#### Estratificación del Paciente

Peso  
Talla  
Edad ósea

## Consideraciones éticas

Se trató de un estudio con riesgo mayor al mínimo debido a la utilización de radiación ionizante. De acuerdo con lo declarado por el fabricante, en un estudio de columna lumbar existe una dosis de entrada estimada de  $37\mu\text{Gy}$  ( $37\mu\text{Si}$ ). Considerando realizar un estudio de cuerpo completo y fémur dual como parte del estudio para recabar datos posteriormente, se añaden  $49\mu\text{Gy}$  con un total aproximado de  $86\mu\text{Gy}$ . Sin embargo, estudios hechos en niños en el Reino Unido (Hull, H, 2009) con el mismo tipo de equipo (Lunar iDXA, General Electric) han determinado que la dosis por estos estudios es menor, cercana a los  $70\mu\text{Gy}$ , que es aproximadamente el 70% de la dosis de radiación recibida durante una radiografía de tórax ( $100\mu\text{Gy}$ ). La baja radiación que reciben los niños durante un estudio DXA ha permitido realizar estudios poblacionales para determinar curvas de normalidad de densidad mineral ósea como se explica más adelante, sin incremento significativo en el riesgo de patologías relacionadas a la exposición a rayos X.

## Consideraciones de Bioseguridad

Durante la realización de este estudio no se emplearon reactivos ni se tomaron muestras biológicas.

En el proyecto se utilizaron *fuentes de radiaciones ionizantes*. De acuerdo a la NOM-229-SSA1-2002 la densitometría ósea no requiere licencia. Se utilizó el Equipo iDXA lunar GE con un filtro de cerio que produce energía de 45 y 80keV con el objetivo de determinar la densidad mineral ósea de cada paciente.

De acuerdo con el manual del fabricante no es necesario el uso de material aislante ni de ropa especial en tanto el operador del equipo siempre se mantenga al menos a un metro de distancia del brazo que contiene el emisor de rayos X.

## Resultados

Se realizaron escaneos con DXA de la región lumbar para obtener DMO y TBS, así como imágenes anteroposteriores de la mano no dominante en 565 niños (269 de sexo femenino) de 4 a 19 años. Se realizó el análisis de DXA convencional de acuerdo a los parámetros del programa del fabricante (enCore v.15), se recolectó la información y se inició la clasificación de pacientes. Las imágenes fueron anonimizadas y enviadas a Medimaps en Francia para su análisis por medio de una versión personalizada de TBS iNsight, con lo que se obtuvo un score TBS para cada paciente.

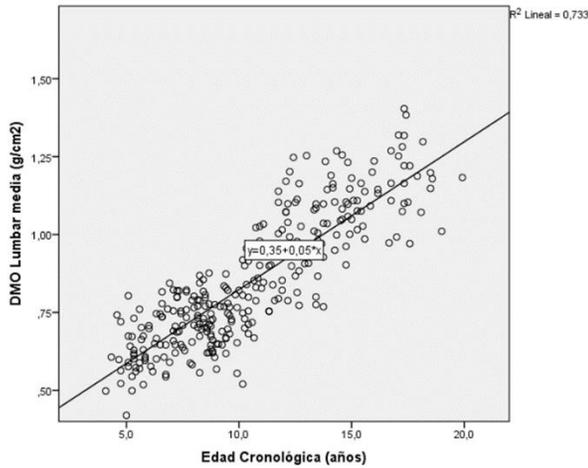
La tabla 2 muestra los individuos por sexo y grupo de edad.

Tabla 2 Individuos participantes por sexo y grupo de edad

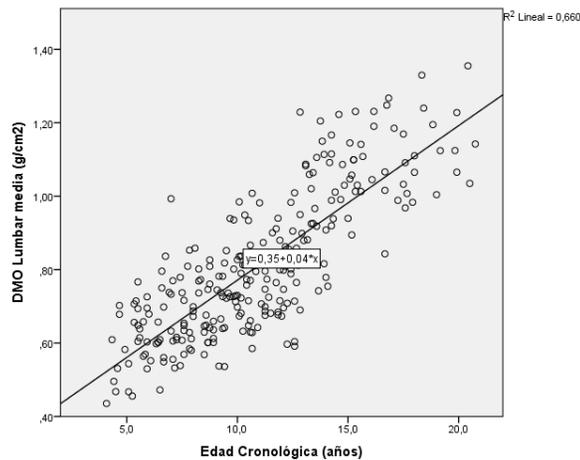
		Grupos de edad															
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Sexo	M	8	19	15	25	25	22	31	24	28	20	14	14	8	9	5	8
	F	7	28	22	27	45	28	25	19	20	20	20	13	7	15	5	5

Para el análisis estadístico se empleó IBM SPSS v.23. Se realizaron gráficas de dispersión de DMO para edad cronológica, para evaluar su comportamiento, mismo que se observa en la ilustración 10 y en la que se encuentra un coeficiente de determinación ( $r^2$  lineal) de 0.733

en niñas y de 0.66 en niños, semejante a lo reportado previamente en este grupo de edad [22].



Niñas



Niños

Ilustración 10 Relación DMO / edad cronológica en niños y niñas

En un segundo paso se evaluó la correlación bivariada de Pearson de los valores de TBS respecto a las otras tres variables, como se observa en la tabla 3. Es de notar que la correlación más baja se presenta respecto a la edad cronológica, si bien todas tienen significancia

