

UNIwersytet Jagielloński
Collegium Medicum

Wydział Lekarski

Klinika Ortopedii

lek. med. Artur Gądek

**WYTRZYMAŁOŚĆ MECHANICZNA TRZONÓW
KRĘGOWYCH A ICH MIKROSTRUKTURA
I GĘSTOŚĆ MINERALNA**

Rozprawa Doktorska

Bibl. Medyczna CM UJ



1816019197

Promotor : dr hab. med. Edward Czerwiński

Kraków, maj 2001

Spis treści

1. Wstęp 1

 1.1. Problem złamań osteoporotycznych i jego znaczenie 1

 1.2. Metody diagnostyki nieinwazyjnej tkanki kostnej 3

 1.3. Badania histomorfometryczne tkanki kostnej 11

 1.3.1. Podstawy komputerowej analizy obrazu 17

 1.4. Wytrzymałość trzonów kręgowych 26

2. Założenia i cel pracy 32

3. Materiał 33

4. Metody 34

 4.1. Badania densytometryczne 34

 4.2. Badania histomorfometryczne 35

 4.2.1. Komputerowa analiza obrazów histomorfometrycznych 37

 4.3. Badania wytrzymałościowe 59

 4.4. Analiza statystyczna 61

5. Wyniki 63

6. Dyskusja 77

7. Wnioski 82

8. Piśmiennictwo 83

9. Spis rycin i tabel 95

1. WSTĘP

1.1 Problem złamań osteoporotycznych i jego znaczenie

Dane statystyczne z wielu krajach świata wykazują, że złamania kości z powodu osteoporozy stanowią już bardzo poważny problem leczniczy i społeczny (48,60,65,67,86). Osteoporoza jest bowiem definiowana jako choroba układowa szkieletu charakteryzująca się niską masą kostną, upośledzoną mikroarchitekturą tkanki kostnej a w efekcie jej zwiększoną łamliwością i podatnością na złamania (111). Wzrost liczby złamań osteoporotycznych dotyczy zwłaszcza bogatych i silnie uprzemysłowionych państw zachodnich, w których wysoka stopa życiowa oraz dobrze zorganizowana opieka medyczna powodują wydłużanie się średniej długości życia i wynikający stąd wzrost populacji ludzi starych, u których powstająca osteoporoza zwiększa znacznie ryzyko złamań kości. W Wielkiej Brytanii 33% kobiet po 65 roku życia doznaje złamania kompresyjnego trzonów kręgowych. We Francji stwierdza się corocznie 55 tys. złamań szyjki kości udowej oraz 35 tys. złamań Collesa i 40-60 tys. złamań kompresyjnych trzonów kręgowych związanych z osteoporozą. W Stanach Zjednoczonych, skąd pochodzą najpełniejsze dane, 30% białych kobiet w wieku postmenopauzalnym cierpi na osteoporozę. Jest ona przyczyną 1,5 mln złamań rocznie w tym 250 tys. złamań typu Collesa, 50 tys. złamań kompresyjnych kręgow i 300 tys. złamań szyjki kości udowej (23,48,67,79,108).

Złamania kręgosłupa są nieodłączną cechą osteoporozy. Powodują one powstawanie typowej deformacji sylwetki tzw. "wdowiego garbu" jak i szeregu powikłań w postaci dolegliwości bólowych, obniżenia wzrostu, zmniejszenia pojemności oddechowej (7,32,47,78). Powstawanie tych złamań wynika

z obniżenia wytrzymałości tkanki kostnej kręgów wywołanej zmianami w jej strukturze (1,16,33,90,94,97,103).

Specyficzna budowa przestrzenna i składniki mineralne tkanki kostnej decydują o jej wytrzymałości mechanicznej i umożliwiają spełnianie przez kość, tak istotnej dla organizmu, funkcji podpórczej (1,16,63,94,104,105). Zmniejszenie wytrzymałości tkanki kostnej upośledza tę funkcję i zwiększa wydatnie podatność kości na złamania. Możliwość poznania wytrzymałości tkanki kostnej ma więc niezwykle istotne znaczenie, gdyż możemy dzięki temu przewidywać prawdopodobieństwo pojawienia się złamań i odpowiednio wcześniej podjąć właściwe działania profilaktyczne (3,80,29).

Nie mogąc bezpośrednio oceniać jakości tkanki kostnej posługujemy się w tym celu metodami pośrednimi takimi jak: badanie radiologiczne, ultrasonografia, tomografia komputerowa, magnetyczny rezonans jądrowy czy powszechnie stosowana metoda densytometryczna (30,35,36,40,46,67,70,89). Badanie densytometryczne pozwala na ocenę jakości tkanki kostnej przez pomiar gęstości mineralnej (*Bone Mineral Density* - BMD) (4,37,41,112). Niejednokrotnie jednak obserwacje kliniczne złamań kości nie pokrywają się z wynikami badań densytometrycznych (80). Powód tych rozbieżności może wynikać z niemożności oceny układu przestrzennego beleczek kości gąbczastej poprzez pomiary densytometryczne. Tymczasem to właśnie układ architektoniczny beleczek kostnych, a nie tylko stopień mineralizacji, wydaje się mieć istotną rolę w kształtowaniu wytrzymałości tkanki kostnej. Wiadomo przecież, że w przypadku każdej konstrukcji przestrzennej o jej wytrzymałości decyduje nie tylko jakość budulca, ale również struktura architektoniczna umożliwiająca przenoszenie obciążeń (22,71,92,93,94,102).

Mikrostrukturę beleczek kostnych można określić poprzez badania histomorfometryczne wycinków tkanki kostnej pozwalające na ilościową oraz jakościową ocenę układu beleczkowego (20,44,58,84,85,106,116).

1.2 Metody diagnostyki nieinwazyjnej tkanki kostnej

Dysponujemy obecnie wieloma różnorodnymi technikami pozwalającymi na nieinwazyjną ocenę kośćca takimi jak: badanie radiologiczne, ultrasonografia, tomografia komputerowa, magnetyczny rezonans jądrowy czy metoda densytometryczna (24,27,43,49,50,51,53,77).

Badanie radiologiczne

Obraz radiologiczny kości powstaje dzięki absorpcji wiązki promieniowania rentgenowskiego przez minerały tkanki kostnej. Jest ona tym większa, im wyższa jest zawartość minerałów. Budowa wewnętrzna powoduje, że obraz radiologiczny kości gąbczastej i korowej jest całkowicie odmienny. Prawidłowa kość korowa daje obraz gęstego cienia, bez struktury wewnętrznej. Powoduje to zarówno wysoka zawartość minerałów - $0,76 \text{ g/cm}^3$, jak i jednolita struktura wewnętrzna (27). Z kości korowej zbudowane są trzony kości długich kończyn, oraz zewnętrzna warstwa nasad kości długich i wszystkich kości płaskich.

Kość gąbczasta ma skomplikowaną strukturę opartą na zmineralizowanych beleczkach kostnych, pomiędzy którymi znajduje się szpik kostny. Zawiera ona $0,25 \text{ g/cm}^3$ minerałów, czyli trzykrotnie mniej niż kość korowa. Choć kość gąbczasta stanowi tylko ok. 20% masy kości, to jej specyficzna budowa powoduje, że ma trzykrotnie większą od kości korowej powierzchnię. Metabolizm jej jest 8 razy szybszy niż w kości korowej (27,95,107). Zatem obraz radiologiczny tej kości najwcześniej uzewnętrznia zaburzenia metaboliczne. Zmiany mineralizacji kości beleczkowej powodują zaburzenie obrazu całej struktury. Pierwszym objawem jest zanik tzw. beleczkowania pierwotnego z ewentualnym uwydatnieniem beleczkowania

wtórnego. Obraz radiologiczny kości w osteoporozie w dużej mierze zależy od aktywności procesu chorobowego. Zmiany obejmują całą tkankę kostną, ale w kości gąbczastej mają przebieg agresywny ze względu na szybszy metabolizm i wyprzedzają zmiany w kości korowej. Stąd szybszy ubytek kości w osteoporozie pomenopauzalnej oraz zespołach endokrynologicznych demonstruje zmiany zaawansowane przede wszystkim w kości beleczkowej, a w okresie późniejszym dołączają zmiany w kości korowej. Natomiast w przebiegającej wolniej osteoporozie starczej zmiany w obu rodzajach kości pojawiają się równolegle. Rutynowo w diagnostyce osteoporozy wykonujemy radiogramy kręgosłupa piersiowego i lędźwiowego, ponieważ tutaj najczęściej występują złamania osteoporotyczne. W następnej kolejności zależnie od wskazań wykonuje się radiogramy: miednicy, rąk, dalszych nasad kości promieniowych i inne (12,27,111).

Początkowym objawem osteoporozy kręgosłupa jest zanik beleczkowania poziomego z zaakcentowaniem beleczkowania pionowego. Struktura kręgów staje się coraz bardziej przejrzysta, a warstwa korowa blaszek granicznych ulega ścieńczeniu. Osłabienie wytrzymałości mechanicznej prowadzi do następnych złamań trzonów kręgowych, które występują przede wszystkim w odcinku Th5-L4, najczęściej Th11-L1. Stwierdzenie złamania kręgosłupa zwykle zaskakuje pacjenta, bowiem aż 60% występuje bezobjawowo. Obecność złamania stwierdzamy na projekcji bocznej kręgosłupa. Oceniana jest wysokość trzonów w przednim, środkowym i tylnym odcinku. Obniżenie przedniego brzegu jest cechą złamania klinowego. Wpuklanie się dysków w odcinku środkowym daje obraz złamania centralnego – kręgi dwuwklęsłe. Obniżenie wysokości na wszystkich odcinkach jest złamaniem zmiażdżeniowym. Przyjęta powszechnie definicja złamania uznaje jego obecność, kiedy występuje obniżenie którejkolwiek wysokości trzonu o 20%. Pomiaru wysokości kręgu można wykonać zwykłą linijką lub też metodami komputerowymi przy użyciu digitizerów (27).

Na radiogramach miednicy można ocenić niezwykle istotną w diagnostyce osteoporozy strukturę kości beleczkowej szyjki kości udowej. Niestety radiogramy wykonane w tej okolicy wykonywane są najczęściej u chorych z dokonaniem złamaniem w zakresie bliższego odcinka kości udowej. Oceniając natomiast radiogram bez złamania zwraca się uwagę na układ beleczkowania odpowiadający liniom przebiegającym tu sił. Na radiogramie wyróżniamy beleczkowanie kompresyjne (przenoszące obciążenia z głowy kości udowej na łuk Adamsa i bliższy koniec kości udowej) i rozciągowe (biegnące przez górny brzeg szyjki i stanowiące oparcie dla sił dochodzących do krętarza większego). Ponadto istnieje kilka grup tzw. beleczkowania wtórnego. W osteoporozie znika w pierwszej kolejności beleczkowanie wtórne, a w drugiej kolejności beleczkowanie pierwotne. Zanikanie beleczkowania jest podstawą 6-stopniowej skali zaniku kostnego wg Singha (7,27,121). Prawidłową strukturę (stopień 6) oznacza obecność wszystkich rodzajów beleczkowania. W najbardziej zaawansowanym stadium (stopień 1) zanika nawet beleczkowanie kompresyjne pierwotne, pozostaje ślad beleczkowania samej głowy kości udowej. W obrębie szyjki wyróżnia się tzw. trójkąt Warda. W tym miejscu z powodu znikomego obciążania zanik kości beleczkowej występuje najwcześniej.

Niedoceniana jest wartość radiogramów ręki i dalszej nasady kości promieniowej w diagnostyce osteoporozy. Minimalna grubość tkanek miękkich w tej okolicy pozwala na uzyskanie dobrej jakości obrazów zarówno kości beleczkowej (dalsza odcinek kości promieniowej, przynasady kości śródręcza i paliczków), jak i korowej (trzony paliczków). Możliwe jest w tej okolicy dokonywanie szeregu pomiarów na obrazach zarówno kości korowej, jak i gąbczastej (8,27,111).

Badanie radiologiczne nie uwidaczniające złamania nie upoważnia do rozpoznania osteoporozy. Tym niemniej jest niezbędne w ocenie złamań kostnych i w diagnostyce różnicowej chorób metabolicznych kości. Może też

być podstawą pierwszego podejrzenia osteoporozy, które wymaga dalszej diagnostyki densytometrycznej.

Badania densytometryczne i ultradźwiękowe

Podstawowym kryterium rozpoznawania osteoporozy jest badanie densytometryczne. Densytometria jest metodą pośredniego oznaczania gęstości mineralnej kości na podstawie pomiaru absorpcji promieniowania jonizującego. Pierwszy densytometr został opracowany w roku przez Camerona i Sorensona w 1963 roku, w którym źródłem promieniowania był izotop ^{125}I , emitujący energię ok. 27,5 keV (17,27). W latach 70 tych i 80-tych stosowano promieniowanie izotopowe, natomiast we współczesnych aparatach najczęściej wykorzystuje się promieniowanie rentgenowskie. Podstawowym elementem aparatu densytometrycznego jest źródło promieniowania umieszczone ponad badanym odcinkiem ciała. Odpowiednie czujniki po drugiej stronie mierzą natężenie osłabionego promieniowania. Absorpcja zależy liniowo od masy i grubości danego obiektu wg prawa Lamberta-Beera:

$$I_x = I_0 X e^{-\mu x}$$

gdzie:

I_0 - natężenie wiązki padającej

I_x - natężenie wiązki po przejściu przez element pochłaniający

e - stała 2,71

μ - współczynnik charakteryzujący element pochłaniający, przez który przenika wiązka

x - grubość, np. kości

Energia wiązki przechodząca przez badaną kość zostaje częściowo pochłonięta i rozproszona. Promieniowanie jest absorbowane przede wszystkim przez minerały kości ze względu na ich wysoką masę cząsteczkową. Badanie

densytometryczne pozwala na pośredni pomiar masy kostnej (BMC). Przy jednoczesnej analizie powierzchni i kształtu analizowanej kości (cm²), pozwala to na obliczenie tzw. powierzchniowej masy kostnej (7,27):

$$\text{BMD}_{(\text{g/cm}^2)} = \text{BMC}_{(\text{g})}/\text{P}(\text{cm}^2)$$

Źródło promieniowania określa typ densytometru:

SPA (*Single Photon Absorptiometry*) - aparat jednoizotopowy,

DPA (*Dual Photon Absorptiometry*) - aparat dwuizotopowy.

SXA (*Single Energy X-ray Absorptiometry*) - aparat z jednoenergetyczną lampą rentgenowską,

DXA (*Dual Energy X-ray Absorptiometry*) – aparat o dwuenergetycznym źródle promieniowania rentgenowskiego

Pomiary uzyskiwane tymi metodami podają gęstość mineralną w jednostkach g/cm². Pomiar gęstości mineralnej najbardziej zbliżony do rzeczywistego (gęstość wolumetryczna - g/cm³) umożliwiają aparaty ilościowej tomografii komputerowej, tzw. QCT (*Quantitative Computed Tomography*). Wyróżniamy dwie metody tomografii komputerowej służące do oceny mineralizacji kości:

- SEQCT (*Single Energy QCT*) – w której używamy wiązki promieniowania rentgenowskiego o pojedynczej energii ,
- DEQCT (*Dual Energy QCT*) – wykorzystującą wiązki promieniowania o dwóch różnych energiach.

Ponadto stosowane są densytometry obwodowe oparte na tomografii komputerowej czyli pQCT (*peripheral Quantitative Computed Tomography*). Tomografia komputerowa pozwala także na pomiar w dowolnym miejscu na poprzecznym przekroju badanej kości, oddzielnie dla warstwy korowej i gąbczastej. Umożliwia ponadto poprzez ocenę poprzecznych przekrojów na różnych poziomach odzwierciedlenie trójwymiarowej struktury kości. Dalszy

rozwój w tym zakresie stanowią mikrotomografia komputerowa (μ QCT), oraz tomografia komputerowa o wysokiej rozdzielczości - HRQCT (*High resolution Quantitative Computed Tomography*). W ostatnich latach duże nadzieje wiąże się z badaniami tkanki kostnej metodą Magnetycznego Rezonansu (*Magnetic Resonance – MR*), a także rezonansu o wysokiej rozdzielczości - HRMR (*High Resolution Magnetic Resonance*) i rezonansu magnetycznego mikro (μ MR). Metody z zastosowaniem wysokiej rozdzielczości stosujemy *in vivo*, zaś metody mikro *in vitro*. Są to jednak wciąż badania trudno dostępne i drogie (43,48,50).

Niezależnie od określenia bezwzględnej gęstości mineralnej wszystkie aparaty densytometryczne umożliwiają porównywanie uzyskanego pomiaru do grupy kontrolnej. Program aparatu porównuje uzyskany wynik badania do masy szczytowej grupy kontrolnej (T-score) oraz do odpowiedniej dla badanego grupy wiekowej (Z-score). Wyniki badań wyrażone są w procentach lub w postaci wyżej wymienionych wskaźników (7,111).

Oprócz metod densytometrycznych w diagnostyce osteoporozy wykonuje się badania ultradźwiękowe (*QUS-Quantitative Ultrasonography*) (7,52,111). Badanie to nie oznacza gęstości mineralnej, ale dostarcza informacji o parametrach odnoszących się do struktury kości. Aparaty ultradźwiękowe mierzą osłabienie fali ultradźwiękowej przy przejściu przez kość BUA (*Broadband Ultrasound Attenuation*) oraz zmianę charakterystyki tej wiązki SOS (*Speed of Sound*). Z tych dwóch wielkości obliczany jest współczynnik S (*Stiffness*). Najczęstszymi miejscami pomiarów ultradźwiękowych są kość piętowa, paliczki oraz kość piszczelowa. Ostatnio pojawiło się wiele doniesień naukowych wskazujących na dużą wiarygodność diagnostyczną pomiarów ultradźwiękowych kości piętowej w prognozowaniu złamań szyjki kości udowej (6,52).

Najczęściej stosowanymi metodami do pomiaru gęstości kości miejsc obwodowych (przedramię, pięta) i osiowych (kręgosłup, bliższy odcinek kości udowej) są SXA i DXA. Ogólnie można ustalić cztery główne zastosowania dla

pomiarów masy kostnej w związku z osteoporozą. Mogą być one wykonywane dla ustalenia rozpoznania, oceny ryzyka występowania złamań i monitorowania leczenia lub śledzenia naturalnego przebiegu osteoporozy (27,29,30,111,126).

Szczególnie istotną i podkreślaną przez wielu autorów jest korelacja obniżania się BMD ze zwiększeniem ryzyka złamania osteoporotycznego (zmniejszenie BMD o jedno odchylenie standardowe może zwiększyć ryzyko złamania osteoporotycznego 1,5-3 razy - *relative risk fracture*). Dzięki temu pomiary densytometryczne używane są do określania ryzyka wystąpienia złamania.

Stosowane w badaniach densytometrycznych metody cechuje zróżnicowana dokładność (*accuracy* - określa błąd z jakim dana metoda oznacza badany parametr w stosunku do wartości rzeczywistych), natomiast wysoka powtarzalność (*precision* - określa błąd występujący przy wielokrotnym badaniu tej samej próbki daną metodą) (tabela 1) (7,43,124). Wynika to z faktu niewielkiej często, a koniecznej do zdiagnozowania rocznej utracie masy kostnej (np. w osteopenii po 40 r.ż. 1-2% rocznie, a w osteoporozie 4-8%) (7,27,111).

Obecność zmian zwyrodnieniowych, złamań i deformacji w obrębie kręgosłupa oraz zwapnień aorty dodatkowo zaburza dokładność pomiarów dokonywanych w tym miejscu. Z tego powodu preferuje się wykonywanie badań densytometrycznych kręgosłupa u osób młodszych, a bliższego odcinka kości udowej u osób starszych (61,109). Niemniej jednak ostatnie badania wykazały, że najlepiej ryzyko złamania przewiduje pomiar densytometryczny wykonany w podejrzanym o nie miejscu, np. ryzyko złamania szyjki kości udowej najlepiej charakteryzuje pomiar w obrębie bliższego odcinka kości udowej (101,111,113,117). Właśnie szyjka kości udowej ma stać się wg ostatnich doniesień standardowym miejscem pomiaru densytometrycznego w rozpoznawaniu osteoporozy (66).

Tabela 1. Charakterystyka niektórych metod densytometrycznych

Metoda	Dokładność (%)	Powtarzalność (%)
SPA	4-6	1-2
DPA	5-10	1-2
SXA	1-2	4-6
DXA		
total body	1	1-2
lumbar spine lateral	5-10	2-3
SEQCT	5-15	2-4
DEQCT	3-6	4-6
USG	1,3-3,8	0,1-2,1

1.3 Badania histomorfometryczne tkanki kostnej

Budowa tkanki kostnej

Tkanka kostna jest wyspecjalizowaną odmianą tkanki łącznej przystosowaną do specyficznych funkcji. Dzięki swej budowie ma niezwykle właściwości mechaniczne (sztywność i twardość), pozwalające na spełnianie funkcji podporowych. Jest też ważnym magazynem dla wielu pierwiastków i uczestniczy w procesach metabolicznych. Cechą charakterystyczną, wyróżniającą tkankę kostną spośród innych rodzajów tkanki łącznej, jest występowanie w jej istocie międzykomórkowej składników nieorganicznych w postaci kryształów. Faza nieorganiczna stanowi ok. 70% masy istoty międzykomórkowej tkanki kostnej, pozostałe 30% to składniki organiczne. Głównym składnikiem fazy nieorganicznej są fosforany wapnia w postaci hydroksyapatytu. Kryształy hydroksyapatytu mają wymiary 40x20x10 nm. Faza organiczna tkanki kostnej to w 90% włókna kolagenowe oraz proteoglikanowa macierz. Włókna kolagenowe spojone istotą podstawną przeplatając się między sobą (choć nie tworząc pęczków) tworzą podstawowe jednostki strukturalne tkanki kostnej – blaszki. Wzdłuż osi długiej włókien kolagenowych, związane z nimi osteonektyną, układają się kryształy nieorganiczne (21,107).

W tkance kostnej występują także spełniające zróżnicowane funkcje komórki.

- Komórki prekursorowe (osteogenne), które w dojrzałej kości występują w okostnej i śródkostnej, a także wyściełają kanały Haversa i belecзки kostne, mogą pod wpływem bodźców indukujących kościotworzenie dzielić się i różnicować w osteoblasty.

