

Nowe techniki oceny jakości tkanki kostnej i możliwość ich zastosowania w medycynie weterynaryjnej

MAŁGORZATA DZIERŻĘCKA, ANNA CHARUTA*

Katedra Nauk Morfologicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

*Zakład Morfologii Kręgowców Akademii Podlaskiej, ul. Bolesława Prusa 14, 08-110 Siedlce

Dzierżęcka M., Charuta A.

Modern methods in the evaluation of bone tissue quality and the possibility of their application in veterinary medicine

Summary

Methods for the evaluation of the parameters of bone tissue and their characteristics are presented. The development of modern methods and their possible application in veterinary orthopedic diagnosis is discussed. Primarily computerized assisted analysis of bone structure images on the radiograph are described.

Keywords: veterinary medicine, bone

Z doświadczeń klinicznych jednoznacznie wynika, że złamania kości u zwierząt, szczególnie u koni wyszczególnionych i sportowych, stanowią istotny problem (11, 23, 26, 28). Przyżyciowa ocena wytrzymałości mechanicznej tkanki kostnej, poprzez oznaczanie takich parametrów, jak: gęstość, struktura czy skład mineralny, mogłaby pośrednio służyć jako kryterium przy ocenie ryzyka wystąpienia złamania. To z kolei może być podstawą do zapobiegania uszkodzeniom kości, odpowiedniego postępowania terapeutycznego po złamaniach oraz monitorowania procesów naprawczych.

O wytrzymałości mechanicznej tkanki kostnej decyduje budowa przestrzenna oraz skład mineralny. Najistotniejszym parametrem fizycznym tej tkanki jest maksymalna wytrzymałość mechaniczna, określająca moment złamania kości pod wpływem działających sił (1, 19). Zmniejszenie jej wytrzymałości zwiększa oczywiście podatność na złamanie. Stąd możliwości oceny wytrzymałości tkanki kostnej mają istotne znaczenie. Znając wytrzymałość, możemy przewidywać prawdopodobieństwo złamania i odpowiednio wcześniej podjąć właściwe działania profilaktyczne.

Rodzaje uszkodzeń, jakim ulega określona kość, zależą od jej wytrzymałości oraz od sił, które najczęściej na nią działają. Zarówno kości, jak i stawy zwierząt narażone są na działanie sił rozciągających, ściskających, zginających i skręcających. Spośród wymienionych sił dominującym rodzajem obciążeń jest ściskanie. Odnosi się to w szczególności do kości kończyn, których złamania np. u koni niejednokrotnie stanowią bezpośrednią przyczynę eutanazji. Najprostszym i zarazem najbardziej obiektywnym sposobem oceny wytrzymałości wyizolowanej kości jest poddanie jej działaniu sił ściskających. W tym celu wykonuje się tzw. testy zgnieciowe. Poprzez analizę uzyskiwanych wyników można określać parametry badanej kości, takie jak np.: wytrzymałość, siła łamiąca lub sprężystość. Ustalenie zależności pomiędzy wytrzymałością kości na działanie siły a oznaczoną wcześniej jej gęstością, morfometrią, strukturą architektoniczną, może stanowić obiektywny sposób oceny zależności wybranych parametrów na wytrzymałość kości. Badanie wytrzymałościowe jest jednak badaniem inwazyjnym, może zatem stanowić jedynie weryfikację metod możliwych do zastosowania przyżyciowego.

Do nieinwazyjnych metod oceny jakości tkanki kostnej należą metody pośrednie, takie jak: badania densytometryczne, radiologiczne, ultrasonografia, tomografia komputerowa czy magnetyczny rezonans jądrowy. W medycynie ludzkiej przy ocenie jakości tkanki kostnej najczęściej stosuje się metody densytometryczne. Polegają one na pomiarze zawartości minerałów w określonym odcinku szkieletu. Przy ich pomocy dokonuje się pośredniej oceny masy na podstawie pomiaru zaabsorbowanej przez tkankę kostną części wiązki promieniowania radiologicznego. Metody te nie są jednak pozbawione wad. Zgodnie bowiem z zasadami fizyki, zawartość minerałów w kości powinna być określona w stosunku do objętości i wyrażona w jednostkach masy na objętość. Wymaga to pomiaru nie tylko łatwo dostępnego we wszystkich metodach pola, ale i grubości kości w miejscu pomiaru. Powodem niedoskonałości metod densytometrycznych jest dodatkowo niemożność oceny układu przestrzennego beleczek kostnych. Tymczasem to właśnie układ architektoniczny beleczek, a nie tylko stopień minerali-