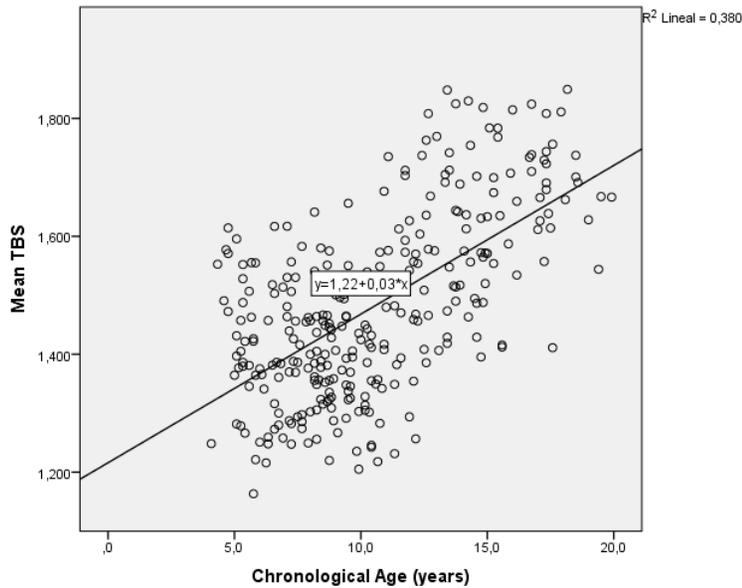
Tabla 3 Correlación bivariada de Pearson

		Edad Cronológica	Edad Ósea	DMO
TBS	Niñas	0.617**	0.665**	0.731**

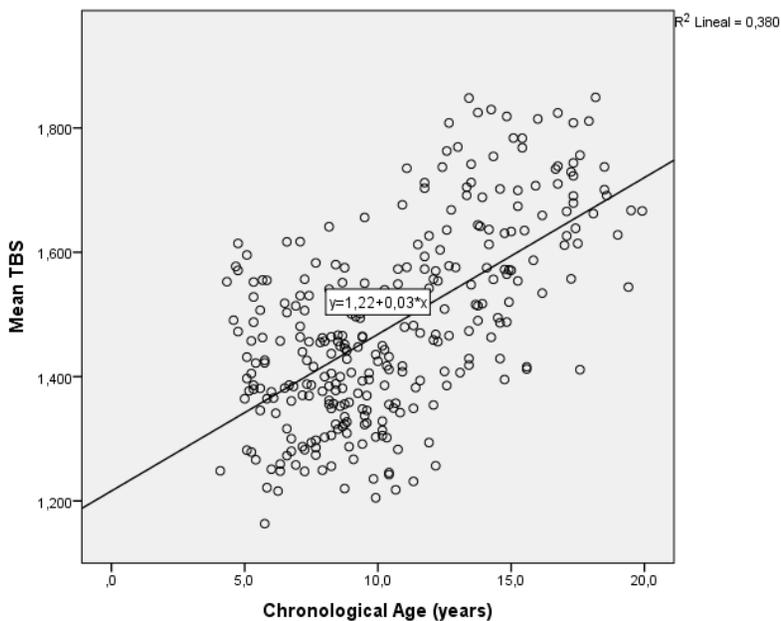
	Niños	0.448**	0.536**	0.680**
--	-------	---------	---------	---------

\*\*La correlación es significativa a nivel de 0.01 (2 colas)

Posteriormente los datos de TBS se analizaron de forma separada en niños y niñas, realizando una gráfica de dispersión para visualizar los datos. Se relacionó inicialmente valor TBS con edad cronológica en ambos sexos, con el que se calculó el valor de  $r^2$  que fue de 0.36 para niños y 0.38 para niñas como se puede observar en la ilustración 11.



Niñas

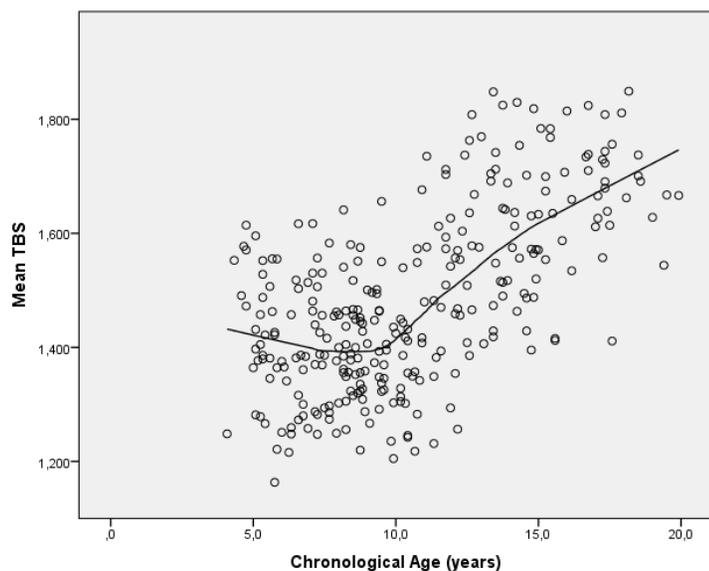


Niños

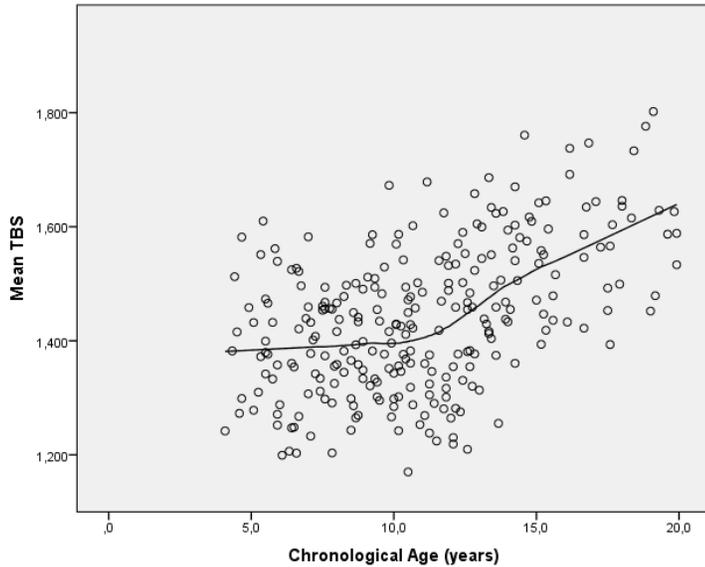
Ilustración 11 Gráficas de dispersión de valores TBS para edad cronológica en niños y niñas

Ya que se trata de un estudio poblacional que incluye diferentes grupos de edad y para intentar explicar mejor dichas gráficas, se utilizó Loess (Regresión local), un algoritmo diseñado para situaciones en que la regresión convencional (lineal, cuadrática o cúbica) no resulta adecuada o suficiente. Este reúne características de la regresión lineal por mínimos cuadrados con regresión no lineal mediante el ajuste de modelos sencillos sobre subconjuntos locales. Lo que se obtiene es una función que describe la parte determinista de la variación en los datos punto a punto, es decir, las tendencias de cada parte del gráfico traducida en una línea suavizada. En nuestra población es más adecuada porque describe mejor el comportamiento año por año.