- Osteoblasty komórkami produkującymi składniki organiczne blaszek kostnych i biorą udział w ich mineralizacji. Po obmurowaniu się włóknami i macierzą przekształcają się w osteocyty.
- Osteocyty są podstawowymi komórkami dojrzałej tkanki kostnej. Leżąc w jamkach kontaktują się z komórkami sąsiednimi poprzez wypustki biegnące w kanalikach kostnych przebijających blaszki. Połączenia te (typu nexus) powodują możliwość skoordynowanej reakcji osteocytów na różne bodźce indukujące przebudowę kości (np. siły mechaniczne). Umożliwia to przebudowę kości zgodnie z potrzebami mechanicznymi organizmu.
- Osteoklasty to duże komórki wielojądrzaste o charakterze makrofagowym. Ich główną funkcją jest resorpcja kości. Aktywne osteoklasty tworzą w kości charakterystyczne zagłębienia – zatoki Howshipa.

Wszystkie komórki tkanki kostnej odgrywają istotne funkcje metaboliczne podczas procesów przebudowy tkanki kostnej (21,94,96,105,107).

Typy tkanki kostnej

W kości możemy wyróżnić dwa główne typy morfologiczne blaszkowatej tkanki kostnej – kość zbitą (haversjańską) i kość gąbczastą (beleczkową). Kość zbita tworzy trzony kości długich i zewnętrzną warstwę nasad i kości płaskich (także kręgów). Charakterystyczne dla jej budowy jest układanie się blaszek kostnych wokół naczynia centralnego tworząc osteony, czyli systemy Haversa. Kość gąbczasta występuje w nasadach kości długich oraz tworzy śródkoście kości płaskich. Wypełnia też wnętrze trzonu kręgowego. W jej obrębie równolegle ułożone blaszki kostne tworzą belecзки kostne. Są one pokryte komórkami osteogennymi lub osteoblastami. Przerwanie ich ciągłej warstwy powoduje natychmiast resorpcję kości. Osteocyty w obrębie beleczek są

odżywiane przez kanaliki bezpośrednio od naczyń szpiku wypełniającego przestrzenie międzybeleczkowe.

Przebudowa tkanki kostnej

Tkanka kostna ulega w ciągu całego życia stałej przebudowie, w trakcie której niszczenie kości jest ściśle sprzęgnięte z jej tworzeniem. Ubytek tkanki kostnej wynika z zaburzenia równowagi pomiędzy tymi procesami. W okresie wzrostu przeważa proces kościotworzenia, w wieku starszym resorpcji. Rocznie proces przebudowy obejmuje 25% masy kości gąbczastej i 2-3% kości zbitej (wynika to z większej liczby komórek i większego kontaktu tkanki kostnej gąbczastej z naczyniami). Zapoczątkowanie (aktywacja) przebudowy polega na odciągnięciu z powierzchni kości pokrywających ją komórek spoczynkowych, wywodzących się z osteoblastów. Na obnażonej kości pojawiają się wtedy jednojądrzaste prekursorzy osteoklastów, które zlewając się ze sobą tworzą zróżnicowane wielojądrzaste osteoklasty. Czynniki, które decydują o zapoczątkowaniu tego procesu nie są do końca poznane. Wiele z jednostek strukturalnych kości jest prawdopodobnie aktywowana przypadkowo. Inna możliwość to aktywacja procesu przebudowy w określonym miejscu kości spowodowana przez obciążenie kości, przez miejscowe czynniki uwalniane ze starzejącej się tkanki kostnej czy to przez sygnał pochodzący z systemu osteocytów i komórek spoczynkowych.

Po zapoczątkowaniu procesu przebudowy osteoklasty w ciągu 1-2 tygodni resorbują określony (zdeteminowany) obszar tkanki kostnej, następnie znikają, ustępując miejsca komórkom jednojądrzastym, których zadaniem jest przygotowanie powstałych w kości zatok poresorpcyjnych pod tworzenie nowej tkanki i ściągnięcie prekursorów osteoblastów do tych zatok. W tej tzw. fazie odwrócenia (rewersji), w której resorpcja przechodzi w proces tworzenia kości

uwalnia się szczególnie ważny czynnik sprzęgający. Nie został on jeszcze dokładnie poznany; być może jest to jeden lub kilka czynników parakrynnych, produkowanych w podlegających resorpcji i rewersji zatokach lub ich otoczeniu. Sugeruje się, że mogą to być mitogeny osteoblastów, takie IGF II lub TGF beta produkowane przez osteoblasty i znajdujące się w macierzy kostnej. Jeśli zostaną one uwolnione przez następową aktywność osteoblastów, czynniki te mogą pobudzać podziały i różnicowanie osteoblastów w zatokach poresorpcyjnych. Obecne w zatokach osteoblasty zaczynają wypełniać je nową macierzą organiczną (osteoidem), która po upływie 25-35 dni podlega mineralizacji. Pełny cykl przebudowy kości trwa ok. 3 miesiące (faza osteolizy trwająca ok. 4 tygodni jest znacznie krótsza od fazy kościotworzenia), a jego wynikiem są nowe belecзки w kości beleczkowej i nowe systemy Haversa w kości korowej. Wszystkie komórki włączone w proces usuwania i tworzenia - osteoblasty, osteoklasty i komórki fazy odwrócenia - tworzą jednostkę przebudowy kości (*bone remodelling unit*). W kośćcu funkcjonuje jednocześnie ok. 2 mln jednostek przebudowy kości (21,44,105,107,111).

Histomorfometria tkanki kostnej

Bezpośrednia ocena tkanki kostnej wymaga badania preparatów histologicznych. Ilościowa analiza uwidocznionych struktur histologicznych nosi nazwę histomorfometrii. Jakkolwiek jest to metoda inwazyjna, to wnosi dużo informacji o stanie tkanki kostnej. Dzięki różnym metodom barwienia preparatów (np. poprzez znakowanie tetracyklinami) możemy uzyskać informacje nie tylko o budowie kości, lecz także o jej procesach metabolicznych. Standardowym miejscem diagnostycznej biopsji kości w celu badania histomorfometrycznego jest talerz kości biodrowej (biopsja transilialna). Wynika to z łatwego dostępu chirurgicznego do kości w tym

miejscu, który umożliwia pobieranie tkanki kostnej w znieczuleniu miejscowym. Dla tego miejsca opracowano też standardy wykonywania pobierania materiału, metod barwienia i analizy obrazu. Jednakże diagnostykę histomorfometryczną możemy przeprowadzić też w innych rejonach kośćca (kości długie, trzony kręgowe). Parametrów, które możemy określić w histomorfometrii jest wiele, jednak tylko niektóre z nich dotyczące talerza kości biodrowej są powszechnie oznaczane. Ponieważ istniało wiele rozbieżności w nazewnictwie oraz definiowaniu poszczególnych parametrów histomorfometrycznych (także ze względu na ich inne definicje stereologiczne) zostały one (dla talerza kości biodrowej) usystematyzowane 1987 roku przez Komitet Nomenklaturowy ASBMR (*American Society of Bone and Mineral Research*) pod przewodnictwem A.M. Parfitta (95).

Podstawowymi ocenianymi w histomorfometrii kości beleczkowej z talerza kości biodrowej parametrami są:

- Objętość całkowita kości beleczkowej (OCKB, *Trabecular Bone Volume* – TV/BV)
- Powierzchnia kości beleczkowej (PKB, *Bone Surface* – BS)
- Powierzchnię resorpcji (PR, *Eroded Surface* – ES/BS)
- Powierzchnię osteoidu (Poid, *Osteoid Surface* – OS/BS)
- Front wapnienia (FW, *Mineralized Surface* – MS/BS)
- Średnią grubość beleczek (GB, *Wall Thickness* – W.Th)
- Średnia grubość osteoidu (GO, *Osteoid Thickness* - O.Th)
- Przyrost wapnienia (PW, *Mineral Aposition Rate* – MAR)

Na podstawie tych parametrów można obliczyć wiele innych wtórnych (20,84,85,106,116), a następnie ocenić uzyskane dane dla uzyskania żądanych informacji klinicznych.

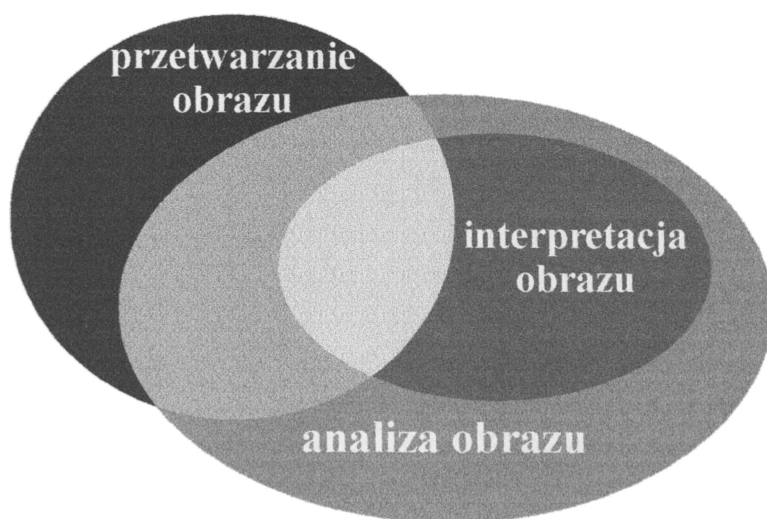
Histomorfometria odgrywa, oprócz wyżej przytoczonych funkcji klinicznych, niezwykle istotną rolę w ocenie skuteczności, bezpieczeństwa

i mechanizmów działania nowych leków między innymi stosowanych w leczeniu osteoporozy (29,111).

Do niedawna histomorfometria była wykonywana tradycyjnie (poprzez liczenie obiektów przez badającego). Obecnie stworzono do jej potrzeb metody komputerowej analizy obrazu ułatwiające, przyspieszające i obiektywizujące pomiary (39,43,50,72,84,85).

1.3.1 Podstawy komputerowej analizy obrazu

Komputerowa analiza obrazu (*image analysis*) jest procesem przetwarzania informacji zapisanej w postaci obrazu (mapy bitowej) na inną jej formę (liczba lub grupa liczb, zmienna logiczna, ruch, itp.). Często spotykamy się też z pojęciami pokrewnymi: przetwarzaniem obrazu (*image processing*) oraz rozumieniem obrazu (*image understanding*). Wzajemne relacje między tymi terminami ilustruje Ryc. 1.



Ryc. 1. Zależności pomiędzy analizą, przetwarzaniem i rozumieniem obrazu.

Przez przetwarzanie obrazu rozumiemy proces, w którym wyjściowy obraz przekształcamy w inny obraz. Przykładem może być wyostrażanie, zmiana jasności i kontrastu lub redukcja szumów. Typowymi obszarami zastosowań przetwarzania obrazów są: telewizja (reklamy, czołówki programów), kinematografia (efekty specjalne, animacja) oraz poligrafia (przygotowanie do druku).

Inne zastosowania, a w szczególności badania naukowe i diagnostyka obrazowa wykorzystują metody komputerowej analizy obrazów. Jak widać to na Ryc. 1, przetwarzanie i analiza obrazu posiadają pewien wspólny obszar, gdyż

część przekształceń jest identyczna w obydwu procesach. Większość operacji jest jednak odmienna. Przykładowo, efekty artystyczne (symulacja różnych stylów malarskich) są używane tylko w przetwarzaniu obrazów, natomiast bloki pomiarowe są domeną metod analizy obrazu.

Wreszcie, interpretacja obrazu jest pewnym podzbiorem metod analizy obrazu. Przyjmuje się, że interpretacja obrazu to przede wszystkim wykonywanie pomiarów na wstępnie przygotowanych obrazach oraz ich następna obróbka statystyczna i wnioskowanie. Podział na analizę i przetwarzanie obrazu nie ma większego znaczenia praktycznego, jednak warto o nim wiedzieć, gdyż obydwa te terminy są używane przy opisie profesjonalnego oprogramowania i ich znajomość pozwala lepiej zorientować się w zakresie możliwości danego programu.

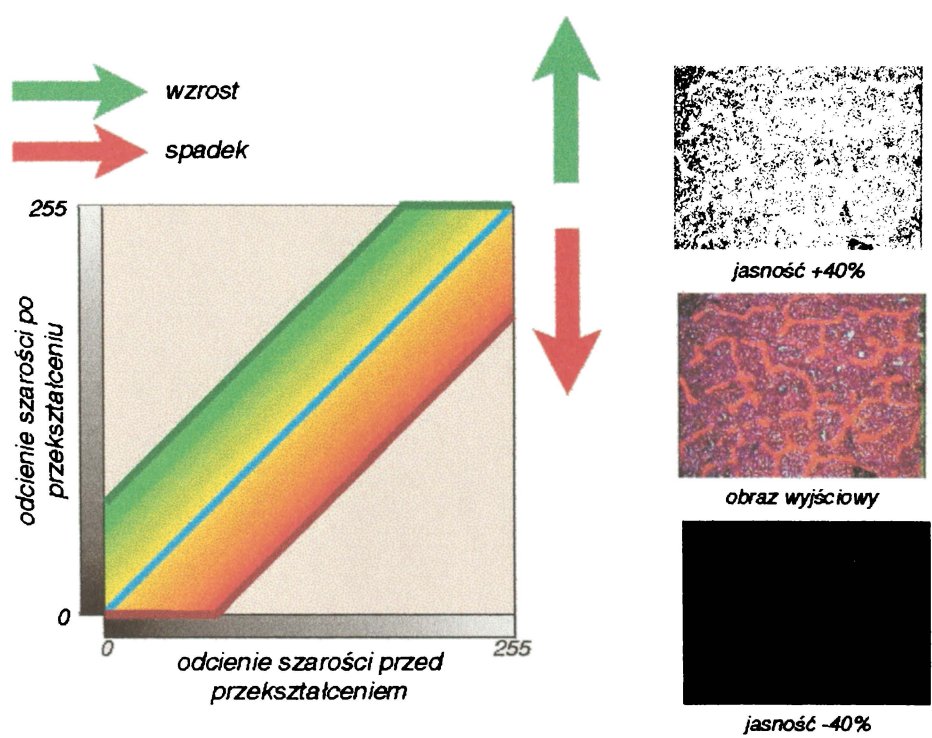
Komputerowa analiza obrazu zajmuje się przede wszystkim interpretacją informacji zapisanej w postaci rastrowej, czyli mapy bitowej lub bitmapy. Wśród przekształceń używanych w analizie obrazu można wyróżnić dwie podstawowe grupy:

- a) przekształcenia punktowe,
- b) kontekstowe.

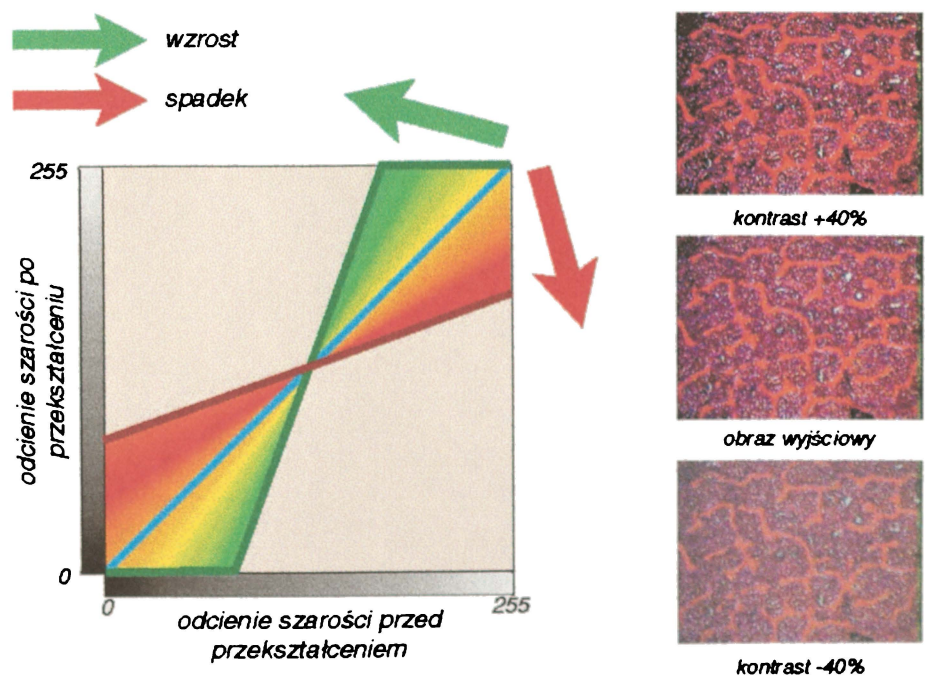
Przekształcenia punktowe polegają na zmianie jasności lub koloru poszczególnych punktów obrazu na podstawie różnie zdefiniowanych reguł, które łączy jedna wspólna cecha: wartość (czyli kolor lub jasność) każdego punktu po przekształceniu zależy tylko od wartości tego punktu przed przekształceniem i użytej reguły. Nie ma natomiast żadnego znaczenia, jakie wartości posiadają sąsiedzi tego punktu. Przykłady typowych, prostych przekształceń punktowych zawierają Ryc. 2-5.

Ryc. 2 i 3 przedstawiają zmianę jasności i kontrastu obrazu. Są one skutecznym narzędziem wizualnej poprawy jakości obrazu, ale mogą powodować utratę znacznej części informacji, co zmysł wzroku rejestruje jako

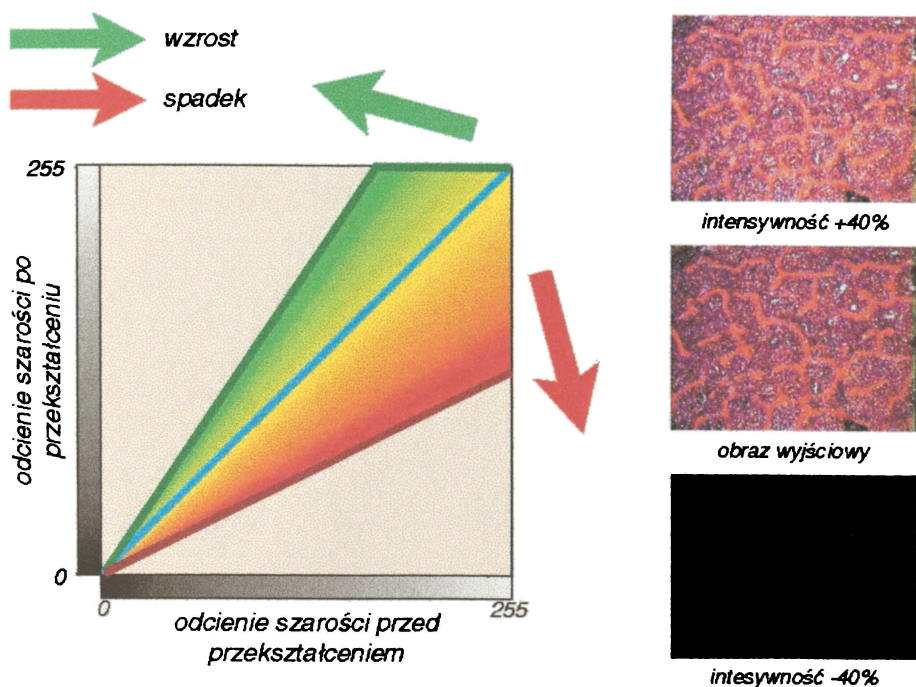
utratę szczegółów w cieniach lub światłach. Aby zaradzić temu zjawisku wprowadzono korekcję intensywności obrazu (Ryc. 4).



Ryc. 2. Zmiana jasności obrazu.



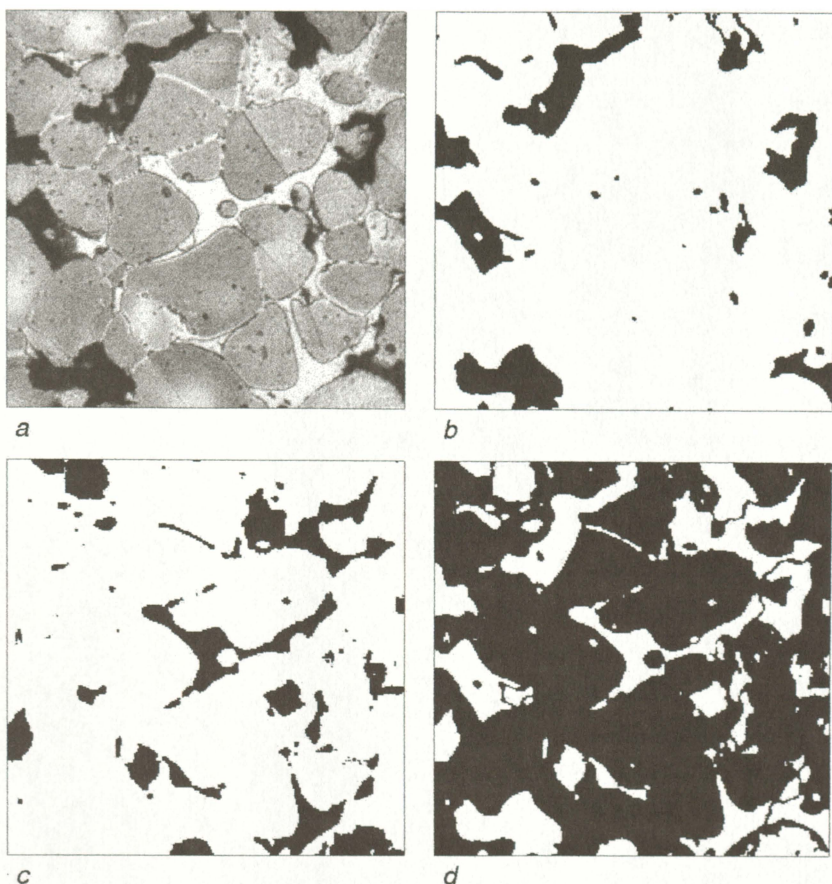
Ryc. 3. Zmiana kontrastu obrazu.



Ryc. 4. Zmiana intensywności obrazu.