zacji, ma istotną rolę w kształtowaniu wytrzymałości tkanki kostnej. Wiadomo, że o wytrzymałości każdej konstrukcji przestrzennej, decyduje nie tylko jakość użytego budulca, lecz także struktura architektoniczna, umożliwiająca przenoszenie obciążeń (3, 7, 19, 21).

Strukturę architektoniczną beleczek kostnych można określić poprzez badanie histomorfometryczne. Jest to badanie bezpośrednie, wymagające sporządzenia preparatów histologicznych. Polega ono na pobieraniu wycinków tkanki kostnej i określaniu jej ilościowego oraz jakościowego układu beleczkowego. Podstawowymi parametrami ocenianymi w histomorfometrii są: całkowita objętość beleczki kostnej, powierzchnia istoty gąbczastej, powierzchnia resorpcji, powierzchnia osteoidu, średnia grubość beleczek czy średnia grubość osteoidu. Dzięki różnym metodom barwienia preparatów możemy dodatkowo uzyskać informację nie tylko o budowie kości, lecz także o jej procesach metabolicznych (2, 18, 22). Istotną wadą tej metody jest jej inwazyjność.

Metodą wyznaczającą nie tylko gęstość tkanki kostnej, lecz dostarczającą pełnej informacji o geometrii badanego fragmentu szkieletu jest ilościowa tomografia komputerowa. Pomiaru uzyskiwane w tej metodzie są najbardziej zbliżone do rzeczywistych. Gęstość mineralna kości jest tu podawana w jednostkach g/cm^2 . Stosowane obecnie densytometry obwodowe oparte na tomografii komputerowej umożliwiają ocenę kości w dowolnym miejscu na przekroju poprzecznym, oddzielnie dla istoty zbitej i gąbczastej kości. Inną metodą stosowaną w diagnostyce ortopedycznej u ludzi jest badanie ultrasonograficzne. Metoda ta nie oznacza gęstości kości, lecz dostarcza informacji o strukturze, podobnie jak obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego, umożliwiającego ocenę mikroarchitektury istoty gąbczastej (17).

U zwierząt z powodu niezwykle wysokich kosztów takich badań, zaś u dużych gatunków dodatkowo ze względu na techniczną niemożność ich wykonania, powyższe metody nie znajdują zastosowania.

Przez wiele lat podstawową przyżyciową metodą oceny struktury tkanki kostnej pozostawało badanie radiologiczne. Na radiogramach oceniany był obraz istoty gąbczastej, w której ze względu na około ośmiokrotnie szybszy metabolizm niż w istocie zbitej, wszelkie zmiany i zaburzenia chorobowe uwidaczniają się najwcześniej (8, 24). Niestety, nawet obecnie przy coraz doskonalszej aparaturze radiologicznej ocena struktury istoty gąbczastej na radiogramach okiem nieuzbrojonym obarczona jest wciąż dużym błędem. Interpretacja obrazu wdzianego na nawet dobrej jakości zdjęciu radiologicznym nie daje nam wystarczających i obiektywnych informacji dotyczących struktury kości. Jest to ocena subiektywna i pozbawiona możliwości określenia ilościowego. Opis struktur patologicznych odbywać się może jedynie na zasadzie porównywania obserwowanych zmian z obrazami uznanymi za prawidłowe.