La ilustración 12 muestra la misma gráfica de dispersión con la curva Loess añadida para explicar mejor la gran dispersión de los datos. En niñas la curva describe una forma de U semejante a las descritas previamente, con un nadir alrededor del grupo de 10 años. En niños, en cambio, no se observa la curva en forma de U pero se aprecia una inflexión alrededor de los 11 años.



Niñas

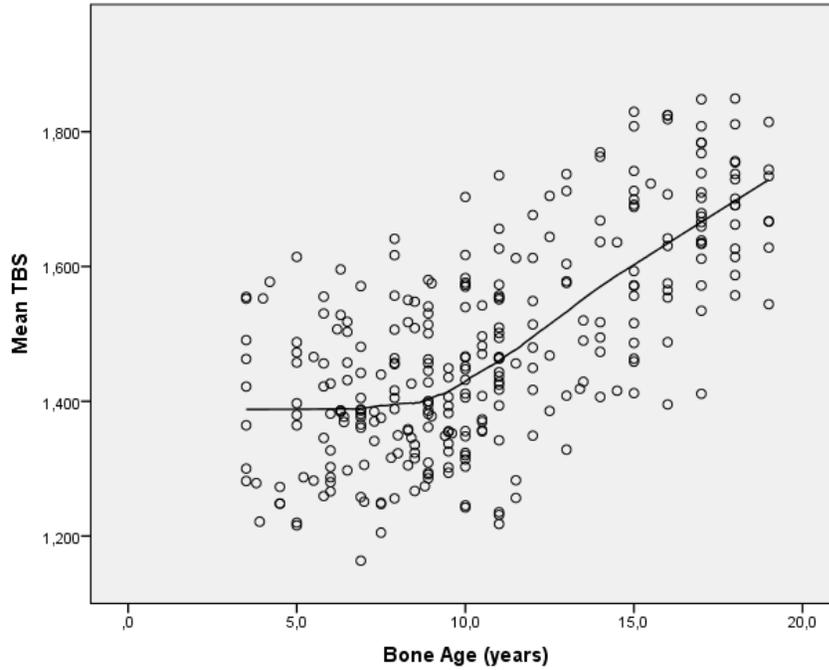


## Niños

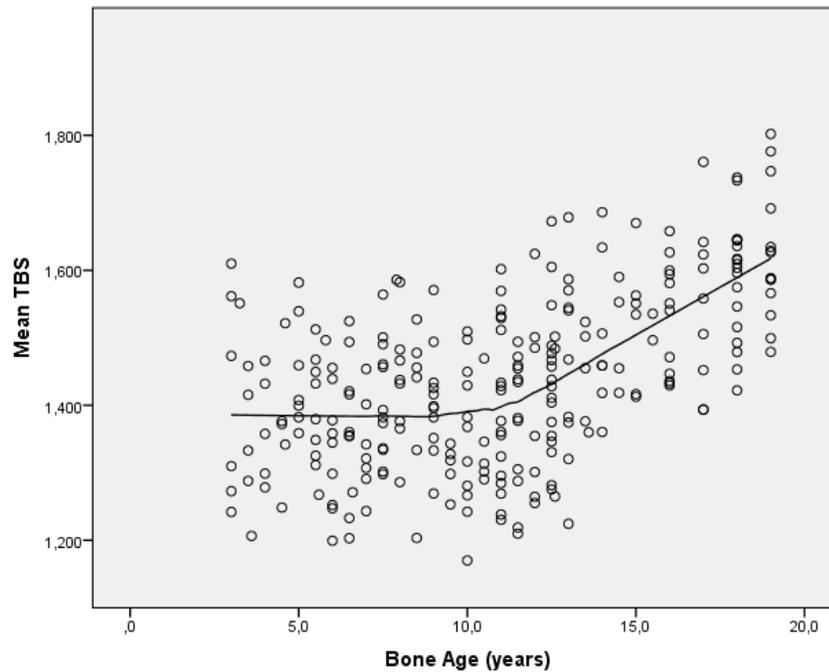
### Ilustración 12 Gráficas de dispersión TBS para edad cronológica con curva Loess añadida

Los datos se reanalizaron reemplazando edad cronológica por edad ósea. La razón de ello es la posibilidad de encontrar niños y niñas que no cumplen con el supuesto de presentar pubertad en el momento que corresponde a su edad ósea (el grupo que se considera de maduradores intermedios) sino que en una proporción importante haya discrepancia entre ambas por poder ser considerados maduradores tempranos o tardíos. La ilustración 10 muestra las gráficas de dispersión en las que se ha añadido curva Loess para contrastar con aquellas creadas usando edad cronológica.

Se observa un cambio notable en la curva de niñas, donde se aprecia una línea recta hasta la edad ósea de 9, a partir del cual se observa una inflexión en incremento, que igualmente es lineal hasta el final de la curva. En niños se observa la misma tendencia pero a diferencia de las niñas, el punto de inflexión se observa a la edad ósea de 11 y la pendiente posterior es menos pronunciada.