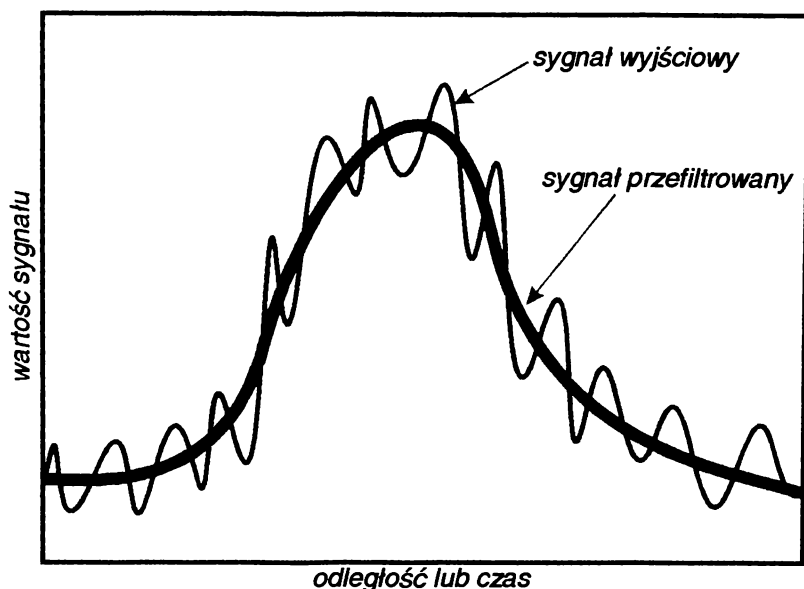
Szczególnym przykładem przekształcenia punktowego jest binaryzacja, która zamienia obraz w postać binarną, tzn. tworzy obraz składający się wyłącznie z czarnych i białych punktów. Binarystacja polega na podaniu zakresu stopni szarości lub kolorów, które zostają zamienione w czerń i zamianie reszty punktów w biel. Przykłady binaryzacji pokazuje Ryc. 5. Binarystacja ma podstawowe znaczenie w analizie obrazu, gdyż tylko na obrazach binarnych można przeprowadzać większość pomiarów, jak np. zliczanie obiektów, pomiar pola powierzchni, obwodu, itp. Większość przekształceń używanych w analizie obrazu ma na celu takie jego przetworzenie, by końcowy obraz binarny odpowiadał możliwie wiernie zarysom badanych obiektów (np. beleczek kostnych, szpary stawowej, jąder komórkowych, itp.).

Oprócz omówionych i zilustrowanych już przekształceń punktowych wyróżnia się jeszcze operacje logiczne (analogiczne do algebry zbiorów), arytmetyczne (dodawanie, odejmowanie, mnożenie i dzielenie) oraz geometryczne (przesunięcia i obroty).



Ryc. 5. Przykład obrazu (a) i otrzymanych na jego podstawie obrazów binarnych (b, c i d), reprezentujących różne obszary obrazu wyjściowego.

Drugą wielką grupę przekształceń używanych w analizie obrazu stanowią wspomniane już przekształcenia kontekstowe. W odróżnieniu od przekształceń punktowych wynik operacji zależy tu zarówno od analizowanego punktu, jak i od jego najbliższego otoczenia. Typowym zastosowaniem tych przekształceń jest redukcja szumów. Ideę procesu redukcji szumów ilustruje Ryc. 6. Ogólnie, tego typu przekształcenia nazywa się filtrami.



Ryc. 6. Ilustracja procesu filtracji

Wśród wielu filtrów opracowanych dla potrzeb analizy obrazu zazwyczaj wyróżnia się następujące ich grupy:

- filtry redukujące szumy (zwane również dolnoprzepustowymi)
- filtry wyostrzające (zwane również górnoprzepustowymi)
- filtry wykrywające krawędzie.

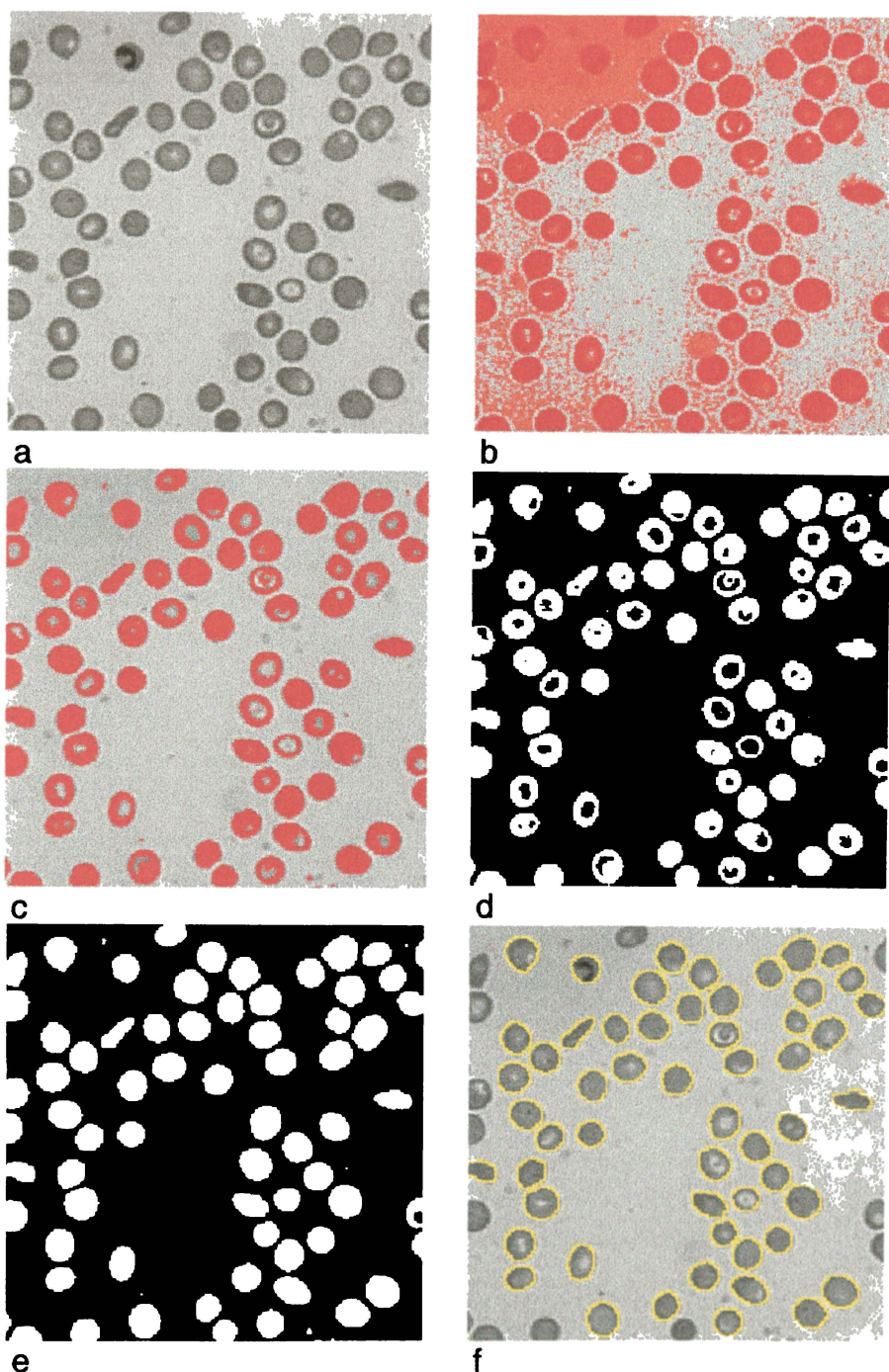
Odrębną grupę filtrów stanowią tzw. przekształcenia morfologiczne, które modyfikują jedynie wybrane rejony obrazu, które odpowiadają wcześniej zdefiniowanym wzorcom lokalnej konfiguracji punktów, tzw. elementom strukturalnym. Przekształcenia te nie będą szczegółowo omawiane ze względu na ich złożoność. Ich używanie wymaga dobrej znajomości metod analizy obrazu, pozwalają jednak na automatyczne wykonywanie wielu operacji, których wynik jest zgodny z intuicją człowieka. W szczególności możliwe jest:

- rozdzielanie sklejonych obiektów (np. komórek)
- uzupełnianie brakujących elementów (np. przerw w obrazie błony komórkowej lub beleczek kostnych)
- filtrowanie obiektów na podstawie ich kształtu

- wygładzanie brzegów obiektów.

Sama znajomość przekształceń nie wystarcza do przeprowadzenia analizy obrazu. Konieczny jest właściwy dobór tych przekształceń, ich kolejności i parametrów (np. wielkości analizowanego otoczenia). Na Ryc. 7. pokazano kilka etapów komputerowej analizy obrazu czerwonych ciałek krwi, co pozwala zorientować się, jak przebiega taka analiza.

Wyjściowy obraz (Ryc. 7a) poddano binaryzacji. Ze względu na nierównomiernie szare tło, źle dobrany próg detekcji w procesie binaryzacji prowadzi do błędnych wyników (czerwony obszar na Ryc. 7b). Poprawny dobór parametrów przekształcenia (Ryc. 7c) pozwala na uzyskanie akceptowalnego obrazu binarnego (Ryc. 7d). Obraz ten wymaga jednak dodatkowych operacji, a w szczególności: zalania otworów i sprawdzenia, czy ciałka krwi nie są posklejane (Ryc. 7e). Odfiltrowanie bardzo małych obiektów, które są po prostu zanieczyszczeniami oraz pominięcie obiektów przeciętych przez brzeg obrazu prowadzi do końcowego wyniku detekcji, widocznego w postaci żółtych pętli nałożonych na wyjściowy obraz (Ryc. 7f). Po takim ciągu przekształceń możliwe są praktycznie dowolne analizy, np. ocena rozkładu wielkości czy też kształtu krwinek. Omawiany powyżej przykład należy do bardzo prostych, ale dzięki temu jest łatwy do prześledzenia. Ponadto zawiera on wszystkie typowe etapy analizy obrazu.



Ryc. 7. Analiza czerwonych ciałek krwi (opis w tekście).

Przedstawiony krótki przegląd podstawowych metod analizy obrazu pozwala na podsumowanie ich cech i dostrzeżenie możliwości stosowania w diagnostyce medycznej, w tym w ortopedii.

Metody komputerowej analizy nie pozwalają zastąpić człowieka przy ocenie obrazu (radiogramu, preparatu histopatologicznego, itp.), stanowią

jednak cenne narzędzie przy dokonywaniu pomiarów (zliczanie obiektów, ocena wielkości, kształtu, itp.). Wykorzystując współczesną technikę komputerową, metody analizy obrazu umożliwiają:

- przyspieszenie pomiarów,
- poprawę powtarzalności wyników analiz,
- obiektywizację wyników badań
- wyznaczenie złożonych parametrów, trudnych lub nawet niemożliwych do wyznaczenia innymi metodami (np. ocena momentów bezwładności czy długości beleczek kostnych).

Wymienione powyżej zalety czynią metody analizy obrazu bardzo ważnym narzędziem w badaniach naukowych. Stosunkowo wysoki koszt odpowiedniego oprogramowania, konieczność bardzo starannego przygotowywania preparatów i odpowiedniej rejestracji obrazów oraz specjalistycznego przeszkolenia personelu medycznego powodują, że omawiane metody są jeszcze stosunkowo rzadko używane dla potrzeb rutynowych badań diagnostycznych. Pomimo tych trudności coraz częściej z dużym powodzeniem są one wykorzystywane w pracach badawczych, m. in. w histologii, radiologii i ortopedii. W tej dziedzinie istotne osiągnięcia mają krakowskie ośrodki naukowe (26,74,99,125,132,133).

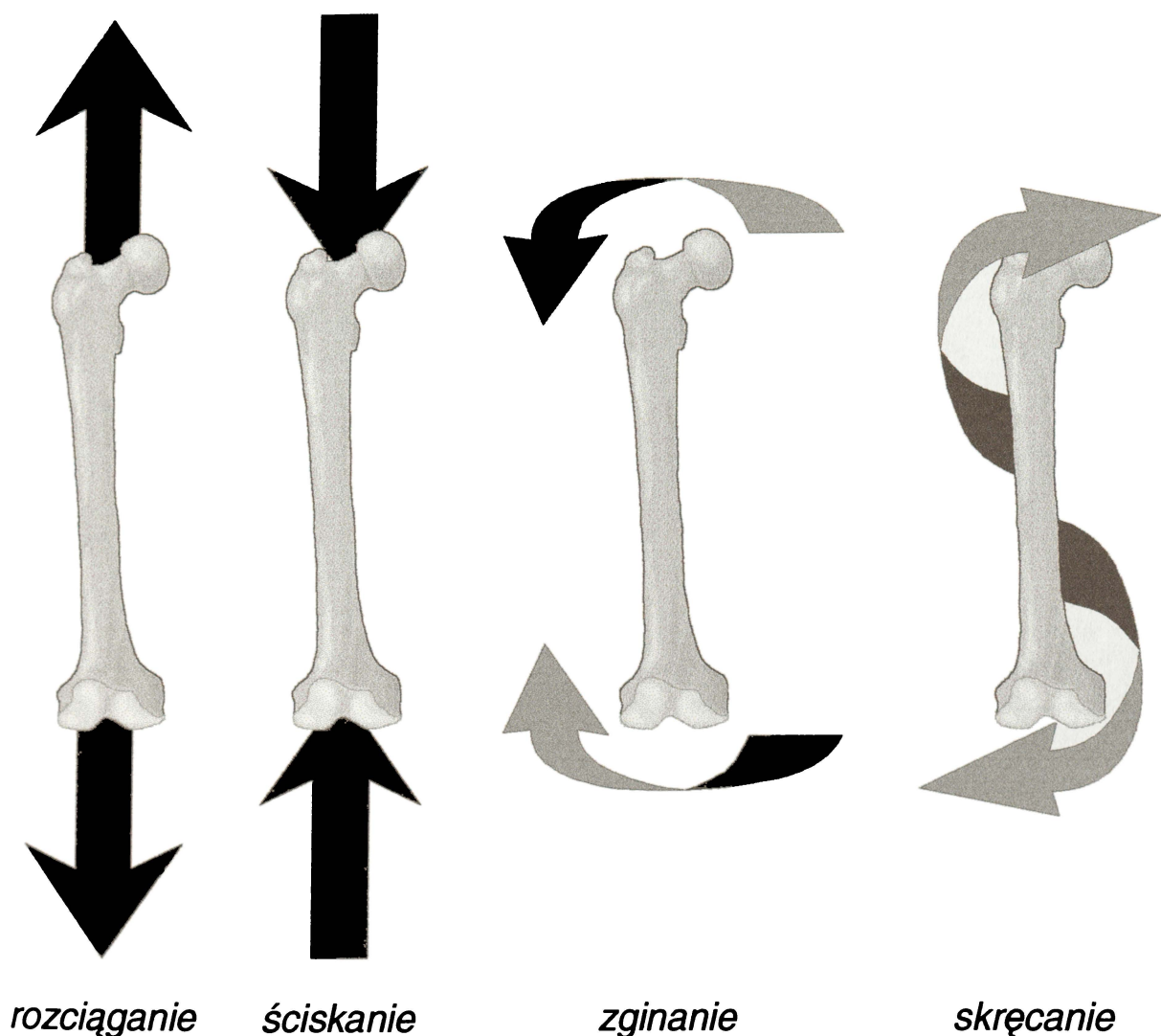
1.4 Wytrzymałość trzonów kręgowych

Mechaniczne właściwości tkanki kostnej decydują o jednej z jej podstawowej funkcji, jaką jest funkcja podporowa. Kiedy do kości jest przykładana siła, powoduje to jej odkształcenie (*strain*) oraz powstanie sił wewnętrznych przeciwstawiających się przyłożonemu obciążeniu. Wielkość tego wewnętrznego oporu, odniesioną do pola powierzchni przekroju kości nazywamy *naprężeniem* (*stress*). Kość może przenosić bez złamania naprężenia nie przekraczające pewnej granicznej wartości, którą nazywamy *wytrzymałością* (*strength*) (38). Można zatem zdefiniować wytrzymałość jako zdolność materiału do przenoszenia obciążeń bez jego zniszczenia (9,118).

W zależności od tego jaka jest wzajemna orientacja sił działających na kość określamy wytrzymałość na : rozciąganie, ściskanie, zginanie i skręcanie, które powoduje stan naprężenia zwany ścinaniem (Ryc. 8). W układzie kostno-stawowym człowieka zdecydowanie dominują obciążenia ściskające. Dlatego najważniejszym parametrem wytrzymałościowym np. dla trzonów kręgowych jest ich wytrzymałość na ściskanie (5,11,13,34,127).

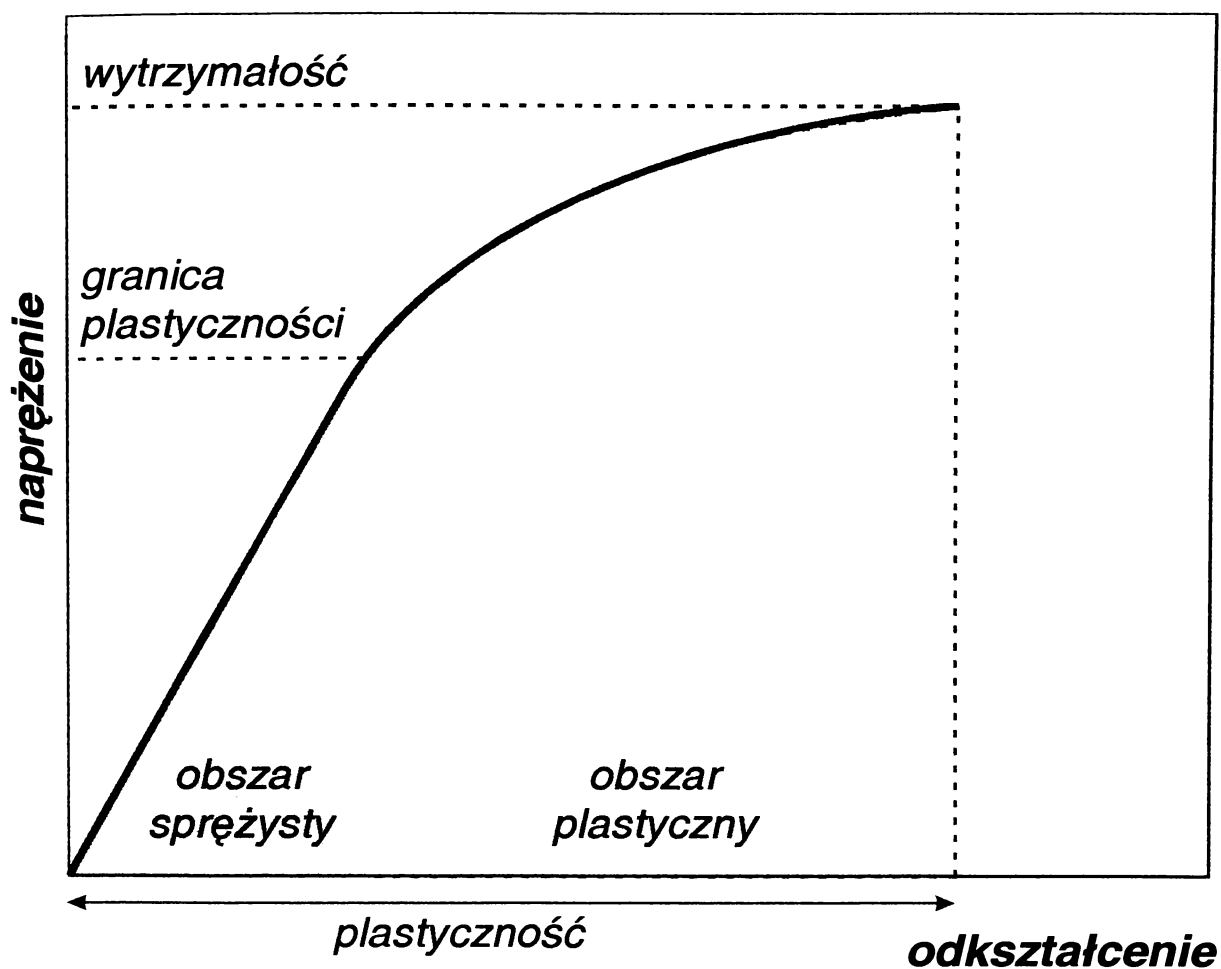
Wskutek działania sił deformujących dochodzi do zmian długości badanej kości określanych jako *odkształcenie* (*strain*). W wyniku testów wytrzymałościowych uzyskuje się wykresy zależności pomiędzy odkształceniem, a wytrzymałością (lub działającą siłą) (Ryc. 9). Poprzez analizę wykresów tych zależności możemy określać różne parametry, takie jak wytrzymałość, siła łamiąca, sprężystość itp.