Badania zmierzające do poznania metod analizujących strukturę kości na radiogramach prowadzone są od ponad 30 lat. W efekcie tych badań wprowadzono coraz doskonalsze metody oceny jakości tej struktury. Początkowo polegały one na pomiarze gęstości optycznej kolejnych punktów na radiogramie, wzdłuż wyznaczonej linii. Uzyskiwana w ten sposób krzywa mikrodensytometryczna odpowiadała obrazowi struktury kostnej. Metoda ta nie spełniała jednak wszystkich oczekiwań, gdyż były to pomiary jednowymiarowe (liniowe) obrazu, który był dwuwymiarowy (25). Stałe udoskonalanie dwu-, a nawet trójwymiarowych metod analizy obrazu, wraz z coraz większą szybkością obliczeniową komputerów oraz poszerzeniem ich pamięci operacyjnej, przyczyniło się do znacznego postępu w tej dziedzinie diagnostyki.

Na podstawie wieloletnich badań klinicznych, doświadczalnych, morfometrycznych oraz komputerowej analizy obrazu opracowano programy, które umożliwiają ilościową ocenę struktury kości na radiogramie. Metody takie znacznie przyspieszają pomiary, umożliwiają poprawę powtarzalności wyników analiz, obiektywizują uzyskane wyniki, pozwalają na wyznaczenie złożonych parametrów, niemożliwych niejednokrotnie do oceny innymi metodami, np. określenie długości beleczki kostnej. Te zalety powodują, że nawet pomimo wysokich kosztów oprogramowania czy konieczności przeszkolenia personelu, są z coraz większym powodzeniem wykorzystywane w pracach badawczych z dziedziny histologii, radiologii oraz ortopedii. Znalazły również zastosowanie w diagnostyce chorób kości u ludzi, takich jak: fluoroza, osteoporoza, choroba Sudecka czy martwice kostne. Są wykorzystywane w standaryzowanej ocenie radiogramów endoprotez stawu biodrowego, planowaniu osteotomii czy chirurgii szczękowej (9, 10, 12-15).

W Polsce, w dziedzinie analiz ilościowych radiogramów, największymi osiągnięciami cieszą się krakowskie ośrodki naukowe, prowadzące badania u ludzi (6, 16, 18, 20, 27). Od początku 2005 r. autorzy niniejszej publikacji rozpoczęli analizy tego typu u koni, lecz wstępne wyniki badań są jeszcze w opracowaniu.

Ogromnym osiągnięciem w tej dziedzinie było opracowanie programów umożliwiających komputerową analizę obrazów radiologicznych kości i stawów. Do oceny struktury istoty gąbczastej kości został opracowany program Trabecula. Pozwala on na dwuwymiarową analizę struktury kości. Analizuje pole o powierzchni 128×128 pikseli (rozdzielczość 0,096 mm) i odnajduje na nim beleczki według przyjętej definicji. Podstawą działania programu jest zatem algorytm rozpoznawania beleczki radiologicznej. Algorytm dobrany w postaci parametrów, takich jak kąt i poziom, naśladuje spostrzeganie przez badającego „okiem nieuzbrojonym” struktury kostnej na radiogramie. Jako beleczkę odczytuje odcinek krzywej densytometrycznej o kształcie czworoboku, z ramieniem wstępują-

Department of Orthopaedics CMUJ, ul. Kopernika 19a, 31-501 Krakow, Poland
tel. (4812)188821. fax: (+)188-827