Niñas

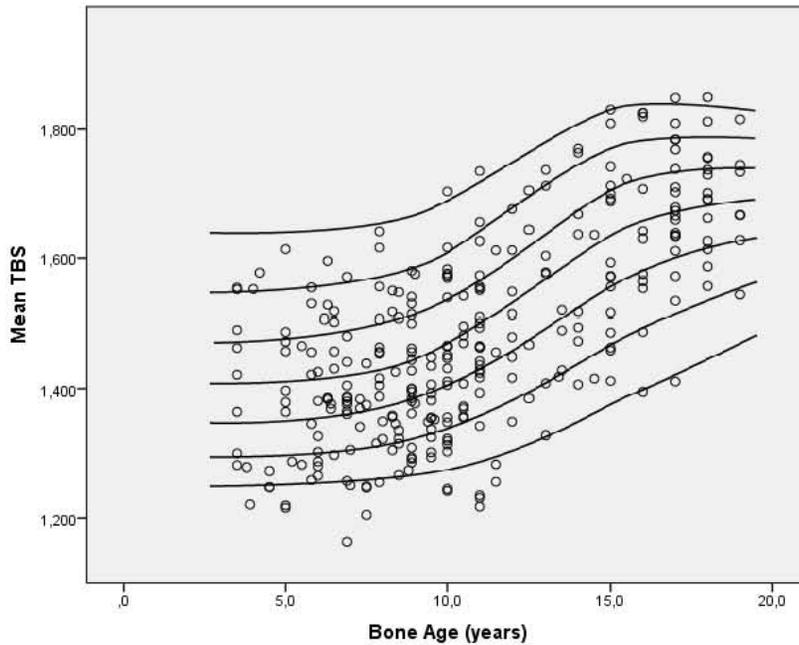


Niños

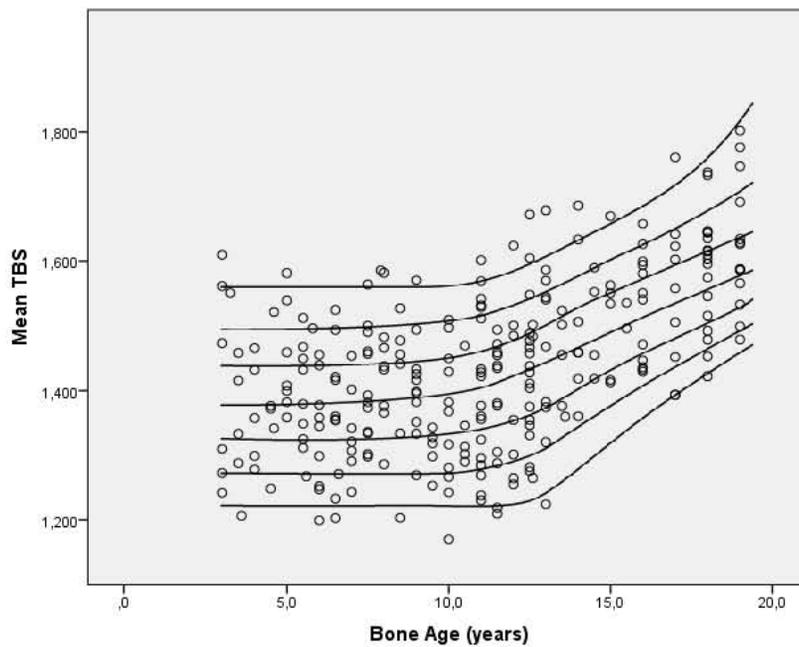
**Ilustración 13 Gráficas de dispersión TBS para edad ósea con curva Loess añadida**

Con base en las gráficas previas, se construyeron curvas de normalidad TBS-edad ósea utilizando el método estadístico LMS propuesto por Cole y Green [59]. Para ello se empleó LMSchartmaker v.2.3 (Harlow Healthcare, Londres). La ilustración 11 muestra la gráfica de

dispersión con las curvas añadidas, donde se observa el comportamiento que presentan a lo largo de las diferentes edades y los puntos de inflexión pueden observarse de forma más clara.



Niñas



Niños

Ilustración 14 Gráficas de dispersión TBS - edad ósea con curvas LMS añadidas. La línea central corresponde a la media.

## Discusión

En el presente trabajo se presentan y evalúan los valores de TBS en una muestra de 565 niños y adolescentes mexicanos de 4 a 19 años los cuales, al igual que en los análisis previos que han sido realizados por otros grupos, al realizar el análisis únicamente con la edad cronológica, presentan una curva en U evidente en los grupos de edad correspondientes al periodo puberal que se extiende durante varios años (ilustración 12). Todos estos estudios han sido realizados e interpretados tomando en cuenta solo la edad cronológica sin tomar en cuenta la edad ósea. Ya que conocemos que la edad ósea se relaciona mas con los cambios hormonales de la prepubertad y la pubertad que la edad cronológica, surgió la hipótesis de que ajustando para la edad ósea, los datos se corregirían positivamente ya que fisiologicamente parece tener mayor plausibilidad biológica. Se procedió a analizar la edad ósea de acuerdo al método de Greulich y Pyle que tiene una mejor correlación que la edad cronológica con los estadios fisiológicos de la pubertad y la incluimos como variable a analizar en nuestra muestra. Al realizar de nuevo el análisis se observó una corrección de las curvas, aceptando nuestra hipótesis conceptual que parece tener más sentido que la utilización sola de la edad cronológica.

En dichas curvas, a partir del inicio de la pubertad que corresponde a una edad ósea de 8 en niñas, 10 en niños, el valor de TBS presenta un incremento gradual. El correlato biológico de este fenómeno se basa en la presencia de esteroides sexuales: Estradiol en niñas, testosterona en niños, DHEA en ambos. Los efectos de estas hormonas sobre el hueso son a múltiples niveles pero primordialmente en la placa de crecimiento y en el balance absorción/resorción. El cartílago de crecimiento es un tejido sensible al efecto de los estrógenos y que expresa la enzima aromatasa, capaz de convertir testosterona en estradiol. Así, de forma directa en niñas o indirecta en niños, el estradiol promueve la aceleración del crecimiento longitudinal y el depósito de calcio. Además, por medio de mecanismos independientes, estradiol y testosterona modifican la actividad de osteoclastos y osteoblastos con un efecto global de aumento de acreción, disminución de resorción, expansión perióstica (ensanchamiento de la cortical) y aumento de grosor de las trabéculas en el interior del hueso. A diferencia del crecimiento longitudinal limitado a la

pubertad, la sensibilidad de osteoblastos y osteoclastos a esteroides es permanente, lo que explica la disminución de masa ósea relacionada con la menopausia y la andropausia [60].