Część liniowa wykresu reprezentuje obszar sprężystości. Nachylenie krzywej w tym obszarze jest proporcjonalne do sztywności materiału, a obciążenie nie powoduje trwałych odkształceń. Z kolei nieliniowa część wykresu reprezentuje obszar plastyczności, w którym kość jest trwale deformowana przez działającą siłę. Ta część wykresu rozpoczyna się w punkcie umownej granicy plastyczności (*yield point*), definiowanej jako wartość



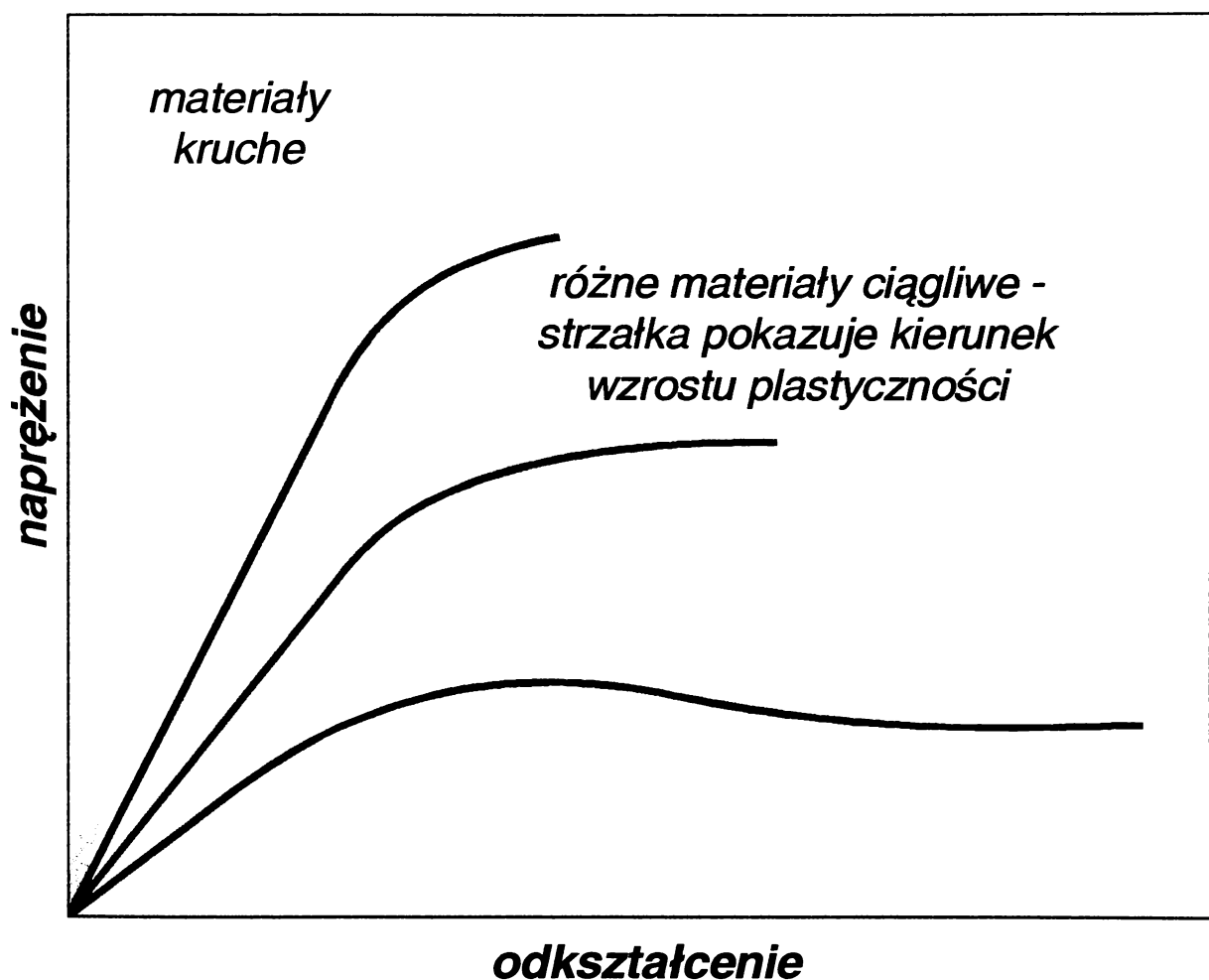
Ryc. 8. Cztery podstawowe typy sił działających na kość

naprężenia (siły), dla którego trwałe odkształcenie próbki osiąga 0,05%. Maksymalne naprężenie (siła, np. siła łamiąca) w miejscu uszkodzenia wyznacza wytrzymałość (*ultimate strength*), a odpowiadające temu punktowi przemieszczenie określa *plastyczność* (inaczej podatność – *ductility*), czyli zdolność do osiągnięcia bez naruszenia spójności materiału nowego kształtu oraz jego zachowania po odjęciu obciążenia. Obszar pod wykresem określa wartość energii odkształcenia oraz uszkodzenia (złamania) materiału i nosi nazwę *ciągliwości* (*toughness*), która charakteryzuje zdolność materiału do ulegania dużym odkształceniom trwałym.



Ryc. 9. Schemat zależności pomiędzy naprężeniem a odkształceniem.

Ponadto, z przebiegu wykresu możemy wnioskować, czy dany materiał jest kruchy (*kruchosc* – właściwość materiału polegająca na jego pękaniu bez uprzednich znacznie większych odkształceń plastycznych), sprężysty (*sprężystość* – zdolność materiału do odzyskania pierwotnego kształtu i wymiarów po usunięciu obciążeń wywołujących odkształcenie) czy plastyczny (*plastyczność* – zdolność materiału do osiągnięcia nowych kształtów oraz zachowania tych kształtów po odjęciu obciążenia, bez naruszenia spójności) (Ryc. 10).



Ryc. 10. Charakterystyczne przebiegi zależności naprężenie-odkształcenie dla różnych typów materiałów.

Kręgosłup człowieka, stanowiąc centralną oś ciała, spełnia ważną funkcję podporową. Zwiększenie wytrzymałości kręgosłupa na nacisk osiowy powiększają fizjologiczne krzywizny strzałkowe - układ znany w technice jako belka esowata, której wytrzymałość jest 17-krotnie większa od belki prostej (34). Przeciętna wytrzymałość kręgosłupa na obciążenie (tzw. siła nośna) wynosi ok. 350 kg. Wytrzymałość ta zwiększa się zgodnie ze wzrostem obciążeń działających na poszczególne odcinki kręgosłupa w miarę zbliżania się do miednicy. W odcinku szyjnym wynosi przeciętnie ok. 115 kg, piersiowym ok. 210 kg, a lędźwiowym aż ok. 400 kg (34,94).

Jakkolwiek struktury więzadłowe, krążki międzykręgowe i mięśnie znacznie wspomagają przenoszenie obciążeń przez kręgosłup, to główny ciężar spoczywa tutaj na kręgach. Kręgi spełniają to zadanie dzięki swej specyficznej budowie (34,56,94).

Za przenoszenie obciążeń osiowych odpowiada przede wszystkim (80-90%) trzon kręgu zbudowany z dwóch płytek granicznych, istoty korowej i istoty gąbczastej. Za przenoszenie pozostałych 10-20% obciążeń osiowych odpowiadają tylne struktury kręgu, a zwłaszcza stawy międzywyrostkowe. Tylne elementy kręgu mają większe znaczenie przy przenoszeniu innego rodzaju obciążeń (np. skrętnych czy zgięciowych) (34,94).



Ryc. 11. Kręg lędźwiowy.

Elementy strukturalne trzonu kręgu w różnym stopniu odpowiadają za przenoszenie obciążeń, jednak ich największą część przenosi dzięki swej unikalnej mikrostrukturze tkanka kostna gąbczasta trzonu (69,80). Warto wspomnieć, że wytrzymałość kości gąbczastej trzonu w pełni koreluje z wytrzymałością całego trzonu co potwierdzono badaniami (89,91,92,93).

W celu oznaczenia wytrzymałości tkanki kostnej stworzono wiele metod (42,56,59,94). Ich mnogość wynika z różnorodności sił działających na różne

kości. W obrębie kręgosłupa jednak największe znaczenie mają, bo też najczęściej w naturze działają na ludzki kręgosłup, siły ściskające (9,11,34). Dla oceny sił ściskających działających na kręgi i sprawdzenia wytrzymałości kręgów na te siły wykonywane są testy zgnieciowe. Do ich wykonywania służą specjalne prasy z oprzyrządowaniem umożliwiającym pomiary i wykresy badanych sił (Ryc. 34) (2,18,55,73,94).

Najbardziej istotnym parametrem wytrzymałościowym dla trzonu kręgowego jest maksymalna wytrzymałość na ściskanie, która określa moment złamania trzonu kręgu pod wpływem sił ściskających (9,11,73,94).

2. ZAŁOŻENIA I CEL PRACY

Jakkolwiek badania densytometryczne potrafią określić zagrożenie złamaniem kości, to niektóre obserwacje kliniczne złamań kręgosłupa nie potwierdzają w pełni ich wyników (80,102). Podnoszona jest natomiast coraz częściej rola oceny struktury tkanki kostnej w prognozowaniu złamań (31,87,96,105,122,123,130,131). Szerokie informacje o strukturze tkanki kostnej uzyskujemy dzięki histomorfometrii. Wydaje się istotnym ocenienie możliwości obu metod w aspekcie diagnostyki wytrzymałości tkanki kostnej.

Aby ocenić, która z wymienionych powyżej metod w sposób bardziej wiarygodny pozwala ocenić rzeczywistą wytrzymałość tkanki kostnej i określić jej podatność na złamania przeprowadziłem serię badań densytometrycznych i badań histomorfometrycznych izolowanych trzonów kręgowych analizując wyniki obu tych badań w aspekcie badań wytrzymałościowych tych kręgów.

Celem pracy jest ocena przydatności pomiaru gęstości mineralnej i pomiarów histomorfometrycznych struktury beleczkowej trzonów kręgów ludzkich dla określenia ich wytrzymałości mechanicznej.

3. MATERIAŁ

Materiał stanowiło 36 ludzkich kręgów lędźwiowych L1 i L2 pobranych w Instytucie Patologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego ze zwłok 18 osób zmarłych z różnych przyczyn (na podstawie dokumentacji medycznej i sekcji wykluczono chorobę nowotworową i możliwości innych zmian ogniskowych). Kręgi pochodziły w 11 przypadkach od mężczyzn, a w 7 przypadkach od kobiet. Wiek badanych wahał się od 17 do 90 lat (średnio 55,4 lat). Do badań zależności między gęstością mineralną tkanki kostnej, mikrostrukturą określaną poprzez histomorfometrię a wytrzymałością wybrano kręgi L1 i L2, gdyż to właśnie w tym odcinku kręgosłupa najczęściej dochodzi do złamań. Po pobraniu oddzielano elementy tylne, a trzony kręgów utrwalano i przechowywano w 4% zbuforowanym roztworze formaldehydu.

4. METODY

Uzyskane trzony kręgów L1 i L2 badano

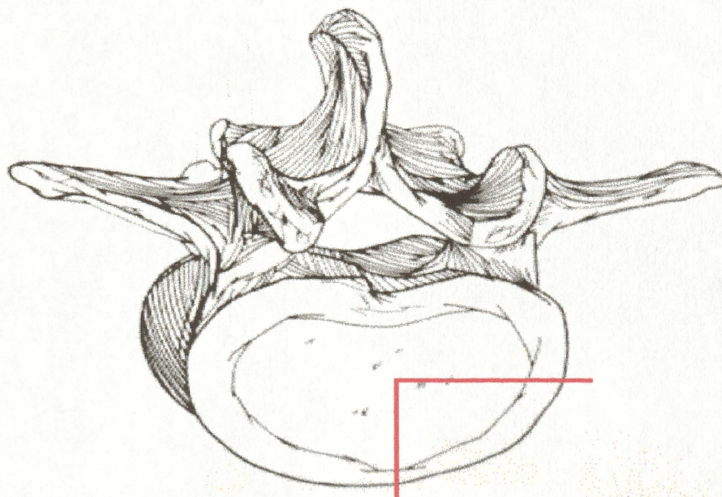
- densytometrycznie
- histomorfometrycznie
- wytrzymałościowo

4.1. Badania densytometryczne

Gęstość mineralną tkanki kostnej (*Bone Mineral Density*-BMD) trzonów kręgów L2 oznaczano metodą ilościowej tomografii komputerowej tomografem komputerowym "Somatom DRH" firmy Siemens (Szpital Wojewódzki w Białymstoku) z programem "Osteo CT". Ustalono dzięki tym pomiarom parametry odrębnie dla warstwy gąbczastej (BMD-t) oraz dla warstwy korowej (BMD-c) trzonów kręgów. Jednocześnie oznaczono pola powierzchni przekrojów poprzecznych badanych trzonów.

4.2. Badania histomorfometryczne

Całe trzony L1 pochodzące z autopsji zwłok były utrwalane i przechowywane w 4% zbuforowanym roztworze formaldehydu. Trzon cięto piłką w trzech podstawowych płaszczyznach, co pozwalało uzyskać fragmenty stanowiące 1/8 objętości wyjściowej trzonu.



Ryc. 12. Miejsce wycięcia fragmentu trzonu kręgowego przeznaczonego do badań histomorfometrycznych.

Odwapnianie fragmentów przeprowadzano w 7.5% roztworze kwasu azotowego (HNO_3). Duża objętość tkanki zmuszała do długotrwałego 10-14 dniowego okresu odwapniania. W tym czasie dokonywano 4-5 krotnej wymiany roztworu.

Materiał płukano pod bieżącą wodą przez ok. 2h, a następnie w roztworze 50% alkoholu etylowego przez 1-2 dni. Jako płyny pośrednie zastosowano: alkohol 70%, alkohol 96%, alkohol absolutny, mieszaninę eter dietylowy/alkohol absolutny (stos. obj. 1:1) przez okres 1 doby w każdym z w/w płynów.

Fragmety trzonów zatapiano we wzrastających roztworach celoidyny (Fluka 81680) o stężeniach odpowiednio 2%, 4%, 8%, 10% w mieszaninie eter/alkohol przez okres ok. 1 tygodnia w każdym.

Po odparowaniu rozpuszczalnika i uformowaniu bloczków materiał krojono na mikrotomie saneczkowym w płaszczyźnie poziomej trzonu. Grubość skrawków wynosiła ok. 20 μm .

Barwienie przeprowadzono w 1% wodnym roztworze eozyny. Po prześwietleniu w ksylenie montowano preparaty i zamykano je w balsamie kanadyjskim. Preparaty przygotowano w Katedrze Histologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego.

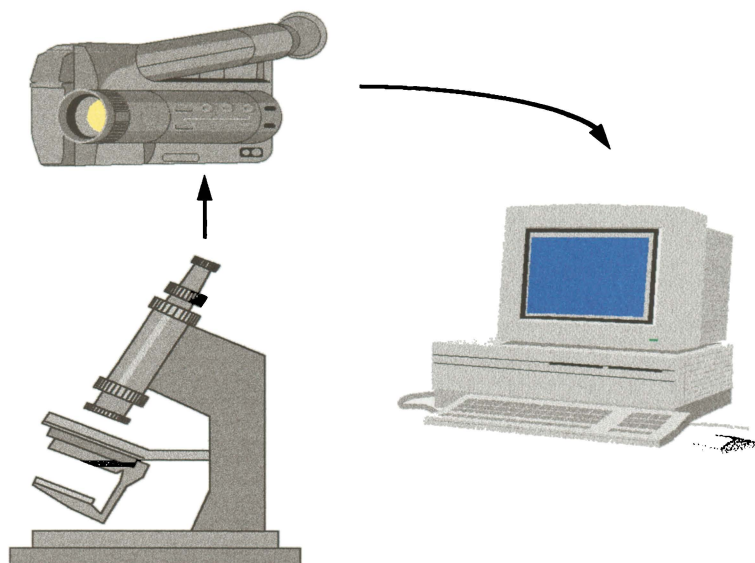
Uzyskane preparaty obejmowały 1/4 objętości trzonu kręgu. Ponieważ preparaty pochodziły z różnych wysokości trzonu, wartość średnia zawartości beleczek była charakterystyczna dla całej grubości kości.

Na każdym preparacie oceniano 13-16 pól widzenia obejmujących całą powierzchnię analizowanego fragmentu trzonu kręgu.

4.2.1 Komputerowa analiza obrazów histomorfometrycznych

Trudności w ocenie granic poszczególnych elementów strukturalnych tkanki kostnej należą do głównych przyczyn błędów przy próbach pomiarów struktury beleczkowej w preparatach histologicznych. Jakkolwiek istnieją programy do komputerowej analizy obrazów histologicznych kości, to są one nastawione na badania talerza kości biodrowej. Podjęto zatem próbę opracowania własnej automatycznej metody detekcji struktury beleczkowej metodami komputerowej analizy obrazu. Obrazy zapisywano wykorzystując mikroskop optyczny, przy powiększeniu obiektywu 2x, zwanym też powiększeniem lupowym (*powiększenie lupowe wynosi w przybliżeniu d/f , gdzie d -odległość najlepszego widzenia, f -ogniskowa soczewki*). Mikroskop wyposażono w kolorową kamerę S-VHS, sprzęgniętą z komputerem za pomocą karty frame grabber Matrox Meteor.

Użyta w badaniach kamera Panasonic GP-KR222E pozwalała na 24-bitowy zapis obrazu kolorowego w standardzie RGB (trzy składowe: R-czerwona (*Red*), G-zielona (*Green*) oraz B-niebieska (*Blue*). Każda ze składowych została zapisana przy pomocy 8 bitów, co odpowiada 256 odcieniom szarości). Wszystkie obrazy miały rozmiar 768x576 pikseli, co odpowiada polu widzenia 6,53x4,90 mm. Zatem każdy zapisany obraz obejmuje powierzchnię 32 mm², a pojedynczy punkt obrazu odpowiada odległości 8,5 μm. Dalszą obróbkę prowadzono z użyciem programu do analizy obrazu Aphelion v.2.4.

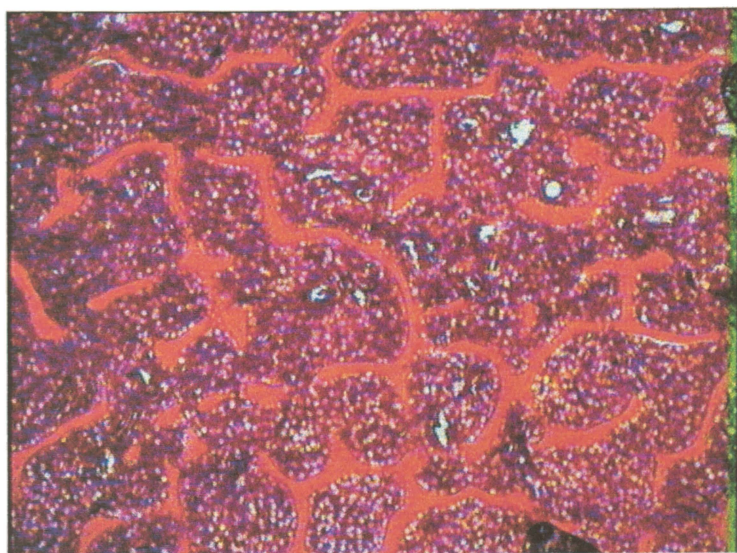


Ryc. 13. Schemat stanowiska do komputerowej analizy obrazu.

Zapisane obrazy przetwarzano przy pomocy szeregu opisanych procedur analizy obrazu doprowadzając go do postaci binarnej, by następnie dokonać pomiarów parametrów geometrycznych struktury beleczkowej.

Opis algorytmu przetwarzania obrazów

Obraz kolorowy (Ryc. 14) rozbito na trzy składowe RGB. Zastosowany sposób barwienia preparatu powoduje, że będące przedmiotem oceny beleczki kostne są bardzo słabo widoczne na obrazie niebieskiej składowej obrazu kolorowego (Ryc. 15) i dlatego składowa ta nie była używana w dalszych przekształceniach.



Ryc. 14. Obraz zapisany w standardzie RGB.

Ponieważ beleczki zostały zabarwione na czerwono (Ryc. 14), najwięcej informacji o strukturze beleczkowej powinna zawierać składowa czerwona obrazu RGB. O tym, że tak jest w istocie, przekonuje Ryc. 16. Detekcja beleczek wyłącznie na podstawie składowej czerwonej nie jest możliwa, gdyż podobny stopień szarości wykazują komórki tłuszczowe szpiku. Do eliminacji komórek tłuszczowych została wykorzystana składowa zielona obrazu RGB.

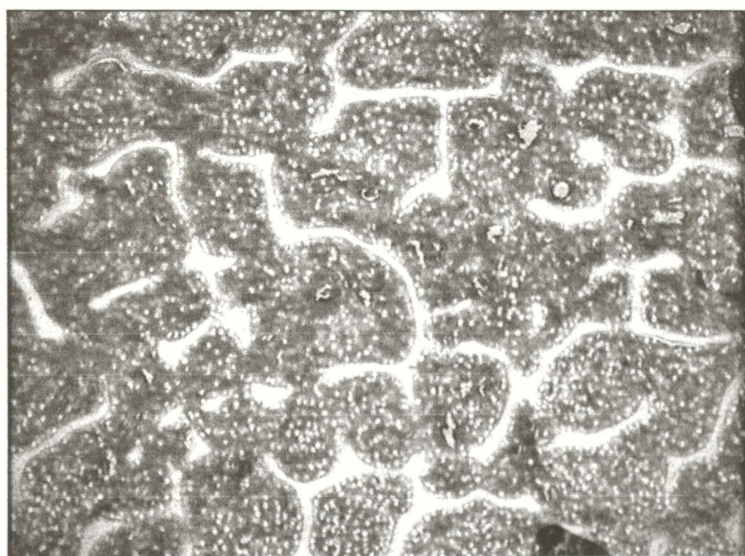
Komórki tłuszczowe są widoczne w składowej zielonej w postaci jasnych obszarów, podobnie, jak w składowej czerwonej. Wynika to stąd, że elementy, widoczne jako białe na obrazie kolorowym (Ryc. 14), mają wysokie wartości wszystkich trzech składowych RGB. Natomiast beleczki kostne, w których zdecydowanie dominuje składowa czerwona, stają się w składowej zielonej szare i są słabo widoczne. Dlatego też składowej zielonej również nie można samodzielnie wykorzystać do detekcji beleczek kostnych.

Najprostszym sposobem wzmocnienia obrazu beleczek kostnych jest odjęcie składowej zielonej od składowej czerwonej. W wyniku tej operacji beleczki kostne powinny pozostać najjaśniejsze, a komórki tłuszczowe powinny zostać wygaszone. Niestety, w rzeczywistej strukturze występuje tak znaczne

zróżnicowanie gęstości tkanek, że opisany powyżej sposób filtracji jest niewystarczający.



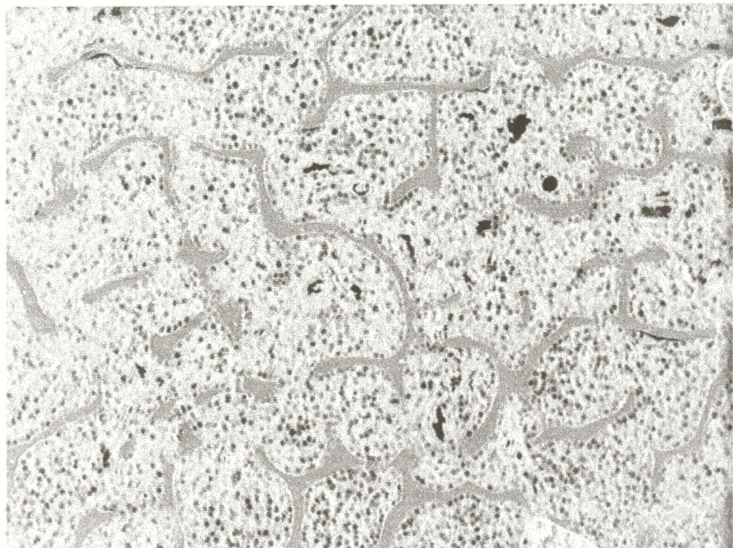
Ryc. 15. Składowa niebieska obrazu kolorowego. W celu poprawy czytelności została ona na tym rysunku rozjaśniona.



Ryc. 16. Składowa czerwona obrazu RGB.