BONE STRUCTURE ANALYSIS

TRABECULA for Windows v. 2.0

Copyright © 1996-1997 A. Bak, R. Wrona, E. Czerwiński, M. Bajer

Date: 10.02.2005 Time: 12:15

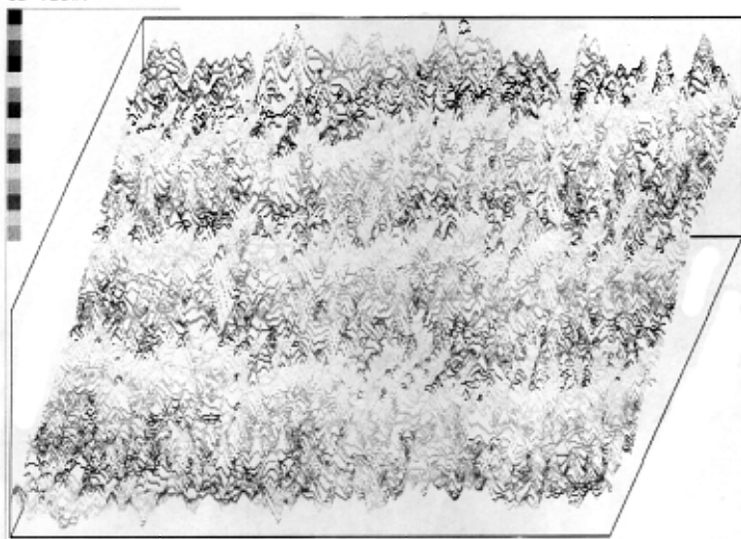
Source image:



Trabeculae map:



3D view:



File name: D:\1-WORK\01_A\01_NAU-2\05_2005\20_KON-1\SKANY_-1.05\8_KADR-1.BMP

Ryc. 1. Komputerowa analiza obrazu radiologicznego istoty gąbczastej kości pięcinowej konia. Na obrazie u góry od lewej: fragment oryginalnego radiogramu generowanego przez komputer, po prawej – mapa wykrytych beleczek radiologicznych na zaznaczonym fragmencie, poniżej trójwymiarowy obraz struktury kostnej w postaci wykresów krzywych mikrodensytometrycznych (Trabecula dla v. Windows 2,0, copyright © 1996-1997 A. Bak, R. Wrona, E. Czerwiński, M. Bajer)

cym, plateau oraz ramieniem zstępującym. Następnie program generuje mapę beleczek i oblicza ich charakterystykę w postaci parametrów, takich jak: liczba, szerokość, przebieg wzdłuż osi długiej kości, wysokość, pole, objętość i gęstość. Metoda ta znalazła dotychczas zastosowanie m.in. w diagnostyce zmian fluorowych u ludzi, w określaniu zależności pomiędzy parametrami struktury kostnej na radiogramie a budową mikroskopową oraz w osteoporozie eksperymentalnej (4-7).

Wprowadzenie powyższej metody do analizy struktury kości u koni musiało być poprzedzone jej adaptacją. Obejmowała ona: określenie optymalnych warunków wykonania zdjęć, ich cyfrowego zapisu, przetwarzania oraz doboru właściwego algorytmu w postaci odpowiednich parametrów. Do analizy struktury istoty gąbczastej kości wykorzystano radiogramy kości pięcinowych koni wykonane w odpowiedniej projekcji. Podstawą metody był cyfrowy zapis obrazu ra-

diologicznego i wprowadzenie go do pamięci komputera. Do określania struktury istoty gąbczastej wybierano jej fragment w okolicy przynasady bliższej kości. Obrazy zapisywano w pamięci komputera IBM PC, a działający w tym komputerze program Trabecula odczytywał zapisane dane i wykonywał analizę obrazu w zależności od przyjętego algorytmu. Ze względu na to, że podstawą działania programu jest algorytm rozpoznawania beleczki radiologicznej według opracowanej definicji ustalano, jakie parametry będą optymalne do analizy struktury kości pięcinowych. Kąty krytyczne ramienia wstępującego i zstępującego są bowiem określone jedynie do badania kości u ludzi (4-6). Początkowo „okiem nieuzbrojonym” obliczano liczbę beleczek kostnych w dwóch określonych, poziomych liniach na obszarze zaznaczonego pola na radiogramie. Następnie porównywano uzyskaną liczbę beleczek kostnych na oryginalnych radiogramach z liczbą beleczek kostnych uzyskaną przy zastosowaniu programu Trabecula, która była zależna od doboru parametrów analizy. Porównując uzyskaną mapę beleczek kostnych w programie Trabecula z oryginalnym radiogramem, stwierdzano, przy jakich parametrach analizy obraz map beleczkowych w stosunku do oryginalnego radiogramu będzie

najbardziej wiarygodny. Okazało się, że adaptacja gatunkowa jest możliwa, a program przy wprowadzeniu innych parametrów analizy w stosunku do ludzi stanie się możliwy do zastosowania w medycynie weterynaryjnej (badania własne). Przykład struktury beleczkowej istoty gąbczastej kości pięcinowej konia ilustruje ryc. 1.