Debido a lo anterior, es explicable que la complejidad trabecular sea fuertemente influenciada por la gran cantidad de esteroides sexuales relacionados con la pubertad.

Utilizando TBS para estudiar el proceso de adquisición de complejidad trabecular de forma semejante a lo que sucedió a principios de la década de los 90 cuando se utilizó DXA convencional para entender el proceso de adquisición de masa ósea durante la infancia, adolescencia e incluso vida adulta temprana.

Por ejemplo, en nuestra serie el valor de TBS en niñas prepuberales es de 1.374 en promedio, incrementan a una media de 1.667 a los 19 años. En niños, el aumento es de 1.357 en prepuberales hasta 1.636 a los 19 años, aunque parece acelerarse más respecto al tiempo en ellos. Al comparar estos datos con los publicados por Looker y colaboradores [61], en un grupo de pacientes tomados de la Encuesta nacional de salud de EUA (NHANES) entre 2005 y 2008, el único publicado hasta el momento que incluye tanto pacientes menores de 30 años de ambos sexos como de origen México-Americano, los valores de TBS en el grupo de 20 a 39 años son en promedio 1.447 en hombres y 1.462 en mujeres en el grupo Mexico-americano, que no difiere significativamente de los otros dos grupos reportados como se observa en la imagen 15.

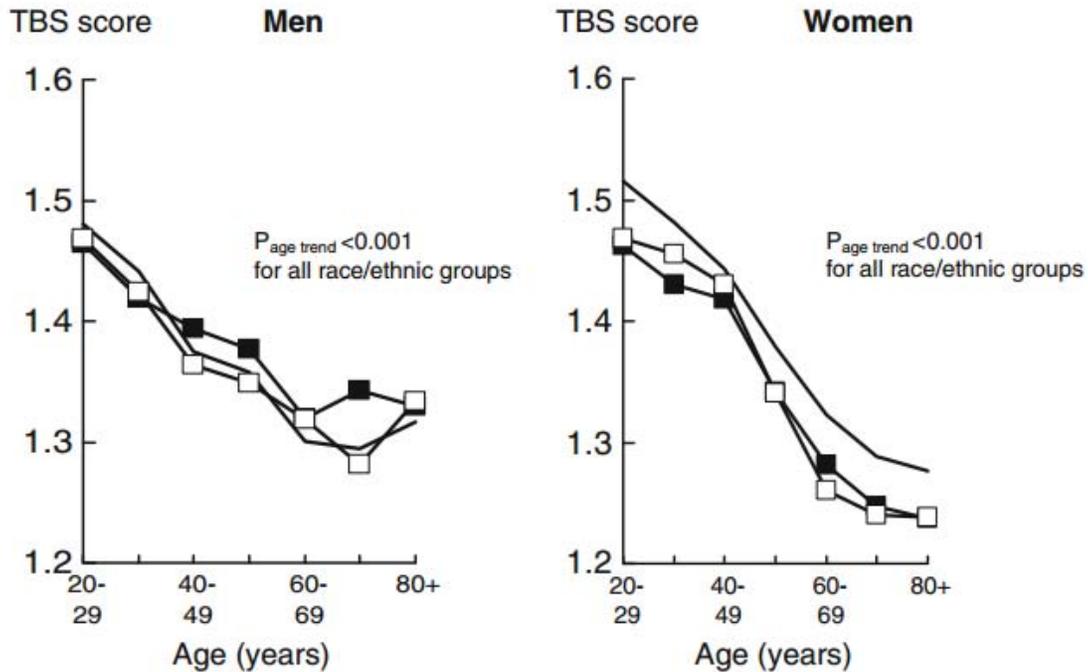


Ilustración 15 Valores de TBS en individuos caucásicos (sin cuadros), afroamericanos (cuadros sólidos) y mexicoamericanos (cuadros blancos) de los 20 a los 80 años, tomado de Looker y cols. 2016

En otras series, en la década de 30 a 40 años, se reportan valores medios de TBS de 1.381 en mujeres blancas del norte de EUA [62], de 1.39 en mujeres chinas [63], mientras que en mujeres japonesas el grupo de 20 a 24 años reporta 1.313 y de 25 a 29 1.311 [64]. Estos datos sugieren que, aún teniendo presentes las posibles diferencias por metodología, y del origen genético o cultural de las pacientes, podría haber un “TBS pico” más temprano que la masa ósea pico que se presenta entre los 25 y 30 años. Sería necesario estudiar una muestra mayor y que incluya pacientes entre los 18 y los 30 años para corroborar la presencia de este fenómeno.

Dicho estudio, unido con la población pediátrica, llevaría a contar con datos normativos más amplios, como ya se ha empezado a hacer en adultos en los ejemplos mencionados y otros [65-67].

La importancia de contar con los mencionados datos normativos se debe a que en muchos ámbitos del desarrollo y crecimiento durante la infancia y adolescencia, se emplean diversas tablas y curvas para evaluar cambios a lo largo de las distintas edades, como talla, peso, índice de masa corporal y velocidad de crecimiento, entre otros. Contar con algún tipo de

curva de normalidad para TBS abre la puerta para valorar la normalidad y reconocer estados patológicos. Esto es de particular interés ante la presencia de dos fenómenos: Por un lado, el gran número de pacientes pediátricos que presentan afectación del tejido óseo como consecuencia de enfermedades durante la infancia y los predispone a presentar masa ósea disminuida o franca osteoporosis [68], en particular los trastornos crónicos y su tratamiento, notablemente el cáncer infantil y el efecto de la quimioterapia [69] así como enfermedades autoinmunes y el efecto de la administración crónica de glucocorticoides sistémicos[70], por mencionar los dos ejemplos más relevantes. En ambas situaciones se ha demostrado la presencia de una alta prevalencia de fracturas vertebrales causadas por la pérdida de fuerza ósea y se podrían beneficiar de contar con una herramienta más para valorar tanto la severidad de su afectación como la respuesta a tratamiento.