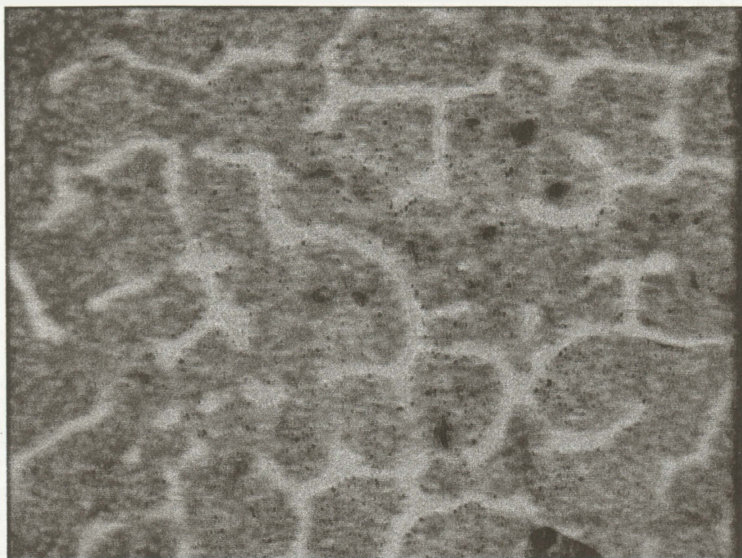
Aby pokonać opisane powyżej trudności, do dalszej analizy wykorzystano negatyw składowej zielonej (Ryc. 17). Beleczki kostne widać na tym obrazie

jako jasnoszare, natomiast te elementy, które na Ryc. 16 powinny zostać usunięte, są czarne lub ciemnoszare.

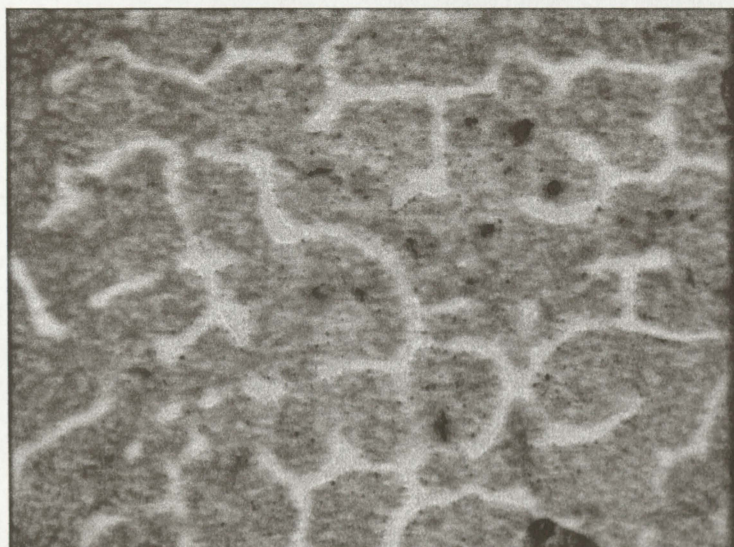


Ryc. 17. Negatyw składowej zielonej obrazu kolorowego.

Następnym krokiem jest pomnożenie przez siebie składowej czerwonej i negatywu składowej zielonej, co daje nowy obraz, widoczny na Ryc. 18. Beleczki kostne są na tym obrazie najjaśniejszym elementem, a komórki tłuszczowe oraz ewentualne artefakty pozostają wygaszone. Obraz pozostaje jednak (co jest słabo widoczne na Ryc. 18) silnie zaszumiony. Szum ten należy odfiltrować, do czego dobrze nadaje się filtr medianowy, który redukuje szumy, a równocześnie w minimalnym stopniu wpływa na ostrość krawędzi widocznych na obrazie. Jest więc zdecydowanie korzystniejszy od np. filtrów uśredniających na podstawie średniej arytmetycznej. Wynik filtracji medianowej pokazano na Ryc. 19.



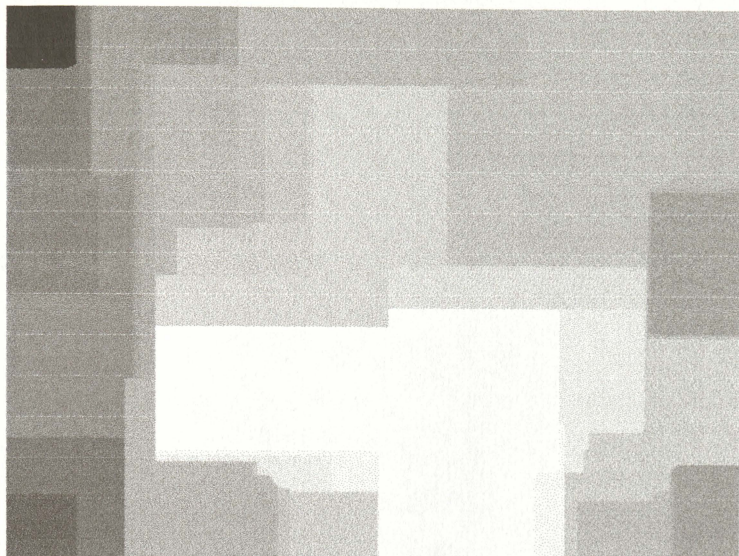
Ryc. 18. Iloczyn składowej czerwonej i negatywu składowej zielonej .



Ryc. 19. Wynik filtracji medianowej.

Wykonane już przekształcenia wzmocniły kontrast pomiędzy beleczkami kostnymi i tłem. Obraz ten jest dobrze czytelny dla oka ludzkiego, jednakże dla potrzeb automatycznej detekcji beleczek konieczne jest wyrównanie gęstości optycznej tła obrazu. Ze względu na różnice w długości drogi optycznej obraz mikroskopowy jest zwykle jaśniejszy w partiach środkowych, a ciemniejszy na brzegach. Dzięki zastosowaniu operacji zamknięcia obrazu (będącej złożeniem dylatacji oraz erozji) o wielkości 60 kroków otrzymano zgeneralizowany obraz

tła. Warto zwrócić uwagę, że zgodnie z naszymi oczekiwaniami, najjaśniejszy pozostaje środek obrazu.

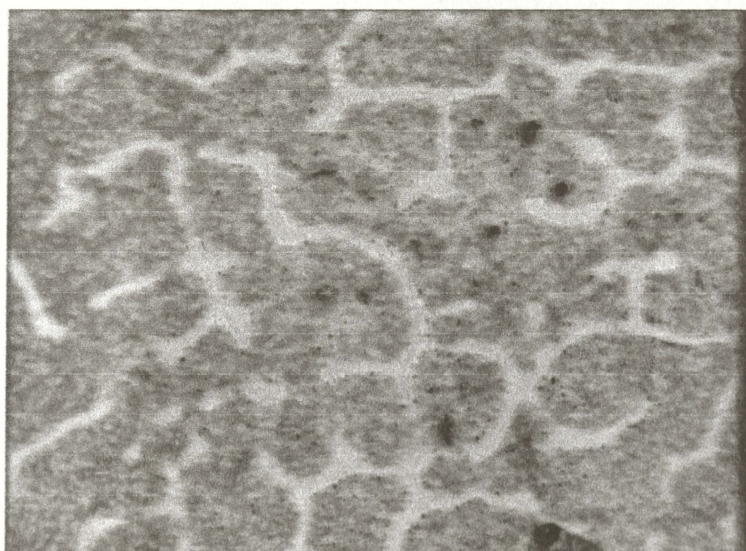


Ryc. 20. Obraz tła z Ryc. 19. W celu lepszego uwidocznienia nierównomierności oświetlenia, na ilustracji rozciągnięto zakres stopni szarości.

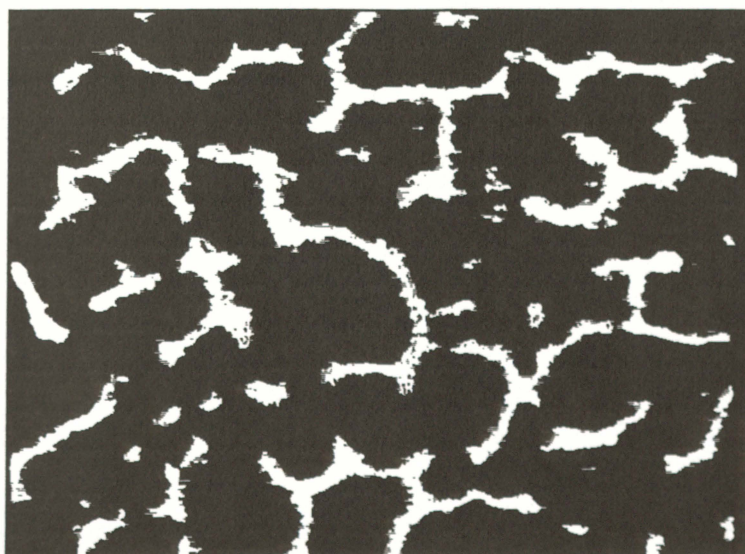
Ponieważ zależy nam na wyrównaniu jedynie najjaśniejszych elementów obrazu, to korekcja może zostać przeprowadzona poprzez proste dodanie obrazów z Ryc. 19 oraz Ryc. 20. Wynik operacji korekty poziomu oświetlenia przedstawiono na Ryc. 21. Jeżeli porównamy obrazy przed i po korekcji, to wyraźnie widać rozjaśnienie narożników obrazu po przeprowadzonej korekcji.

Tak przygotowany obraz można już poddać binaryzacji, będącej końcowym krokiem w procesie detekcji poszukiwanych beleczek kostnych. Dokładna analiza rozkładu stopni szarości z Ryc. 21 wykazuje jednak, że pomimo wyrafinowanych operacji składania poszczególnych kanałów obrazu kolorowego, filtrowania szumów oraz korygowania nierównomierności oświetlenia, beleczki kostne nie są jedynymi jasnymi obiektami w obrębie obrazu. Istnieje duża liczba drobnych, odizolowanych o beleczek obszarów, w których poziom szarości jest identyczny z najciemniejszymi fragmentami beleczek. Okazuje się jednak, że wszystkie najjaśniejsze obszary należą do

beleczek, a dodatkowo taki bardzo jasny obszar znajduje się w obrębie każdej bez wyjątku beleczki. Dzięki temu obszary takie można wykorzystać jako znaczniki do operacji binaryzacji warunkowej (znanej również w literaturze pod nazwą binaryzacji z histerezą), która wymaga określenia dwóch progów czułości. Wynikiem działania tej operacji jest wykrycie obszarów jaśniejszych od niższego progu czułości pod warunkiem, że obszary te zawierają punkty jaśniejsze od wyższego progu czułości. Wynik detekcji beleczek wykonanej tym sposobem przedstawiono na Ryc. 22.



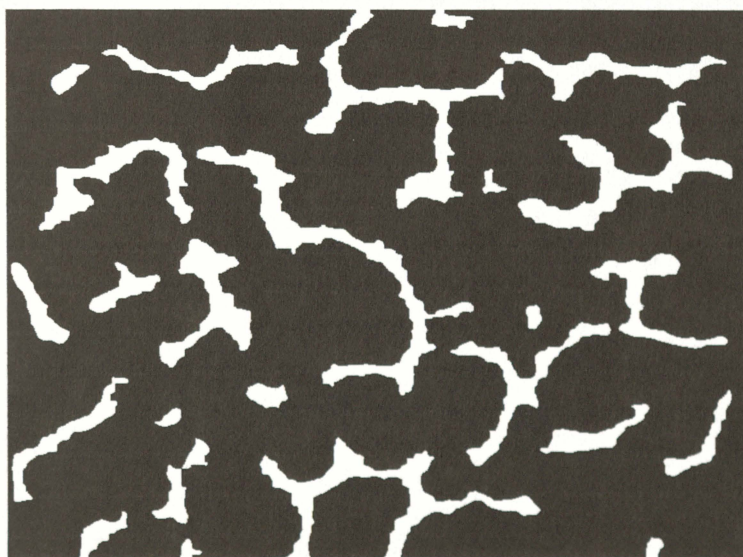
Ryc. 21. Korekcja poziomu oświetlenia obrazu z Ryc. 19.



Ryc. 22. Wynik binaryzacji z histerezą.

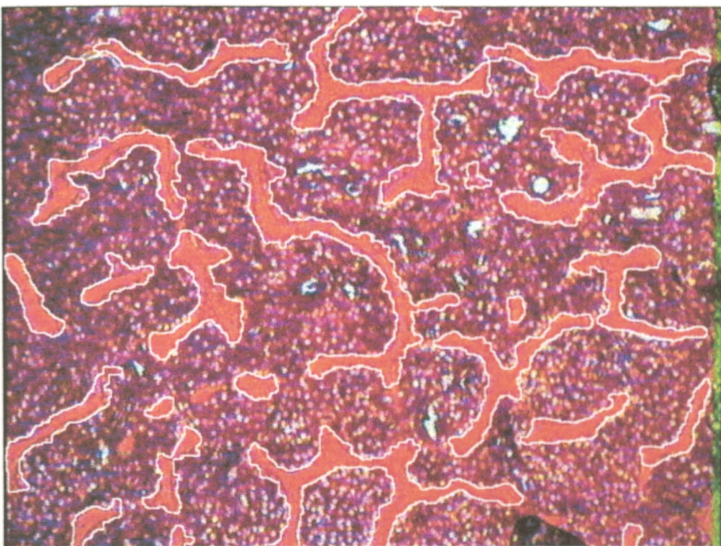
Wynik detekcji przedstawiony na Ryc. 22 wymaga jeszcze pewnych drobnych poprawek. W przypadku przedstawianego tu algorytmu te końcowe operacje miały następujący przebieg: najpierw wykonano filtrację medianową, która wygładziła brzegi beleczek, które w rzeczywistości są bardziej gładkie, a nie poszarpane, jak na Ryc. 22. Następnie wykonano zamknięcie o wielkości 5, co pozwoliło na usunięcie ewentualnych drobnych nieciągłości obrazu beleczek i na zalanie otworów. W dalszej kolejności przeprowadzono otwarcie o wielkości 2, które ostatecznie usunęło wszelkie pozostałości z poprzednich operacji, mające formę cienkich włosków. Końcowy wynik tych operacji pokazano na Ryc. 23.

Binarny obraz pokazany na Ryc. 23 można już poddać procedurom pomiarowym. Aby wykazać stopień doskonałości opisanego wyżej algorytmu, na Ryc. 24 pokazano ostateczny wynik detekcji nałożony na wyjściowy obraz.



Ryc. 23. Końcowy wynik detekcji.

Jak widać, końcowy wynik należy ocenić jako bardzo dobry. Podstawowe zalety przedstawionego powyżej procesu analizy to: wysoka powtarzalność i odtwarzalność, obiektywizm, szybkość (poniżej 2 minut na jeden obraz) oraz możliwość pełnej automatyzacji w obrębie jednego analizowanego pola.



Ryc. 24. Ostateczny wynik detekcji nałożony na wyjściowy obraz.

Opis sposobu wyznaczania parametrów geometrycznych beleczek kostnych

Binarny obraz beleczek kostnych, otrzymany w wyniku zastosowania opisanego powyżej algorytmu, daje podstawę do wykonania pomiarów parametrów geometrycznych struktury beleczkowej.

W przypadku analizy przekrojów poprzecznych trzonów kręgowych nie opracowano jeszcze standardów parametrów histomorfometrycznych, takich, jak na przykład dla talerza kości biodrowej. W związku z tym, w oparciu o polskie oraz międzynarodowe słownictwo w tym zakresie (106,111,115,116), wprowadzono częściowo nowe nazewnictwo, uwzględniające zarówno specyfikę budowy trzonów kręgowych, jak i systematykę parametrów geometrycznych, używaną w stereologii. Ze względu na wspomniany brak standardów, sposób wyznaczania poszczególnych parametrów opracowano wykorzystując procedury typowe dla stereologii i komputerowej analizy obrazu.

Najprostszym do zmierzenia jest udział powierzchniowy beleczek kostnych, który można utożsamiać z ich zawartością w całej objętości badanej struktury. W celu wyznaczenia udziału powierzchniowego ZB wystarczy policzyć liczbę punktów obrazu budujących beleczki kostne P_b i podzielić ją przez liczbę wszystkich punktów w obrazie P_o :

$$ZB = \frac{P_b}{P_o}$$

Wszelkie inne pomiary są znacznie bardziej złożone i wymagają dodatkowego przetwarzania obrazu binarnego, pokazanego na Ryc. 25. Przekształcenia te zostaną w skrócie omówione poniżej i stanowią fragment metodyki analizy obrazu znanej pod nazwą morfologii matematycznej. W metodzie tej najważniejszą funkcję pełni wzorec lokalnej konfiguracji punktów obrazu (czyli otoczenia analizowanego punktu), nazywany elementem strukturalnym. Przekształcenia obrazu polegają na wyborze odpowiedniego elementu

strukturalnego oraz porównywaniu go z lokalną konfiguracją punktów w obrazie. Jakakolwiek akcja (jest to zawsze zmiana wartości analizowanego punktu) jest podejmowana jedynie wtedy, gdy otoczenie danego punktu odpowiada elementowi strukturalnemu. Przy budowaniu elementów strukturalnych używa się następujących symboli:

1 – oznacza w obrazie binarnym punkt o wartości 1 (w naszym przypadku jest to punkt obrazu beleczki)

0 – oznacza punkt o wartości 0 (w naszym przypadku jest to każdy punkt nie należący do obrazu beleczki)

X – oznacza punkt o wartości dowolnej; innymi słowy jest to punkt nie brany pod uwagę przy przekształceniu.



Ryc.25. Binarny obraz beleczek kostnych, stanowiący podstawę do dalszych pomiarów. Struktura beleczek pokazana na tym rysunku odpowiada Ryc. 23.

W przypadku obrazów analizowanych dla potrzeb niniejszej pracy brano pod uwagę elementy strukturalne o wymiarze 3×3 punkty, w których elementem podlegającym ewentualnym zmianom był punkt centralny.

Poniższe schematy wyjaśniają sens i sposób działania elementów strukturalnych.

0	0	0
0	1	0
0	0	0

Element strukturalny pokazany powyżej modeluje sytuację, gdy analizowany punkt obrazu (1) jest otoczony przez same zera (0). Może on zatem służyć do wykrywania pojedynczych, odizolowanych punktów. Z kolei element strukturalny w postaci:

X	0	X
X	1	X
X	X	X

odpowiada sytuacji, gdy analizowany punkt (1) styka się od góry z punktem tła (0), natomiast pozostałe punkty są ignorowane podczas analizy, czyli mogą mieć wartość 1 lub 0. Jeżeli dodatkowo wprowadzimy rotację tego elementu, czyli będziemy kolejno rozpatrywali osiem konfiguracji:

X	0	X	X	X	0	X	X	X	X	X	X
X	1	X	X	1	X	X	1	0	X	1	X
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0

X	X	X	X	X	X	X	X	X	0	X	X
X	1	X	X	1	X	0	1	X	X	1	X
X	0	X	0	X	X	X	X	X	X	X	X

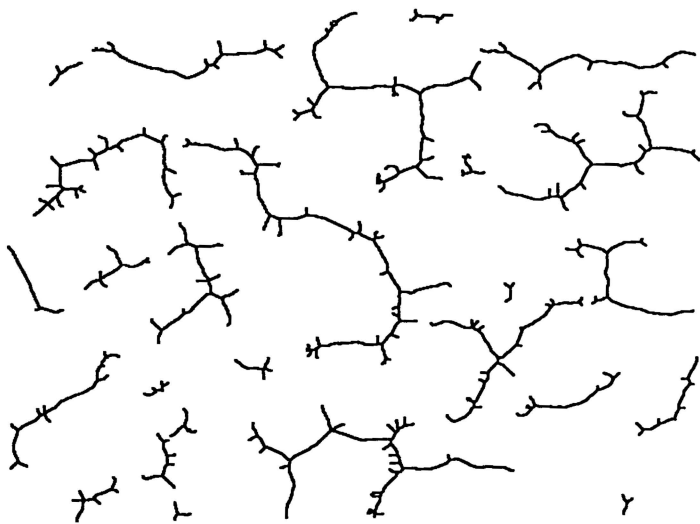
i wybierzemy wszystkie punkty, odpowiadające tym konfiguracjom, to otrzymamy zbiór punktów leżących na obwodzie analizowanych struktur (punkty leżące wewnątrz jakiegokolwiek figury nie spełniają bowiem warunku

sąsiedowania z choć jednym elementem tła, o czym mówi wartość 0 w elemencie strukturalnym).

Po tym wstępie teoretycznym można będzie prześledzić dalsze przekształcenia, wykonane w celu wykonania pomiarów struktury beleczkowej. Pierwszym krokiem było wyznaczenie szkieletów beleczek. Odpowiednia procedura wykorzystuje następujące dwa elementy:

1	1	1	1	X	1
X	1	X	X	1	X
0	0	0	0	0	0

Najpierw usuwane są wszystkie punkty pasujące do elementu pokazanego z lewej strony, przy czym dokonuje się rotacji tego elementu i czynność jest powtarzana tak długo, aż następny krok nie wprowadza już żadnych zmian w obrazie. Prowadzi to do następującego obrazu, nazywanego szkieletem (Ryc. 26).



Ryc. 26. Szkielet obrazu beleczek z Ryc. 25.