Kolejnym opracowanym programem jest program Densyt, umożliwiający ocenę zawartości minerałów w cm^3 . Do pomiaru densytometrycznego należy wykonać zdjęcia kości w dwóch projekcjach: AP i bocznej. Oba pomiary muszą dotyczyć tego samego fragmentu kości, to znaczy pomiar na projekcji AP musi być wykonany dokładnie w tym samym miejscu, co pomiar grubości na projekcji bocznej. W ocenie gęstości wykorzystuje się odnośnik w postaci specjalnie skonstruowanego klina aluminiowego o odpowiedniej grubości, umieszczanego na zdjęciu radiologicznym obok badanej kości (4-7).

W medycynie ludzkiej ilościowa i jakościowa ocena struktury tkanki kostnej na radiogramach, oparta na komputerowej analizie obrazu, jest stosowana zaledwie od kilku lat. Jej ogromną zaletą jest nieinwazyjność, przy bardzo dokładnych pomiarach, uzyskiwanych dawniej jedynie poprzez badania bezpośrednie. Wprowadzenie takiej metody u zwierząt, a w szczególności u koni, u których złamania kości często związane są z zakończeniem kariery sportowej, wyścigowej lub eutanazją, byłoby szczególnie istotne i stanowiłoby z pewnością przełom w weterynaryjnej diagnostyce ortopedycznej.