En este aspecto, en patologías determinadas o situaciones particulares los niños pueden requerir tratamiento de distintos tipos como parte del manejo de la baja densidad ósea u osteoporosis, que suele incluir suplementos alimenticios y medicamentos como antiresortivos (i.e. pamidronato, zoledronato) o nuevas generaciones de anticuerpos monoclonales dirigidos a modificar el metabolismo óseo (i.e. denosumab) que pueden modificar la resistencia ósea y la curva de adquisición de masa ósea de formas aún no estudiadas por completo, y que podría beneficiarse del uso de una herramienta de imagen ampliamente disponible. Incluso se ha descrito que TBS y DMO en adultos se modifican de forma distinta de acuerdo los tratamientos empleados[71], así que conocer estos procesos en niños puede ayudar al seguimiento, particularmente durante la época de crecimiento.

Nuestros resultados deben de ser reproducidos por otros grupos. Nos parece atractiva la hipótesis de que , la influencia de los esteroides sexuales durante el inicio de la pubertad podría ser crucial en la adquisición de la complejidad trabecular que es finalmente medida como textura de la imagen por medio de TBS, un fenómeno que, usando otras técnicas de imagen, ha sido descrito en estudios longitudinales en niñas [72] y en ambos sexos [73] y que es incluso diferente de acuerdo a la región corporal medida.

La interpretación de la edad ósea hasta fechas relativamente recientes ha sido un proceso manual y con cierto grado de variabilidad interpersonal o, en su caso, una tarea laboriosa y

que consume tiempo. El desarrollo reciente de software capaz de automatizar dicha tarea ha permitido mejorar tanto los tiempos como la reproducibilidad de la interpretación de la edad ósea. El más destacado de estos es BoneXpert [74], desarrollado en Dinamarca y que ha sido validado en varias poblaciones y niños con patologías diversas [75]. Al tener presente la maduración esquelética reflejada como edad ósea, y que esta puede adquirirse durante el escaneo en DXA podría mejorar la interpretación y llevar a un uso más amplio de esta herramienta como parte rutinaria de la densitometría en niños.

Las limitaciones de este estudio incluyen la selección de individuos incluidos que en esta ocasión fueron a conveniencia por tratarse de un estudio exploratorio, pero en un estudio para establecer valores de normalidad necesitarían ser elegidos de forma que representen la población de forma más amplia. Esto es porque, por un lado, los extremos de edades terminaron siendo subrepresentados; además, tomando en cuenta los fenómenos de acreción ósea que se extienden más allá de la pubertad, sería necesario extender la edad hasta los 25 o 30 años para entender el comportamiento de TBS en las edades en las que se logra la masa ósea pico.

La fortaleza de este estudio, sin embargo, es aportar una posible explicación a la aparente falta de sentido de los estudios que se habían reportado hasta el momento en población pediátrica al usar la edad ósea como explicación de la variabilidad de los estudios previos.

## **Conclusión**

Estos resultados muestran la diferencia al utilizar edad cronológica contra edad ósea al graficar resultados de TBS y que, a diferencia de lo reportado previamente utilizando edad cronológica, la edad ósea parece mostrar resultados con mayor sentido biológico, lo que puede establecer el precedente de una metodología de análisis de los datos de TBS en población pediátrica.

Estos resultados necesitan ser confirmados por otros grupos, en otras poblaciones y con una cantidad mayor de individuos.

## Bibliografía

1. Cameron, N., *The Human Growth Curve, Canalization and Catch-Up Growth*, in *Human Growth and Development*, N. Cameron and B. Bogin, Editors. 2012, Academic Press: London, UK.
2. Chun, K.J., *Bone densitometry*. *Semin Nucl Med*, 2011. **41**(3): p. 220-8.
3. Boskey, A.L. and P.G. Robey, *The composition of bone*, in *Primer on the Metabolic Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, C.J. Rosen, Editor. 2013, John Wiley and Sons. p. 49-48.
4. Grabowski, P., *Physiology of Bone*, in *Calcium and Bone Disorders in Children and Adolescents*, S.N. Allgrove J, Editor. 2015, Karger: Basel. p. 33-55.
5. Shepherd, J. and N. Crabtree, *Dual-Energy X-Ray Absorptiometry Technology*, in *Bone Health Assessment in Pediatrics*, E.B. Fung, L.K. Bachrach, and A.J. Sawyer, Editors. 2016, Springer International Publisher: Basel, Switzerland.
6. Blake, G.M., J.E. Adams, and N. Bishop, *DXA in Adults and Children*, in *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, C.J. Rosen, Editor. 2013, Wiley-Blackwell: Ames, Iowa. p. 251-260.
7. *Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group*. World Health Organ Tech Rep Ser, 1994. **843**: p. 1-129.
8. *Prevention and management of osteoporosis*. World Health Organ Tech Rep Ser, 2003. **921**: p. 1-164, back cover.
9. Dent, C., *Keynote address: Problems in metabolic bone disease*, in *Clinical Aspects of Metabolic Bone Disease*, B. Frame, A.M. Parfitt, and H. Duncan, Editors. 1973, Excerpta Medica: Amsterdam, The Netherlands.
10. Weaver, C.M., et al., *The National Osteoporosis Foundation's position statement on peak bone mass development and lifestyle factors: a systematic review and implementation recommendations*. *Osteoporos Int*, 2016. **27**(4): p. 1281-386.
11. Heaney, R.P., et al., *Peak bone mass*. *Osteoporos Int*, 2000. **11**(12): p. 985-1009.
12. Hernandez, C.J., G.S. Beaupre, and D.R. Carter, *A theoretical analysis of the relative influences of peak BMD, age-related bone loss and menopause on the development of osteoporosis*. *Osteoporos Int*, 2003. **14**(10): p. 843-7.
13. Bonjour, J.P., et al., *Critical years and stages of puberty for spinal and femoral bone mass accumulation during adolescence*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1991. **73**(3): p. 555-63.
14. Bailey, D.A., et al., *A six-year longitudinal study of the relationship of physical activity to bone mineral accrual in growing children: the university of Saskatchewan bone mineral accrual study*. *J Bone Miner Res*, 1999. **14**(10): p. 1672-9.
15. Nakavachara, P., et al., *A normal reference of bone mineral density (BMD) measured by dual energy X-ray absorptiometry in healthy thai children and adolescents aged 5-18 years: a new reference for Southeast Asian Populations*. *PLoS One*, 2014. **9**(5): p. e97218.
16. Medina-Gomez, C., et al., *Pediatric differences in Bone Mineral Density according to ethnic background in children. The Generation R Study.*, in *6th International Conference on Children's Bone Health*. 2013: Rotterdam, Netherlands.
17. Khadilkar, A.V., et al., *Normative data and percentile curves for Dual Energy X-ray Absorptiometry in healthy Indian girls and boys aged 5-17 years*. *Bone*, 2011. **48**(4): p. 810-9.