Pokazany na Ryc. 26 szkielet obrazu beleczek zachowuje wiele cech morfometrycznych figury wyjściowej, a w szczególności stopnia jej

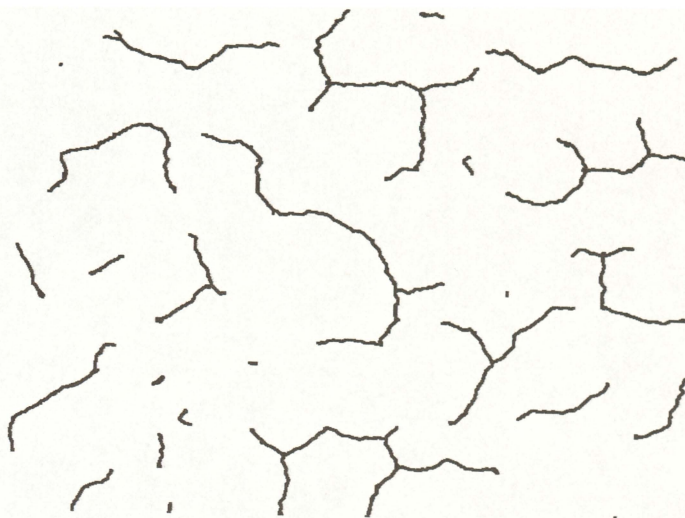
rozgałęzienia. Równocześnie szkielet, będący układem linii jest o wiele łatwiejszy do dalszej analizy i może być wykorzystany do oceny kształtu beleczek, co zostanie pokazane poniżej. Ponieważ szkielet powstaje na podstawie sekwencji analiz otoczenia punktu, może w nim wystąpić nadmiar gałęzi zbudowanych w miejscu lokalnych zgrubień beleczki, które nie są w istocie gałęziami. Takie nadmiarowe gałęzie można usunąć przy pomocy operacji obcinania gałęzi (*pruning*), która polega na cyklicznym usuwaniu końcowych punktów szkieletu. W tym celu wykorzystuje się następujący element strukturalny, poddawany rotacji podczas przekształcenia:

0	0	0
0	1	0
0	X	X

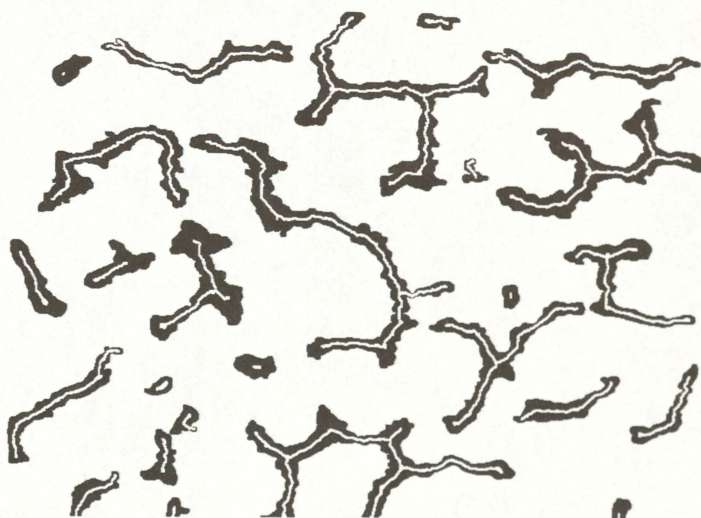
Następnie operację powtarza się z innym elementem strukturalnym:

0	0	0
0	1	0
X	0	X

W przypadku niniejszego opracowania wykonywano 5 kroków obcinania gałęzi. Prowadzi to do wygładzonego szkieletu, pokazanego na Ryc. 27.



Ryc. 27. Szkielet z Ryc. 26, wygładzony przez obcięcie krótkich gałęzi.

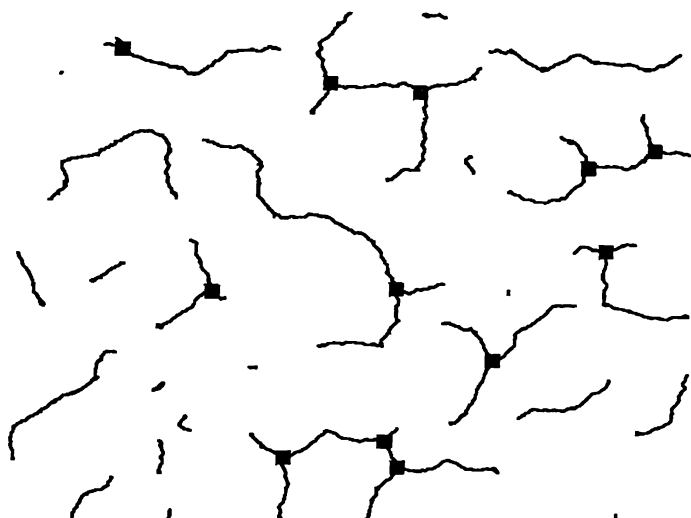


Ryc. 28. Wygładzony szkielet naniesiony na obraz beleczek.

Wygładzony szkielet, naniesiony na obraz beleczek, pokazano na Ryc. 28. Widać wyraźnie, że prawidłowo wykrywa on obecność rozgałęzień w beleczkach. Tak przygotowany szkielet może być już wykorzystany do analizy kształtu beleczek. W pierwszej kolejności wyznaczamy liczbę punktów węzłowych (liczbę węzłów) LW . Punkty węzłowe wyznacza się, wyszukując w szkielecie punkty o następujących konfiguracjach (uwzględniając ich rotację):

1	X	1	X	1	X	X	1	1
X	1	X	1	1	1	X	1	X
X	1	X	X	X	X	X	1	X

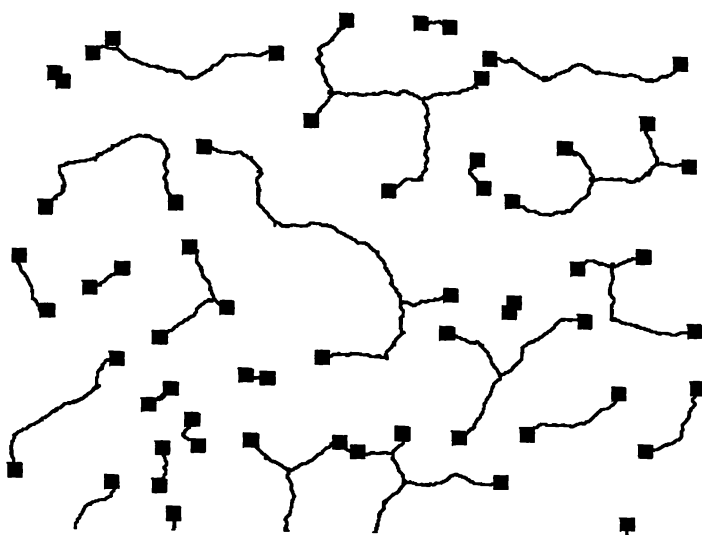
Wykryte punkty węzłowe, naniesione na obraz szkieletu pokazano na Ryc. 29.



Ryc. 29. Miejsca występowania punktów węzłowych, naniesione na szkielet.

Z kolei, wykorzystując element strukturalny, użyty do obcinania gałęzi, można łatwo wyznaczyć liczbę punktów końcowych szkieletu równa liczbie gałęzi LG (Ryc. 30). Do dalszych obliczeń niezbędne jest wyznaczenie liczby beleczek LB , widocznych na obrazie, ale nie następuje to żadnych trudności dla programu komputerowego. W ogólnym przypadku obraz składa się z beleczek widocznych w całości (w liczbie N_c) oraz z beleczek przeciętych przez brzeg obrazu (w liczbie N_p). Ponieważ przecięcie przez brzeg obrazu jest statystycznie przypadkowe, to belecзки przechodzące przez brzeg obrazu należy zliczać z wagą $\frac{1}{2}$, co prowadzi do następującego wzoru:

$$LB = N_c + \frac{1}{2} N_p$$



Ryc. 30. Miejsca występowania punktów końcowych, naniesione na szkielet.

Jak widać na Ryc. 29 i 30, każda nowa gałąź powoduje powstanie dodatkowego punktu węzłowego i dodatkowego punktu końcowego. Wiąże je prosta zależność:

$$LG = 2LB + LW$$

Ponieważ analiza stopnia rozgałęzienia beleczek stanowi jeden z istotnych elementów oceny wpływu ich budowy na wytrzymałość struktury kostnej, to w świetle powyższej zależności wydaje się logiczne przyjęcie, że najprostsza beleczka, bez żadnych dodatkowych gałęzi, składa się z dwóch gałęzi. Można wtedy podjąć próbę wyznaczenia średniej długości beleczki. W tym celu trzeba najpierw wyznaczyć liczbę punktów szkieletu N_s . Szkielet składa się z punktów, które mają dwojakiego rodzaju sąsiedztwo:

$$\frac{1}{1} \quad \text{i} \quad 1 \mid 1 \quad \text{lub} \quad \frac{1}{1} \quad \text{i} \quad \frac{1}{1}$$

Odległość pomiędzy punktami z pierwszym rodzajem sąsiedztwa wynosi 1, a pomiędzy punktami z drugim rodzajem sąsiedztwa wynosi $\sqrt{2}$. W przypadku, gdy struktura beleczkowa nie wykazuje orientacji, wszystkie konfiguracje sąsiadujących punktów są jednakowo prawdopodobne. Pamiętając, że na początku każdą gałąź skróciliśmy o 5 punktów w celu usunięcia gałęzi nadmiarowych, możemy wyznaczyć całkowitą długość szkieletu jako:

$$L_s = (P_s + 5LG) \frac{1 + \sqrt{2}}{2}$$

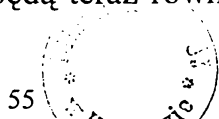
a średnią długość pojedynczej gałęzi DG jako:

$$DG = \frac{L_s}{LG}.$$

Następnym, interesującym parametrem jest średnia grubość gałęzi GB . Można próbować wyznaczyć ją z zależności:

$$GB = \frac{P_b}{L_s}$$

ale takie oszacowanie jest obarczone znacznym błędem (wynik będzie zaniżony), wynikającym stąd, że w okolicach rozgałęzień linie szkieletu przebiegają blisko siebie. Dlatego lepiej jest wykorzystać możliwość budowy tzw. funkcji odległości. Jest to takie przekształcenie, które każdemu punktowi beleczki na obrazie przyporządkowuje stopień szarości proporcjonalny do odległości od brzegu (Ryc. 31). Ponieważ szkielet jest w istocie zbiorem punktów równooddalonych od brzegów figury (nazywany jest czasami linią środkową), to można nałożyć go na funkcję odległości (Ryc. 32) i stworzyć nowy obraz, będący wspólną częścią funkcji odległości oraz szkieletu. Wartości x_i poszczególnych punktów szkieletu będą teraz równe odległości tych punktów

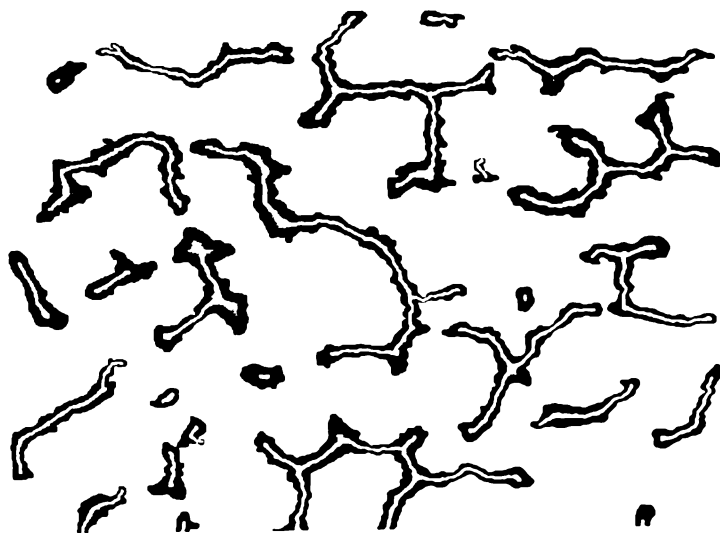


od brzegu beleczki, czyli połowie lokalnej grubości beleczki. Średnią grubość beleczki można teraz wyznaczyć jako

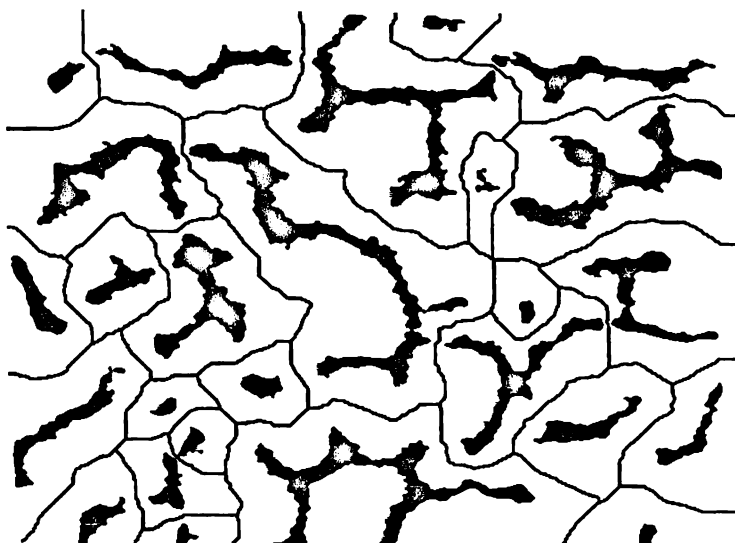
$$GB = 2 \frac{\sum_{i=1}^{P_s} x_i}{P_s}.$$



Ryc. 31. Funkcja odległości.



Ryc. 32. Funkcja odległości z naniesionym szkieletem.



Ryc. 33. Belecзки kostne z naniesionym szkieletem SKIZ.

Dość trudną do wyznaczenia wielkością jest średnia odległość pomiędzy beleczkami. W celu jej wyznaczenia można wykorzystać przekształcenie nazywane w morfologii matematycznej SKIZ (*skeleton by influence zone*). SKIZ pokazuje granice strefy wpływu, czyli zbioru punktów położonych bliżej analizowanej cząstki, niż cząstek sąsiadujących z nią (Ryc. 33). Przekształcenie SKIZ polega na wykonaniu szkieletu z negatywu obrazu oraz następnym obcięciu wszystkich gałęzi. W ten sposób pozostają tylko zamknięte pętle i gałęzie przecięte przez brzeg obrazu. Średnią odległość między beleczkami OB można wtedy przez analogię do omawianej wcześniej długości szkieletu oszacować na podstawie liczby punktów szkieletu SKIZ - P_{SKIZ} jako:

$$OB = \frac{2P_o}{(1 + \sqrt{2})P_{SKIZ}}.$$

Wreszcie ostatnim parametrem, który tutaj zostanie omówiony jest średnia droga swobodna DS , która jest po prostu średnią odległością pomiędzy beleczkami, liczoną w jednym kierunku (zwykle przyjmuje się kierunek poziomy). W celu wyznaczenia tej wielkości należy policzyć, ile razy

przecinamy beleczkę poruszając się w obrębie obrazu po liniach poziomych. Liczba tych P_e przecięć jest równa liczbie punktów obrazu o następującej konfiguracji:

0	1
---	---

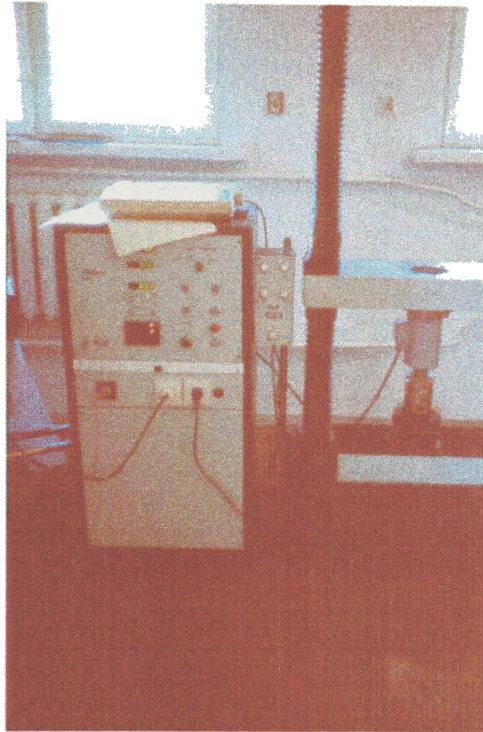
Średnią drogę swobodną można wyrazić za pomocą równania:

$$DS = \frac{P_o}{P_e} \left(\frac{P_o - P_b}{P_o} \right) = \frac{P_o - P_b}{P_e}.$$

Wszystkie omówione powyżej miary są wyrażone w punktach obrazu. Chcąc znać ich rzeczywiste wielkości, wyrażone np. w mm, należy wyskalować obraz, czyli wyznaczyć wartość odpowiadającą jednemu punktowi obrazu. W przypadku niniejszej pracy pojedynczy punkt obrazu odpowiada odległości 8,5 μm .

4.3. Badania wytrzymałościowe

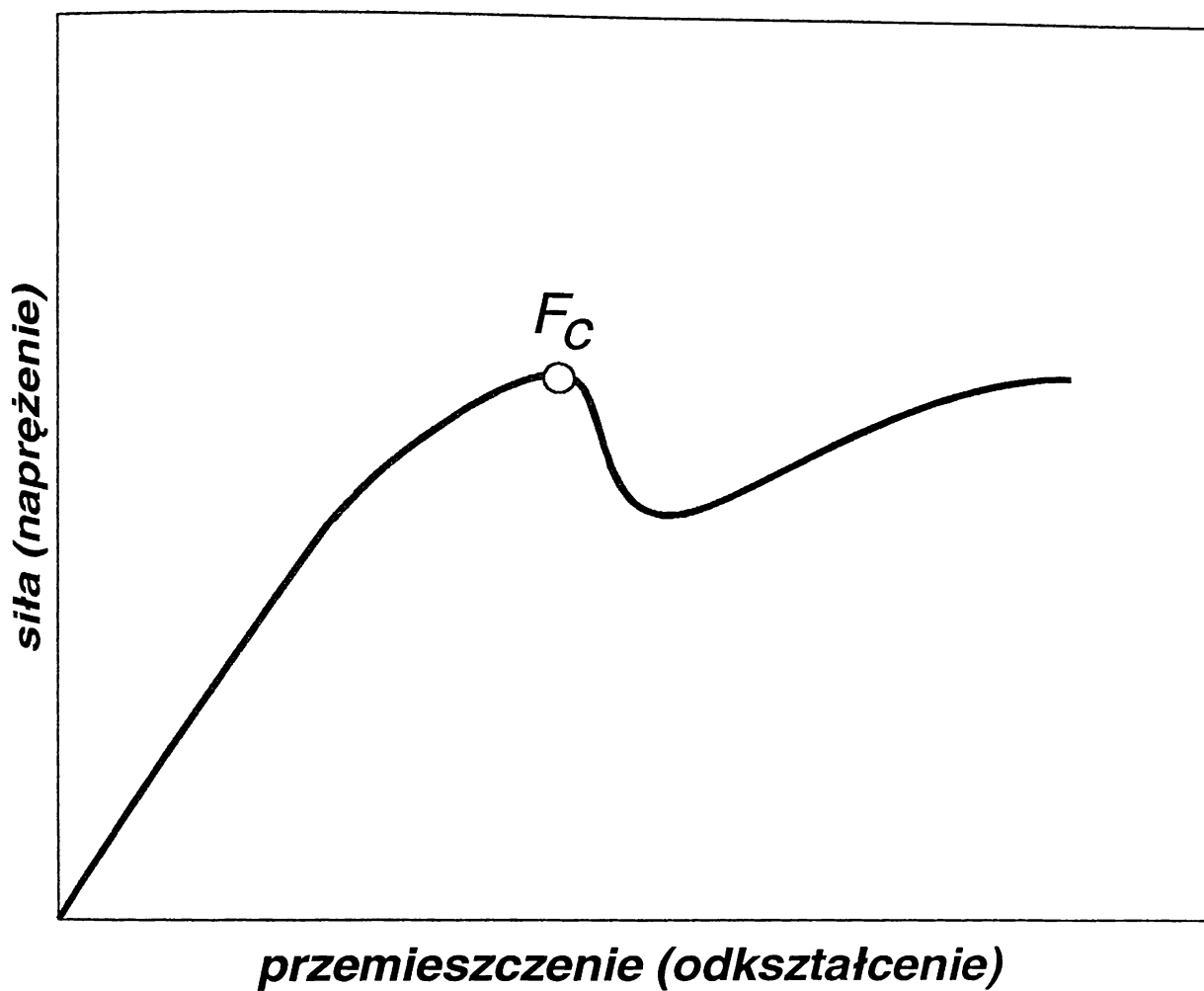
Wytrzymałość mechaniczną trzonów kręgów badano aparatem "Tiratest 2300" (Akademia Górniczo-Hutnicza Kraków).



Ryc. 34. Aparat Tiratest 2300

Trzon poddano siłom ściskającym rejestrując w sposób ciągły wielkość przyłożonych sił oraz stopień wywołanych przez nie odkształceń. Siłę doprowadzającą do złamania trzonu określano jako siłę łamiącą, F_c (ryc.35). Wytrzymałość badanych trzonów kręgów (RC) obliczano jako stosunek siły łamiącej do pola powierzchni kręgu (20,24):

$$RC = \frac{F_c}{S}$$



Ryc. 35. Schemat zmian siły przenoszonej przez kręg w funkcji przemieszczenia.

4.4. Analiza statystyczna

Odpowiednio do rodzaju zebranych danych i celów analizy statystycznej (wynikających bezpośrednio z celów pracy) zastosowano procedury analizy związane z tworzeniem i badaniem zależności jednej zmiennej (tu: mechanicznej wytrzymałości trzonu kręgu - RC) od kilku innych (tu: gęstości mineralnej tkanki kostnej BMD oraz poszczególnych wskaźników histomorfometrycznych, uzyskanych metodą komputerowej analizy obrazu - wymienionych w tabeli 5).

Zgodnie z pierwotnymi zamierzeniami podjęto próbę stworzenia modelu statystycznego, korzystającego z pomierzonych wartości wskaźników histomorfometrycznych i gęstości tkanki kostnej, najlepiej opisującego wytrzymałość tkanki kostnej trzonów kręgowych. Ze względu na duże zróżnicowanie i mnogość badanych parametrów konieczne było zastosowanie specyficznych procedur statystycznych.

W celu sprawdzenia czy wartości badanych parametrów nadają się do zastosowania w testowanych modelach liniowych i log-liniowych (zmiennych logarytmowanych) zastosowano procedurę analizy regresji. (54).

Dzięki zastosowaniu procedury Akaike (AIC – *Akaike Information Criterium*) (*Procedura Akaike to tzw. kryterium informacyjne, które sprawdza zasadność skomplikowania badanego modelu. Mówi ono, czy opisanie danej zmiennej jest lepsze poprzez jedną, dwie, trzy lub więcej zmiennych, gdyż jeśli zmiennych opisujących jest zbyt wiele, to powoduje to nadmierną komplikację modelu i trudności przy próbie powtórzenia i sprawdzenia wyników badania*) ustalono (po przetestowaniu wielu różnych modeli), że najlepiej opisującymi będą modele oparte na dwóch zmiennych (54,134)

Dobieranie zmiennych do modeli oparto najpierw na analizie korelacji między zmiennymi (54,62) (*teoria Jabubczyca dla modelu trzech zmiennych mówi, że dla lepszego określenia badanej zmiennej lepszym jest niskie*

skorelowanie między sobą dwóch pozostałych zmiennych opisujących, bo powoduje to powstawanie modelu pewnego i stabilnego, a nie czułego i stwarza lepsze podparcie dla płaszczyzny badanej zmiennej).