Piśmiennictwo

1. *Alho A.*: Mineral and mechanics of bone fragility fractures. *Acta Orthop. Scand.* 1993, 64, 227-232.
2. *Chappard D., Legrand E., Basle M. F., Audran M.*: Measuring trabecular bone architecture by image analysis of histological sections. *Europ. Microscopy Anal.* 1997, 11, 13-15.
3. *Claes L. E., Wilke H. J., Kiefer H.*: Osteonal structure better predicts tensile strength of healing bone than volume fraction. *J. Biomech.* 1995, 28, 1377-1390.
4. *Czerwiński E.*: Zastosowanie komputerowych metod analizy obrazu w ocenie struktury kostnej na radiogramach przedramion. *Pam. 54 Jub. Zjazd Tow. Chir. Pol.,* Kraków 1989, s. 324-332.
5. *Czerwiński E.*: Zależność obrazu radiologicznego struktury kostnej od zawartości minerałów i cech morfometrycznych kości gąbczastej. *Chir. Narządu Ruchu Ort. Pol.* 1991, 55, 4-6, 42-46.
6. *Czerwiński E.*: Ilościowa ocena zmian występujących pod wpływem fluoru w kości korowej gąbczastej oraz ich znaczenie diagnostyczne. *Praca hab., Collegium Medicum UJ, Kraków* 1994.
7. *Czerwiński E.*: Diagnostyka obrazowa osteoporozy. *Przegląd Lek.* 1994a, 51, 391-397.
8. *Czerwiński E.*: Diagnostyka radiologiczna i densytometryczna osteoporozy. *Przegląd Lek.* 1997, 4, 220-225.
9. *Deas D. E., Pasquali L. A., Yuan C. H., Korman K. S.*: The relationship between probing attachment loss and computerized radiographic analysis in monitoring progression of periodontitis. *J. Periodontol.* 1991, 62, 135-141.
10. *Dooley R. L., Engel C., Muller M. E.*: Automated scanning and digitizing of roentgenographs for documentation and research. *Clin. Orthopaedics Rel. Res.* 1992, 274, 113-119.
11. *Ellis D. R., Simpson D. J., Greenwood R. E., Crowhurst J. S.*: Observations and management of fractures of the proximal phalanx in young Thoroughbreds. *Equine Vet. J.* 1987, 19, 43-49.
12. *Engelke K., Song S. M., Gluer C. C., Genant H. K.*: A digital model of trabecule bone. *J. Bone Miner. Res.* 1996, 11, 480-489.
13. *Faulkner K. G., Gluer C. C., Majumdar S., Land P., Engelke K., Genant H. K.*: Noninvasive measurements of bone mass, structure and strength: current methods and experimental techniques. *Am. J. Radiol.* 1991, 157, 1229-1237.
14. *Hayashi Y., Yamamoto K.*: Assessment of bone mass by image analysis of metacarpal bone roentgenograms: a quantitative digital image processing (DIP) method. *Radiat. Med.* 1990, 8, 173-178.
15. *Kobayashi M., Akiyama Y., Tomioka T., Hara K., Nakamura T.*: Automatic determination for bone morphometry using a computer analyzer. *Nippon Seikeiheka Zasshi.* 1995, 69, 1170-1181.
16. *Kolodziej I., Majchrzak T., Czerwiński E., Panuszka R.*: Analiza obrazu uzyskanego w systemie radiografii cyfrowej Sens - A - Ray 2000 przy wykorzystaniu programu Trabecula. *Mat. Zjazdu Acoustical and Mechanical Methods in Biomedical Engineering, Zakopane* 1998, s. 185-188.
17. *Majchrzak T., Panuszka R., Czerwiński E.*: Aparatura diagnostyczna w osteoporozie. *Mat. Zjazdu Waves Methods and Mechanics in Biomedical Engineering, Kraków* 1999, s. 211-214.
18. *Meunier P. J., Chavassieux P.*: Histomorfometry. Method for evaluating the bone mass. *Rev. Rhum. Mal. Osteoartic.* 1985, 52, 669-673.
19. *Mow V. C., Hades W. C.*: Basic Orthopedics Biomechanics. Raven Press, New York 1991.
20. *Ogiela M.*: Wykorzystanie metod rozpoznawania obrazów w diagnostyce radiologicznej wybranych chorób trzustki. *Praca dokt., AGH, Kraków* 1996.
21. *Ott S. M.*: When bone mass fails to predict bone failure. *Calcif. Tissue Int.* 1993, 53, Suppl. 1, 7-13.
22. *Parfitt A. M.*: Bone histomorfometry: standardization of nomenclature, symbols and units. *J. Bone Mineral Res.* 1987, 2, 595-610.
23. *Parkin T. D., Clegg P. D., French N. P., Proudman C. J., Riggs C. M., Singer E. R., Webbon P. M., Morgan K. L.*: Risk of fatal distal limb fractures among Thoroughbreds involved in the five types of racing in the United Kingdom. *Vet. Rec.* 2004, 154, 493-497.
24. *Pawlicki R.*: Podstawy histologii. *Collegium Medicum UJ, Kraków* 1996.
25. *Svanaes M. A., Larheim T. A.*: Personal computer equipment for dental digital subtraction radiography vs. Industrial computer equipment and conventional radiography. *Scand. J. Dent. Res.* 1992, 100, 117-122.
26. *Wąsowski A.*: Wpływ wybranych czynników ze szczególnym uwzględnieniem dojrzałości kośćca na występowanie chorób kończyn u dwuletnich koni pełnej krwi angielskiej w treningu wyścigowym. *Maszynopis pracy dokt., Szpital Koni Służewiec, Warszawa* 1997.
27. *Wojnar L., Czerwiński E., Walczak J.*: Pomiar szpary stawowej na radiogramie z zastosowaniem komputerowej analizy obrazu. *Mat. XXXIII Zjazdu Pol. Tow. Ortoped. i Traumatolog., Kraków* 2000, s. 197.
28. *Yovich J. V., McIlwraith C. W.*: Arthroscopic surgery for osteochondral fractures of the proximal phalanx of the metacarpophalangeal and metatarsophalangeal (fetlock) joints in horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1986, 188, 273-279.

Adres autora: dr n. wet. Małgorzata Dzierżęcka, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa; e-mail: malgorzadzierzecka@wp.pl