18. Lee, S.H., et al., *Bone mineral density of proximal femur and spine in Korean children between 2 and 18 years of age*. J Bone Miner Metab, 2007. **25**(6): p. 423-30.
19. Xu, H., et al., *Normal reference for bone density in healthy Chinese children*. J Clin Densitom, 2007. **10**(3): p. 266-75.
20. Matsukura, T., et al., *Reference data of forearm bone mineral density in healthy Japanese male and female subjects in the second decade based on calendar age and puberty onset: Japanese Population Based Osteoporosis (JPOS) study*. Osteoporos Int, 2000. **11**(10): p. 858-65.
21. Alwis, G., et al., *Normative dual energy X-ray absorptiometry data in Swedish children and adolescents*. Acta Paediatr, 2010. **99**(7): p. 1091-9.
22. del Rio, L., et al., *Bone mineral density of the lumbar spine in white Mediterranean Spanish children and adolescents: changes related to age, sex, and puberty*. Pediatr Res, 1994. **35**(3): p. 362-6.
23. Ward, K.A., et al., *UK reference data for the Hologic QDR Discovery dual-energy x ray absorptiometry scanner in healthy children and young adults aged 6-17 years*. Arch Dis Child, 2007. **92**(1): p. 53-9.
24. Baxter-Jones, A.D., et al., *International longitudinal pediatric reference standards for bone mineral content*. Bone, 2010. **46**(1): p. 208-16.
25. International Society for Clinical Densitometry, I., *Official Positions Adult & Pediatric*. 2014.
26. Binkovitz, L.A. and M.J. Henwood, *Pediatric DXA: technique and interpretation*. Pediatr Radiol, 2007. **37**(1): p. 21-31.
27. Silva, B.C., et al., *Fracture Risk Prediction by Non-BMD DXA Measures: the 2015 ISCD Official Positions Part 2: Trabecular Bone Score*. J Clin Densitom, 2015. **18**(3): p. 309-30.
28. Armas, L.A. and R.R. Recker, *Pathophysiology of osteoporosis: new mechanistic insights*. Endocrinol Metab Clin North Am, 2012. **41**(3): p. 475-86.
29. Ward, K., Z. Mughal, and J.E. Adams, *Tools for measuring Bone in Children and Adolescents*, in *Bone Densitometry in Growing Patients. Guidelines for Clinical Practice*, A.J. Sawyer, L.K. Bachrach, and E.B. Fung, Editors. 2007, Humana Press: New Jersey. p. 15-40.
30. Punyanitya, M. and P.R. Clark, *Assessment of Body Composition*, in *Translational Research Methods for Diabetes, Obesity and Cardiometabolic Drug Development*, A.J. Krentz, L. Heinemann, and M. Hompesch, Editors. 2015, Springer-Verlag: London. p. 139-167.
31. Pothuau, L., P. Carceller, and D. Hans, *Correlations between grey-level variations in 2D projection images (TBS) and 3D microarchitecture: applications in the study of human trabecular bone microarchitecture*. Bone, 2008. **42**(4): p. 775-87.
32. Hans, D., et al., *Correlations between trabecular bone score, measured using anteroposterior dual-energy X-ray absorptiometry acquisition, and 3-dimensional parameters of bone microarchitecture: an experimental study on human cadaver vertebrae*. J Clin Densitom, 2011. **14**(3): p. 302-12.
33. Pothuau, L., et al., *Evaluation of the potential use of trabecular bone score to complement bone mineral density in the diagnosis of osteoporosis: a preliminary spine BMD-matched, case-control study*. J Clin Densitom, 2009. **12**(2): p. 170-6.
34. Harvey, N.C., et al., *Trabecular bone score (TBS) as a new complementary approach for osteoporosis evaluation in clinical practice*. Bone, 2015. **78**: p. 216-24.
35. Silva, B.C., et al., *Trabecular bone score: a noninvasive analytical method based upon the DXA image*. J Bone Miner Res, 2014. **29**(3): p. 518-30.
36. Bousson, V., et al., *Trabecular bone score (TBS): available knowledge, clinical relevance, and future prospects*. Osteoporos Int, 2012. **23**(5): p. 1489-501.