Za nadające się do dalszych analiz uznano modele, których istotność oceniana testem F (*test F, czyli analiza wariancji, sprawdza, czy użycie naszego modelu zamiast policzenia zwykłych średnich jest uzasadnione*) wynosi co najwyżej 0,1, a istotność współczynnika każdej zmiennej, oceniana za pomocą statystyki *t*-Studenta (*klasyczna analiza sprawdzająca, czy poszczególne zmienne mają prawo znaleźć się w modelu*), co najwyżej 0,15. Oszacowania tych istotności (a także współczynnika korelacji, tak zwanej wielorakiej lub wielokrotnej) stanowią standardowe wyniki użytej procedury

5. WYNIKI

Po przeprowadzeniu opisanych uprzednio badań trzonów kręgowych uzyskałem następujące rodzaje danych: densytometryczne, wytrzymałościowe i histomorfometryczne. W badaniach densytometrycznych zmierzyłem wartości gęstości mineralnej tkanki kostnej (BMD) gąbczastej trzonów kręgowych. Wartości te wyniosły od 62 do 164 mg/cm³ średnio 128,5 mg/cm³, a przedstawia je Tab.2.

Tab.2. Wyniki badania gęstości mineralnej tkanki kostnej gąbczastej badanych trzonów kręgowych (BMD)

L.P.	Wiek (lata)	BMD (mg/cm ³)
1	49	62
2	63	130
3	80	161
4	76	104
5	67	121
6	45	154
7	60	77
8	44	136
9	34	147
10	52	117
11	55	125
12	47	119
13	17	133
14	90	150
15	36	156
16	62	164
średnio	55,4	128.5

Na podstawie przeprowadzonych badań wytrzymałościowych i określeniu siły łamiącej oraz dzięki wykorzystaniu zmierzonych w tomografii komputerowej wartości pól powierzchni trzonów kręgowych wyznaczyłem wartość wytrzymałości tychże trzonów kręgowych na zgniatanie (jako stosunek siły łamiącej do pola powierzchni zgodnie z uprzednio przedstawionym wzorem). Pola powierzchni (S) wyniosły od 6,62 do 15,78 cm² (średnio 11,92), wartości siły łamiącej (Fc) wyniosły od 1000 do 7050 N (średnio 4280,08), a wartości wytrzymałości (Rc) wyniosły od 97,8 do 582,3 N/cm² (średnio 354,2). Wyniki te przedstawia Tab. 3.

Tab. 3. Parametry mechaniczne i pole powierzchni badanych trzonów kręgowych.

L.P.	Wiek (lata)	Pole powierzchni S [cm ²]	Siła łamiąca Fc [N]	Wytrzymałość RC [N/cm ²]
1.	49	14,56	4858	333,6
2.	63	13,90	5080	365,4
3.	80	10,22	1000	97,8
4.	76	10,83	3680	339,7
5.	67	9,64	3520	365,1
6.	45	14,37	4200	292,2
7.	60	11,45	1910	166,8
8.	44	15,78	5800	367,5
9.	34	9,18	4870	530,5
10.	52	9,62	2650	275,4
11.	65	12,31	6190	502,8
12.	47	16,83	7050	418,8
13.	17	11,48	6685	582,3
14.	90	6,62	1530	231,1
15.	36	11,58	6150	531,0
16.	62	12,42	3320	267,3
Średnio	55,4	11,92	4280,08	354,2

Dzięki histomorfometrii z użyciem komputerowej analizy obrazu uzyskałem wartości opisanych uprzednio parametrów, charakteryzujących mikrostrukturę tkanki kostnej. Wartości minimalne, maksymalne oraz średnie wszystkich badanych parametrów przedstawia tabela 4. Wartości te są porównywalne z opisywanymi w literaturze (35,36).

Tab. 4. Uzyskane minimalne, maksymalne, i średnie wartości cech badanych kręgów

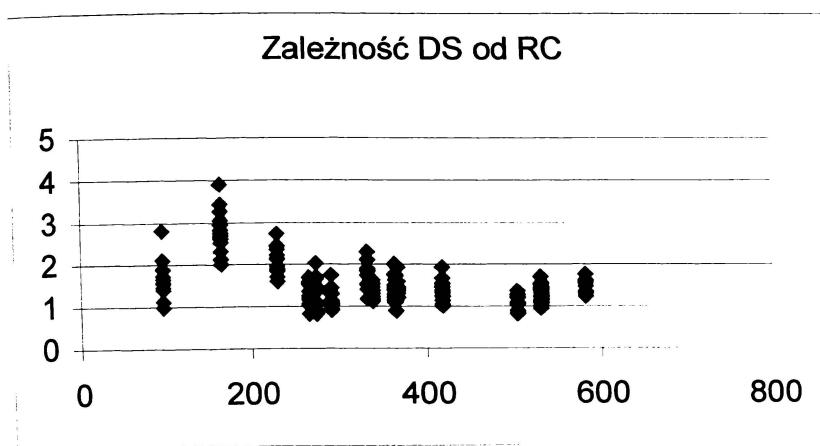
Nazwa parametru	Wartość minimalna	Wartość maksymalna	Wartość średnia
BMD (gęstość mineralna) (g/cm ³)	62	164	128,5
RC (wytrzymałość) (N/cm ²)	97,8	582,3	354,2
LG (Liczba gałęzi) (1/mm ²)	1,87	11,66	5,47
LB (Liczba beleczek) (1/cm ²)	0,47	1,14	0,73
DG (Długość gałęzi) (mm)	0,40	0,54	0,47
OB (Odległość beleczek) (mm)	0,49	0,85	0,65
DS (Droga swobodna) (mm)	1,03	2,79	1,49
ZB (Zawartość beleczek) (1/cm ²)	0,06	0,18	0,12
LW (Liczba węzłów) (1/cm ²)	1,18	6,13	3,45
GB (Grubość beleczek) (mm)	0,0046	0,0284	0,0124
SB (Smukłość beleczek)	20,13	161,11	76,24
LK (Liczba końcówek) (1/mm ²)	1,87	11,66	5,47

Tab. 5 stanowi zestawienie parametrów opisujących wyniki badań, ich symboli oraz definicji.

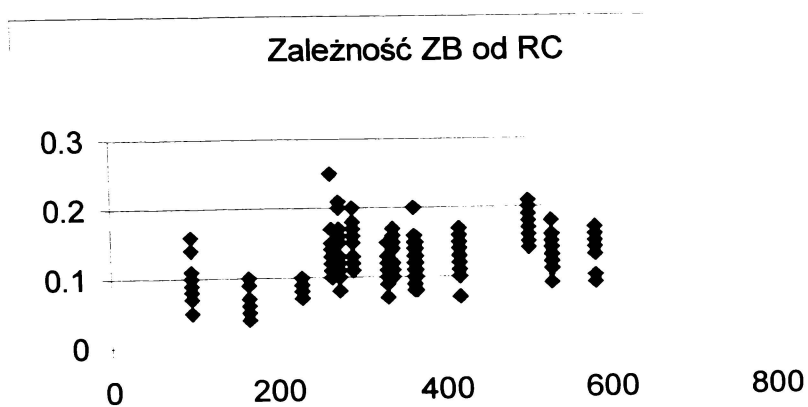
Tab.5. Symbole, nazwy i opisy badanych i analizowanych statystycznie cech
trzonów kręgowych

l.p.	Symbol	Nazwa i opis
1	BMD (mg/ cm ³)	Gęstość mineralna tkanki kostnej
2	RC (N/cm ²)	Wytrzymałość badanego trzonu kręgu – stosunek siły łamiącej do pola przekroju kręgu
3	LG (1/mm ²)	Średnia liczba gałęzi w beleczce kostnej w kości gąbczastej, która odpowiada liczbie końcówek
4	LB (1/cm ²)	Średnia liczba beleczek na 1 mm ² obrazu warstwy gąbczastej
5	DG (mm)	Średnia długość gałęzi w obrazie warstwy gąbczastej
6	OB (mm)	Średnia odległość między beleczkami w obrazie warstwy gąbczastej
7	DS (mm)	Średnia droga swobodna w obrazie warstwy gąbczastej
8	ZB (1/cm ²)	Średnia zawartość beleczek w obrazie warstwy gąbczastej
9	LW (1/cm ²)	Średnia liczba węzłów na 1 mm ² obrazu warstwy gąbczastej
10	GB(mm)	Średnia grubość beleczek w obrazie warstwy gąbczastej
11	SB	Średnia smukłość beleczek (stosunek długości do szerokości) w obrazie warstwy gąbczastej
12	LK (1/mm ²)	Średnia liczba końcówek na 1 mm ² obrazu warstwy gąbczastej (jest równa liczbie gałęzi)

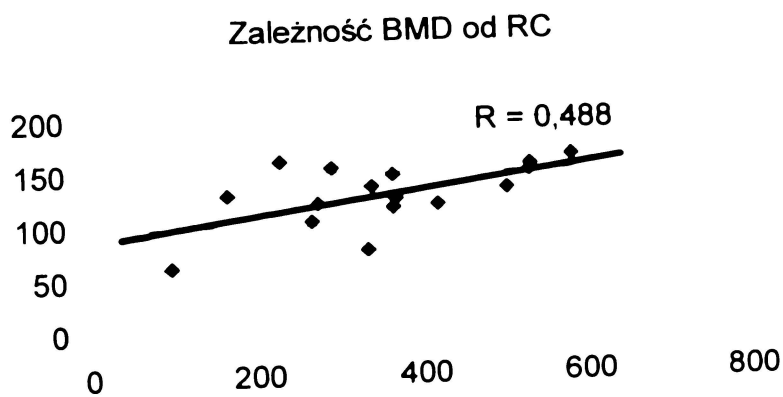
Uzyskane wyniki zostały poddane analizie statystycznej, mającej na celu sprawdzenie, które z badanych cech kręgów najlepiej określają ich wytrzymałość. Proste analizy korelacji liniowych nie przetworzonych danych nie przyniosły odpowiedzi na to pytanie (Wykresy 1, 2).



Wykres 1. Zależność DS od RC



Wykres 2. Zależność ZB od RC



Wykres 3. Zależność BMD od RC

Jedynie analiza zależności BMD (które zawsze ma wartość uśrednioną) od RC pozwoliło na ustalenie pewnej dość znaczącej korelacji. (Wykres 3). W związku z tym przystąpiono do analizy korelacji wartości średnich uzyskanych dla poszczególnych kręgów wyników a przedstawionych w tabeli (Tab.6.)

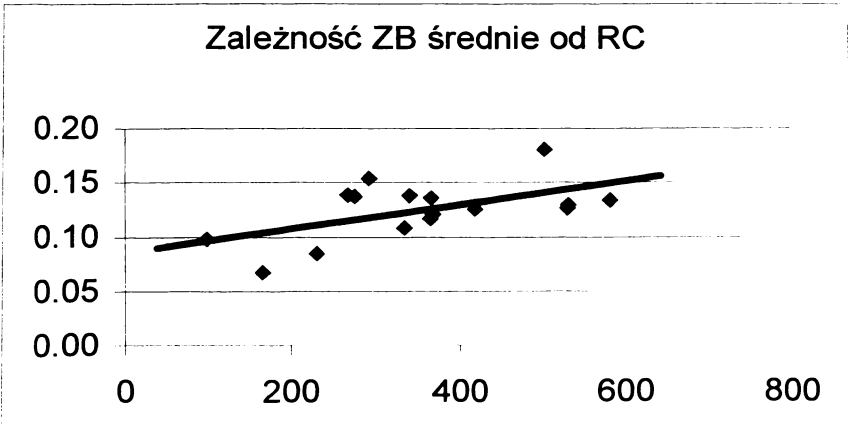
Tab. 6. Wartości wytrzymałości i wartości średnie cech histomorfometrycznych dla poszczególnych kręgów

	RC	LG	LB	DG	OB	DS	ZB	LW	GB	SB
1	97,8	3,82	0,96	0,41	0,54	1,66	0,10	3,63	0,013	42,09
2	166,8	1,87	0,68	0,48	0,66	2,79	0,07	1,19	0,016	43,66
3	231,1	2,62	0,81	0,44	0,59	2,10	0,08	2,17	0,012	38,75
4	267,3	3,53	0,80	0,55	0,61	1,30	0,14	2,65	0,021	38,40
5	275,4	7,74	0,74	0,44	0,62	1,32	0,14	5,16	0,009	96,46
6	292,2	11,66	0,63	0,40	0,75	1,15	0,15	6,13	0,005	161,11
7	333,6	3,86	0,64	0,52	0,68	1,68	0,11	2,27	0,011	59,51
8	339,7	8,71	0,53	0,45	0,75	1,33	0,14	4,20	0,005	132,82
9	365,1	5,24	0,65	0,50	0,66	1,41	0,12	3,05	0,010	78,10
10	365,4	4,79	0,75	0,49	0,64	1,36	0,14	3,28	0,014	55,43
11	367,5	4,61	0,82	0,50	0,62	1,41	0,12	2,88	0,019	73,11
12	418,8	6,85	0,66	0,45	0,70	1,38	0,13	4,07	0,006	111,85
13	502,8	7,28	0,79	0,43	0,62	1,03	0,18	5,41	0,010	54,67
14	530,5	4,56	0,72	0,53	0,65	1,32	0,13	2,87	0,014	60,53
15	531	2,74	1,15	0,46	0,49	1,31	0,13	3,03	0,028	20,14
16	582,3	7,73	0,48	0,52	0,86	1,42	0,13	3,23	0,005	153,26

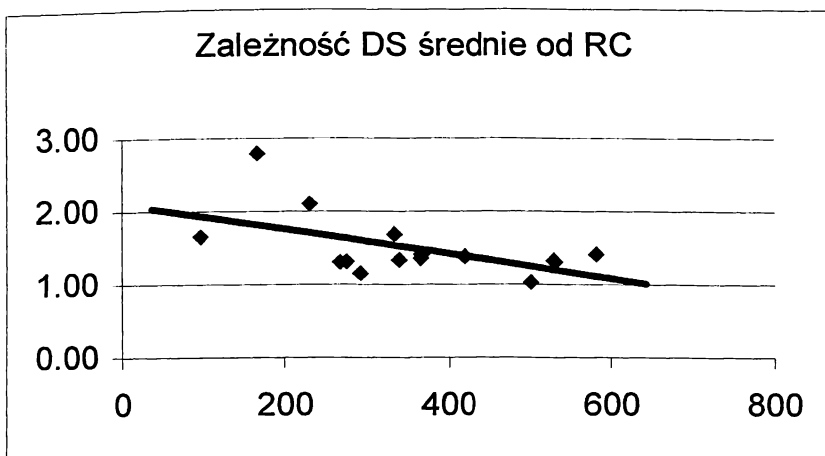
Analiza korelacji między wartościami średnimi cech histomorfometrycznych, a wytrzymałością wykazała, że najpoważniejszą rolę wśród nich w opisanu wytrzymałości trzonów mają zawartość beleczek, droga swobodna i długość gałęzi (Tab. 7.). Przedstawiają to dodatkowo Wykresy 4 i 5.

Tab. 7 . Analiza korelacji między wartościami średnimi cech histomorfometrycznych a wytrzymałością.

	<i>RC</i>
RC	1
ZB	0,558
DS	-0,550
DG	0,328
OB	0,272
LG	0,234
SB	0,219
LW	0,156
LB	-0,111
GB	0,016



Wykres 4. Zależność DS średnie od RC



Wykres 5. Zależność ZB średnie od RC

Już te korelacje mają wyższą wartość od korelacji BMD/RC. Jednak podjęto próbę stworzenia jeszcze dokładniejszych modeli opisującego wytrzymałość tkanki kostnej trzonów, a opartych na zmiennych logarytmowanych.

W celu sprawdzenia czy wartości badanych parametrów nadają się do zastosowania w testowanych modelach liniowych i log-liniowych (zmiennych logarytmowanych) zastosowano procedurę analizy regresji. (54).

Dzięki zastosowaniu procedury Akaike (AIC – *Akaike Information Criterium*) ustalono (po przetestowaniu wielu różnych modeli), że najlepiej opisującymi będą modele oparte na dwóch zmiennych (54,134) (*procedura Akaike to tzw. kryterium informacyjne, które sprawdza zasadność skomplikowania badanego modelu. Mówi ono czy opisanie danej zmiennej jest lepsze poprzez jedna, dwie, trzy czy więcej zmiennych, gdyż jeśli zmiennych opisujących jest zbyt wiele, to powoduje to nadmierną komplikację modelu i trudności przy próbie powtórzenia i sprawdzenia wyników badania*).

Dobieranie zmiennych do modeli oparto najpierw na analizie korelacji między zmiennymi (54,62) (*teoria Jabubczyca dla modelu trzech zmiennych mówi, że dla lepszego określenia zmiennej badanej lepszym jest niskie skorelowanie między sobą dwóch pozostałych zmiennych opisujących, bo*

powoduje to powstawanie modelu pewnego i stabilnego, a nie czułego i stwarza lepsze podparcie dla płaszczyzny badanej zmiennej).

Wytypowano więc zestawy zmiennych wzajemnie słabo skorelowanych ($R < 0,4$ dla serii pomiarów i $R < 0,6$ dla średnich z pomiarów), które z tego punktu widzenia mogą być zastosowane w jednym modelu. Za nadające się do dalszych analiz uznano modele, których istotność oceniana testem F (*test F czyli analiza wariancji sprawdza, czy nasz model jest wart zastosowania bardziej niż policzenie zwykłych średnich*) wynosi co najwyżej 0,1, a istotność współczynnika każdej zmiennej, oceniana za pomocą statystyki *t*-Studenta (*klasyczna analiza sprawdzająca, czy poszczególne zmienne mają prawo znaleźć się w modelu*), co najwyżej 0,15. Oszacowania tych istotności (a także współczynnika korelacji, tak zwanej wielorakiej lub wielokrotnej) stanowią standardowe wyniki użytej procedury.

Ostatecznie na podstawie powyższych kryteriów za najlepsze uznano trzy modele oparte na regresji log-liniowej (współczynniki liczbowe wzorów wynikają z zastosowanych i opisanych uprzednio procedur statystycznych):

$$\text{LN(RC)} = 0,8183 + 7,2548 \text{ DG} + 12,495 \text{ ZB} \quad (1)$$

$$\text{LN(RC)} = 3,8232 + 6,3278 \text{ DG} - 0,6747 \text{ DS} \quad (2)$$

$$\text{LN(RC)} = -0,655 + 11,4786 \text{ DG} + 0,2914 \text{ LW} \quad (3)$$

gdzie:

LN - logarytm naturalny

RC - wytrzymałość badanego trzonu kręgu - stosunek siły łamiącej do pola przekroju kręgu;

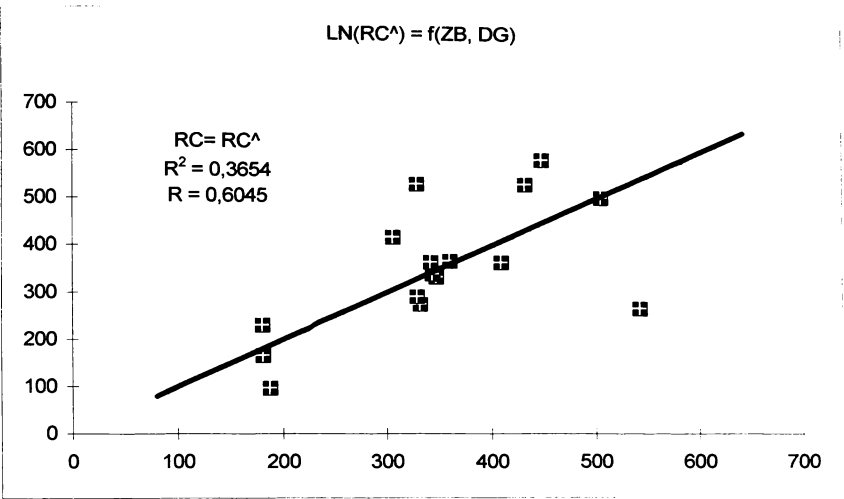
DG - średnia długość belek w obrazie warstwy gąbczastej;

ZB - średnia zawartość belek w obrazie warstwy gąbczastej;

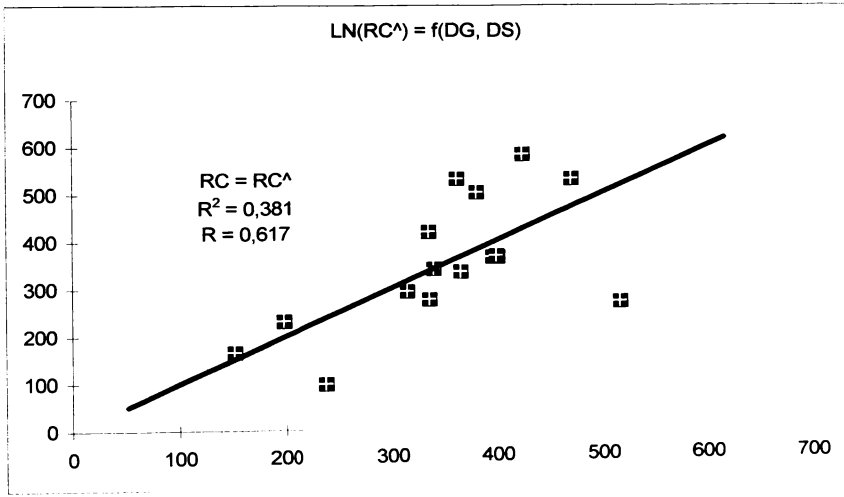
DS - średnia droga swobodna w obrazie warstwy gąbczastej;

LW - średnia liczba węzłów na 1 mm² obrazu warstwy gąbczastej.

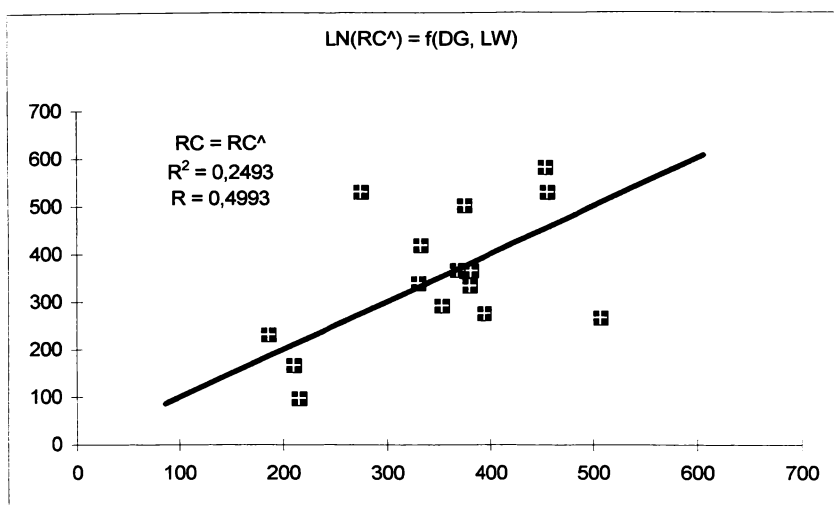
Uzyskane dzięki tym wzorom zależności przedstawiają wykresy 6, 7 i 8.