37. Silva, B.C. and J.P. Bilezikian, *Trabecular bone score: perspectives of an imaging technology coming of age*. Arq Bras Endocrinol Metabol, 2014. **58**(5): p. 493-503.
38. Clark, P., et al., *Epidemiology of osteoporosis in Mexico. Present and future directions*. Rev Invest Clin, 2013. **65**(2): p. 183-91.
39. Bachrach, L.K., *Acquisition of optimal bone mass in childhood and adolescence*. Trends Endocrinol Metab, 2001. **12**(1): p. 22-8.
40. Hans, D., et al., *Bone microarchitecture assessed by TBS predicts osteoporotic fractures independent of bone density: the Manitoba study*. J Bone Miner Res, 2011. **26**(11): p. 2762-9.
41. Briot, K., et al., *Added value of trabecular bone score to bone mineral density for prediction of osteoporotic fractures in postmenopausal women: the OPUS study*. Bone, 2013. **57**(1): p. 232-6.
42. Roux, J.P., et al., *The predictive value of trabecular bone score (TBS) on whole lumbar vertebrae mechanics: an ex vivo study*. Osteoporos Int, 2013. **24**(9): p. 2455-60.
43. Del Rio, L., et al., *Bone mass, Bone microarchitecture (TBS) and anthropometric measurements during childhood growth in Spanish girls.*, in *6th International Conference on Children's Bone Health*. 2013: Rotterdam, Netherlands.
44. Winzenrieth, R., et al., *Influence of age and gender on spine bone density and TBS microarchitectural texture parameters in infants*, in *ICCBH*. 2013: Rotterdam, The Netherlands.
45. Del Rio, L.M., S. Di Gregorio, and R. Winzenrieth, *Bone microarchitecture (TBS) and bone mass development during childhood and adolescence in a Spanish population group*, in *WCO-ESCEO-IOF*. 2014: Seville, Spain.
46. Libber, J., et al., *TBS Increases Over Time in Pre-Teen Girls*, in *ICCBH*. 2015: Salzburg, Austria.
47. Shawwa, K., et al., *Predictors of trabecular bone score in school children*. Osteoporos Int, 2016. **27**(2): p. 703-10.
48. Carrascosa Lezcano, A., et al., *Estudios Españoles de Crecimiento*. 2010, Barcelona.
49. Tanner, J.M., et al., *The adolescent growth spurt of boys and girls of the Harpenden growth study*. Ann Hum Biol, 1976. **3**(2): p. 109-26.
50. Carrascosa, A., et al., *Spanish growth studies 2008. New anthropometric standards*. Endocrinol Nutr, 2008. **55**(10): p. 484-506.
51. Houston, W.J., J.C. Miller, and J.M. Tanner, *Prediction of the timing of the adolescent growth spurt from ossification events in hand-wrist films*. Br J Orthod, 1979. **6**(3): p. 145-52.
52. Poland, J., *Skiagraphic Atlas Showing the Development of the Bones of the Wrist and Hand*. 1898.
53. Greulich, W.W. and S.I. Pyle, *Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist*. Second edition ed. 1959, Stanford, California: Stanford University Press.
54. Tanner, J.M., et al., *Prediction of adult height from height, bone age, and occurrence of menarche, at ages 4 to 16 with allowance for midparent height*. Arch Dis Child, 1975. **50**(1): p. 14-26.
55. Tanner, J.M. and R.H. Whitehouse, *Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty*. Arch Dis Child, 1976. **51**(3): p. 170-9.
56. Hoyer-Kuhn, H., et al., *Comparison of DXA Scans and Conventional X-rays for Spine Morphometry and Bone Age Determination in Children*. J Clin Densitom, 2016. **19**(2): p. 208-15.
57. Rizzoli, R., et al., *Maximizing bone mineral mass gain during growth for the prevention of fractures in the adolescents and the elderly*. Bone, 2010. **46**(2): p. 294-305.

58. Golden, N.H., S.A. Abrams, and N. Committee on, *Optimizing bone health in children and adolescents*. Pediatrics, 2014. **134**(4): p. e1229-43.
59. Cole, T.J. and P.J. Green, *Smoothing reference centile curves: the LMS method and penalized likelihood*. Stat Med, 1992. **11**(10): p. 1305-19.
60. Manolagas, S., M. Almeida, and R.L. Jilka, *Gonadal Steroids*, in *Primer on the Metabolic Diseases of the Bone*, C.J. Rosen, Editor. 2013, John Wiley and Sons. p. 195-207.
61. Looker, A.C., et al., *Trabecular bone scores and lumbar spine bone mineral density of US adults: comparison of relationships with demographic and body size variables*. Osteoporos Int, 2016.
62. Simonelli, C., et al., *Creation of an age-adjusted, dual-energy x-ray absorptiometry-derived trabecular bone score curve for the lumbar spine in non-Hispanic US White women*. J Clin Densitom, 2014. **17**(2): p. 314-9.
63. Cheng, P., et al., *Establishment of TBS reference plots and correlation between TBS and BMD in healthy mainland Chinese women*. Arch Osteoporos, 2016. **11**: p. 5.
64. Iki, M., et al., *Age-related normative values of trabecular bone score (TBS) for Japanese women: the Japanese Population-based Osteoporosis (JPOS) study*. Osteoporos Int, 2015. **26**(1): p. 245-52.
65. Dufour, R., et al., *Generation and validation of a normative, age-specific reference curve for lumbar spine trabecular bone score (TBS) in French women*. Osteoporos Int, 2013. **24**(11): p. 2837-46.
66. Jain, R.K., et al., *Ethnic Differences in Trabecular Bone Score*. J Clin Densitom, 2017. **20**(2): p. 172-179.
67. Bazzocchi, A., et al., *Trabecular bone score in healthy ageing*. Br J Radiol, 2015. **88**(1052): p. 20140865.
68. Makitie, O., *Causes, mechanisms and management of paediatric osteoporosis*. Nat Rev Rheumatol, 2013. **9**(8): p. 465-75.
69. Alos, N., et al., *High incidence of vertebral fractures in children with acute lymphoblastic leukemia 12 months after the initiation of therapy*. J Clin Oncol, 2012. **30**(22): p. 2760-7.
70. Huber, A.M., et al., *Prevalent vertebral fractures among children initiating glucocorticoid therapy for the treatment of rheumatic disorders*. Arthritis Care Res (Hoboken), 2010. **62**(4): p. 516-26.
71. Di Gregorio, S., et al., *Comparison between different bone treatments on areal bone mineral density (aBMD) and bone microarchitectural texture as assessed by the trabecular bone score (TBS)*. Bone, 2015. **75**: p. 138-43.
72. Bass, S., et al., *The differing tempo of growth in bone size, mass, and density in girls is region-specific*. J Clin Invest, 1999. **104**(6): p. 795-804.
73. Bailey, D.A., et al., *Calcium accretion in girls and boys during puberty: a longitudinal analysis*. J Bone Miner Res, 2000. **15**(11): p. 2245-50.
74. Thodberg, H.H., et al., *The BoneXpert method for automated determination of skeletal maturity*. IEEE Trans Med Imaging, 2009. **28**(1): p. 52-66.
75. Thodberg, H.H., *Clinical review: An automated method for determination of bone age*. J Clin Endocrinol Metab, 2009. **94**(7): p. 2239-44.