Wykres 6. Zależność log-liniowa: $LN(RC) = 0,8183 + 7,2548 DG + 12,495 ZB$



Wykres 7. Zależność log-liniowa : $LN(RC) = 3,8232 + 6,3278 DG - 0,6747 DS$.



Wykres 8. Zależność log-liniowa: $LN(RC) = -0,655 + 11,4786 DG + 0,2914 LW$

Zauważono, że we wszystkich badanych modelach, wg wzorów (1), (2) i (3) znaczący i największy wkład w błędy oszacowania wytrzymałości RC wnoszą zawsze te same dwa preparaty, dla których pomierzone wartości RC wynoszą, kolejno, 267,3 oraz 531. Wartości RC tych dwóch preparatów na płaszczyznach $RC - RC^{\wedge}$ układają się w charakterystyczny sposób w stosunku do wartości pozostałych 14 preparatów. Takie punkty można uznać za punkty odstające. W związku z tym odrzucono te dwa preparaty i wyznaczono równania regresji log-liniowej bez ich uwzględnienia:

$$LN(RC) = 0,8183 + 7,2548 DG + 12,495 ZB \quad (4)$$

$$LN(RC) = 3,8232 + 6,3278 DG - 0,6747 DS \quad (5)$$

$$LN(RC) = -0,655 + 11,4786 DG + 0,2914 LW \quad (6)$$

gdzie:

RC - wytrzymałość badanego trzonu kręgu - stosunek siły łamiącej do pola przekroju kręgu;

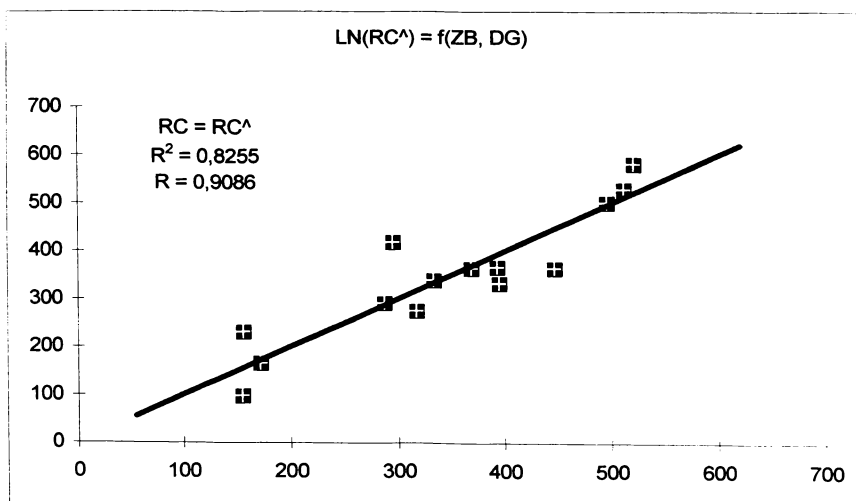
DG - średnia długość beleczek w obrazie warstwy gąbczastej;

ZB - średnia zawartość beleczek w obrazie warstwy gąbczastej;

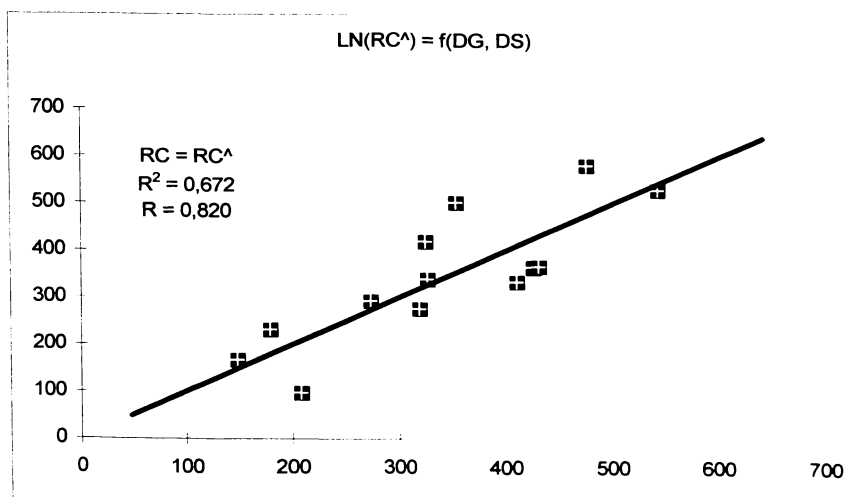
DS - średnia droga swobodna w obrazie warstwy gąbczastej;

LW - średnia liczba węzłów na 1 mm^2 obrazu warstwy gąbczastej.

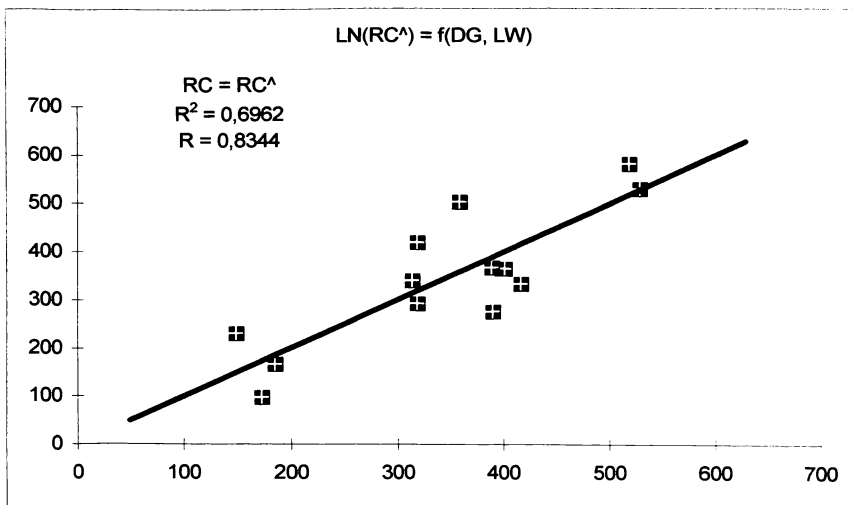
Wykonano wykresy zależności pomierzonej wartości wytrzymałości RC od wartości prognozowanej na podstawie wzorów (4), (5) i (6). Wyznaczono linię trendu liniowego oraz obliczono wartości korelacji (współczynnik R) między pomierzoną i prognozowaną wartością wytrzymałości – wykresy 9,10,11.



Wykres 9. Zależność log-liniowa : $LN(RC) = 0,8183 + 7,2548 DG + 12,495 ZB$ po odrzuceniu punktów odstających.

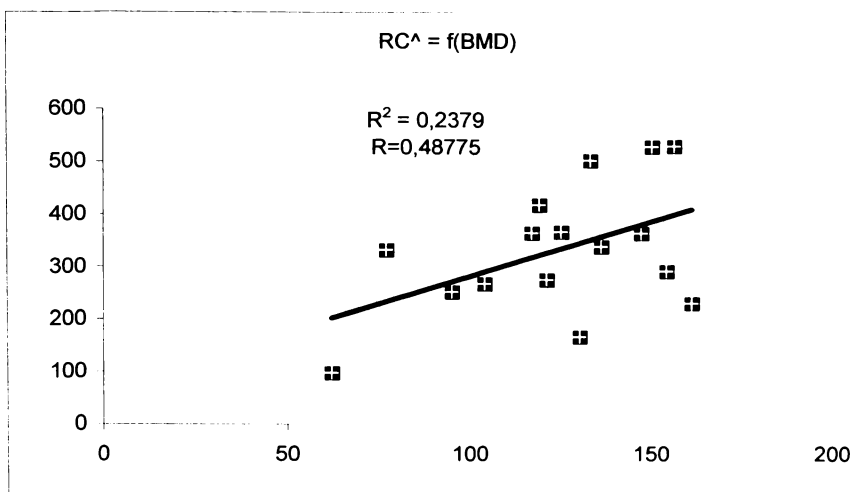


Wykres 10. Zależność log-liniowa: $LN(RC) = 3,8232 + 6,3278 DG - 0,6747 DS$ po odrzuceniu punktów odstających



Wykres 11. Zależność log-liniowa: $LN(RC) = -0,655 + 11,4786 DG + 0,2914 LW$ po odrzuceniu punktów odstających.

Dla porównania poniżej przedstawiono (Wykres 12) zależność BMD/RC.



Wykres 12. Zależność BMD/RC.

Jak widać, wartości współczynników korelacji ustalonych na podstawie danych histomorfometrycznych modeli znacząco przewyższają współczynnik dla korelacji BMD/RC (Tab.8.).

Tab. 8. Porównanie współczynników korelacji.

Badane funkcje określające wytrzymałość tkanki kostnej	Współczynnik korelacji R
$LN(RC) = f(DG, ZB)$	0,9086
$LN(RC) = f(DG, DS)$	0,8200
$LN(RC) = f(DG, LW)$	0,8344
$RC = f(BMD)$	0,48775

6. DYSKUSJA

Uzyskane wyniki pomiarów gęstości mineralnej trzonów kręgowych są porównywalne z uzyskiwanymi przez innych autorów. Ebbesen i Mosekilde (35,36,89) podali wartości BMD dla kręgów lędźwiowych 30-180mg/cm³. Metodą densytometryczną stosowaną i porównywaną w tego typu analizach jest tomografia komputerowa. Wynika to z jej możliwości odrębnej oceny kości korowej i gąbczastej. Ponadto technika DEQCT pozwala na stosunkowo dokładne oznaczenie składników mineralnych kości, niezależnie od ilości tkanki tłuszczowej w jej obrębie (7,43). Ma to znaczenie choćby z tego powodu, że badaniom wytrzymałościowym i densytometrycznym poddałem trzony nie pozbawione szpiku, gdyż traciłyby one wówczas część swych własności mechanicznych co potwierdził w swoich pracach Carter (18). Dzięki tym zaletom tomografii uzyskujemy wartości BMD (g/cm²) w przeliczeniu na jednostki objętości – BMC (Bone Mineral Content – g/cm³) (7). Stąd też mój wybór tej metody dla celów niniejszej pracy.

Dzięki porównaniu metod wytrzymałościowych i densytometrycznych udało się już wcześniej określić przybliżoną wartość BMD kości beleczkowej przy której występuje zwiększone ryzyko złamań (ok. 110 mg/cm³) (7,82,111). Wielu autorów potwierdziło korelację między gęstością mineralną tkanki kostnej a jej podatnością na złamania (14,56,57,82,68,76,110). Badanie BMD zwłaszcza z użyciem DXA stało się standardem światowym w przewidywaniu zagrożenia złamaniem (7,68,111). Ciekawym jest jednak podkreślany przez autorów (zwłaszcza Parfitta) fakt, że informacja o gęstości mineralnej nie zawsze wystarcza do określenia rzeczywistego zagrożenia złamaniem (18,63,64,71,103,104,105), a niejednokrotnie potwierdzono wręcz przeciętną korelację między BMD a wytrzymałością (10,80). Singer i Edmondston (120) stwierdzili nawet $R=0,28$ dla korelacji między wytrzymałością, a gęstością

mineralną próbek tkanki kostnej gąbczastej trzonów kręgow mierzoną ilościową tomografią komputerową. Jednocześnie jednak ci sami autorzy stwierdzili wysoką korelację ($R=0,86$) między wytrzymałością a gęstością mineralną mierzoną metodą DXA. Wątpliwości w tym względzie potwierdzają też doniesienia kliniczne mówiące o tym, że co prawda większość pacjentów z ciężkimi złamaniami osteoporotycznymi kręgosłupa ma obniżoną gęstość kości, ale jednak nie u każdego chorego z niską masą kostną dochodzi do złamań (102). Niektórzy autorzy wysunęli twierdzenie, że masa kostna odpowiada za ok. 65% wytrzymałości kości, zaś gdy dołączymy do oceny badania struktury kości to możliwość określenia wytrzymałości wzrasta do 94% (119). Niektórzy podkreślają także rolę kształtu, wielkości kręgów oraz obecności ich deformacji w prognozowaniu ryzyka złamania (90).

Badania histomorfometryczne przeprowadzone na trzonach kręgowych nie zostały poddane takiej standaryzacji jak badania talerza kości biodrowej, gdyż nie są stosowane rutynowo w działalności klinicznej. Jednak również niektóre ich wartości mogące zostać porównane pokrywają się z podawanymi przez innych autorów (2,83). Badania przeprowadzone w rejonie szkieletu, gdzie potem prowadzone są badania wytrzymałościowe i densytometryczne mają szczególną wartość (2). Charakterystyczne jest także stwierdzenie, że największe znaczenie w określaniu właściwości mechanicznych tkanki kostnej gąbczastej mają niektóre z cech histomorfometrycznych, a zwłaszcza ZB, DS, DG, LW (83). Jest to zgodne z doniesieniami innych autorów, choć niektórzy z nich (87,88) nie znaleźli istotnych w tym względzie korelacji dla LW, ale badania te przeprowadzono na owcach i autorzy przyznają, że są w tym względzie istotne różnice gatunkowe. Duży postęp w analizie histomorfometrycznej stanowi wprowadzenie do niej komputerowej analizy obrazu (20,85,111,117,118).

Uzyskane wartości siły łamiącej i wytrzymałości trzonów kręgowych ($97,8-582,3 \text{ N/cm}^2$, średnio $354,2$) są zgodne z doniesieniami innych autorów

(2,18,55,73,80). Choć znane są pewne ograniczenia w możliwościach badań mechanicznych kręgów, wynikające głównie z komplikacji anatomicznej tej okolicy (obecność licznych więzadeł, krążków międzykręgowych i innych struktur także mogących przenosić obciążenia) (56), to zastosowane przeze mnie testy zgnieciowe są stosowane standardowo i najlepiej sprawdzają wytrzymałość trzonów kręgowych na ten rodzaj sił (73,94). Podobne również jest przygotowanie kręgów do badań (odcięcie elementów tylnych by nie przejmowały części energii zgniatającej, nie pozbawianie trzonów szpiku) (18,80).

Także pola powierzchni badanych kręgów S (Pole Pow. Kręgów – cm^2) miały wielkość mieszczącą się w podawanych przez innych autorów (np. Ebbesen 11,6-14,4 cm^2 , Edmondston 8,12-18,2 cm^2). W moich badaniach wyniosły 6,62-18,16 cm^2 , średnio 12,34 cm^2). Znamiennym jest fakt, że w dostępnym piśmiennictwie stwierdza się iż kręgi męskie są większe od kobiecych. Warto przy tym jednak dodać, że wielkość i kształt kręgu nie korelują istotnie z jego wytrzymałością (37), choć nie podlega dyskusji fakt, że wcześniejsze złamanie osteoporotyczne jednego kręgu zwiększa zagrożenie kolejnymi złamaniami innych kręgów (82,114).

Warto wspomnieć, że wytrzymałość kości gąbczastej trzonu na zgniatanie w pełni koreluje z wytrzymałością całego trzonu na zgniatanie co zauważył McBroom porównując wytrzymałość całych trzonów z pozbawionymi warstwy korowej (80), a potwierdził w swoich badaniach Mosekilde (89,91,93). Natomiast warstwa korowa trzonów kręgowych decyduje o ich wytrzymałości na siły skrętne (45). Pozwala to z dużą dozą pewności przewidywać, że cechy histomorfometryczne tkanki gąbczastej trzonów kręgowych mają decydujące znaczenie w określeniu ich wytrzymałości mechanicznej na zgniatanie.

W wielu pracach podejmowano wcześniej próby porównywania różnych parametrów tkanki kostnej (2,15,25,75,100). Często były to prace porównujące badania histomorfometryczne z talerza kości biodrowej z wytrzymałością

kręgów (31). Początkowo porównania te dotyczyły głównie potrzebie potwierdzenia wartości badań gęstości tkanki kostnej dla określenia wytrzymałości. Potwierdzenie takie niejednokrotnie uzyskano, co wpłynęło na znaczny rozwój metod densytometrycznych (7,68,111). Stopniowo jednak pojawiły się prace zwracające uwagę na nie pełną wydolność metod densytometrycznych w tym względzie i sugerujące wpływ innych niż gęstość mineralna, czynników na wytrzymałość tkanki kostnej (18,22,81,90,105, 119,128).

Przeprowadzone w mojej pracy porównanie wielopoziomowej histomorfometrii i densytometrii z wytrzymałością badanych kości (w tym przypadku trzonów kręgowych) pozwala na pełniejsze zrozumienie tego problemu. Porównanie współczynników korelacji dla niektórych funkcji z zastosowaniem cech histomorfometrycznych i gęstości mineralnej w stosunku do wytrzymałości (Tab.6.) potwierdzają wyrażnie, że określenie rzeczywistej jakości tkanki kostnej i jej wytrzymałości jest pełniejsze poprzez badania jej mikrostruktury. Ten kierunek potwierdzają też próby z zastosowaniem HRMR i HRCT do określania właściwości mechanicznych kości (50,87). Choć istnieją tu wciąż trudności w dostosowaniu rozdzielczości i przetworzeniu wielkości elementów strukturalnych (87,88)

Tkanka kostna pełniąc swą funkcję podporową jest narażona w ciągu życia na działanie dużych i różnorodnych obciążeń mechanicznych. Dotyczy to zwłaszcza trzonów kręgów lędźwiowych, które w wyniku przyjęcia przez człowieka pozycji wyprostnej muszą sprostać działaniu ogromnych często sił ściskających. Umożliwia im to w dużej mierze specyficzna mikrostruktura przestrzenna kości gąbczastej wypełniającej wnętrze kręgu. Bywa ona porównywana u osób młodych do "plastra miodu", a z wiekiem przybiera formę kratownicy (94,105).

Jednak badanie tak specyficznej mikrostruktury jaką spotykamy w obrębie beleczek kości gąbczastej metodami pośrednimi jest szczególnie

utrudnione, gdyż pomiary gęstości nie określają zaburzeń struktury beleczkowej, a jedynie jej zawartość w tkance kostnej. Wracając do porównania mikrostruktury beleczek kostnych z prętami kratownicy przykładem może być pręt, który wchodząc w jej skład nie wspiera się swymi końcami o inne i nie przenosi obciążeń. Widoczna jest jego obecność, która nie wpływa jednak na wytrzymałość struktury. Taka przerwana i nie przenosząca obciążeń beleczka jest z czasem usuwana i dopiero wówczas jest to wykrywalne metodami densytometrycznymi, podczas gdy już wcześniej beleczka ta nie odgrywa roli w kształtowaniu wytrzymałości tkanki kostnej (104,105).

Stosowane dotąd jednopłaszczyznowe dwuwymiarowe pomiary struktury beleczkowej nie określały wytrzymałości tkanki kostnej lepiej niż czyniły to pomiary gęstości kości (83,103,104,105,129). Zastosowane przeze mnie wielopoziomowe badania histomorfometryczne umożliwiają lepszą ocenę ukształtowania mikrostruktury beleczkowej. Uzyskane wyniki pokazują, że pomiary wielopłaszczyznowe umożliwiają nie tylko ocenę zawartości beleczek i ich jakości, ale też pośrednio określają zmiany w ilości połączeń międzybeleczkowych decydujących w dużej mierze o wytrzymałości struktury beleczkowej. Ponadto dzięki temu osiągnięte rezultaty wykazują dobitnie o ile ważniejsza w ocenie wytrzymałości tkanki kostnej jest ocena mikrostrukturalna i potwierdzają sugestie innych autorów w tym względzie (50,70,105). Nie podważalna jest oczywiście wartość badań densytometrycznych na jaką wskazuje uzyskana korelacja między BMD i RC. Ich zastosowanie jednak znajduje pewne ograniczenia i nie pozwala na w pełni precyzyjną diagnostykę tkanki kostnej zwłaszcza w celu określenia jej jakości i podatności na złamanie. Wskazuje to na potrzebę rozszerzania metod diagnostycznych, zwłaszcza nieinwazyjnych i możliwych do stosowania *in vivo*, struktury beleczkowej co potwierdzają m.in. Mitton i Genant (19,50,87,88)

7. WNIOSKI

1. Stwierdzono, że gęstość mineralna tkanki kostnej gąbczastej trzonów kręgowych koreluje przeciętnie ($R=0,488$) z wytrzymałością trzonów kręgowych na zgniatanie.
2. Niektóre parametry histomorfometryczne tkanki kostnej gąbczastej trzonów kręgowych (długość gałęzi, zawartość beleczek, droga swobodna) silnie korelują ($R=0,83-0,90$), inne zaś (liczba beleczek i grubość beleczek) korelują słabo z wytrzymałością trzonów kręgowych na zgniatanie.
3. Mikrostruktura tkanki kostnej gąbczastej ma zasadniczy wpływ na jej własności mechaniczne.

8. PIŚMIENNICTWO

1. Alho A: Mineral and mechanics of bone fragility fractures. *Acta Orthop. Scan.*, 1993, 64, 227-232.
2. Amling M., Posl M., Ritzel H., Hahn M., Vogel M., Wening V. J., Delling G.: Architecture and distribution of cancellous bone yield vertebral fracture clues. A histomorphometric analysis of the complete spinal column from 40 autopsy specimens. *Arch Orthop Trauma Surg* 1996, 115 (5), 262- 269.
3. Andresen R., Radmer S, Hakim S., Banzer D.: The current state of osteoporosis diagnostics using spinal QS. *World Congress on Osteoporosis. Amsterdam* 1996.
4. Andresen R., Radmer S., Banzer D.: Bone mineral density and spongiosa architecture in correlation to vertebral body insufficiency fractures. *Acta Radiol* 1998 Sep., 39 (5), 538- 542.
5. Andresen R., Werner H. J., Schober H.C.: Contribution of the cortical shell of vertebrae to mechanical behaviour of the lumbar vertebrae with implications for predicting fracture risk. *Br J Radiol*, 1998 Jul., 71 (847), 759-765.
6. Aoyagi K., i in. : Calcaneus bone mineral density is lower among men and women with lower physical performance. *Calcif. Tissue Int.* 2000, 67, 106-110.
7. Badurski J., Sawicki A., Boczoń S. : Osteoporoza. Osteoprint, Białystok, 1994.
8. Barnett E., Nordin B.E.C.: The radiological diagnosis of osteoporosis - a new approach. *Clin.Radiol.* 1960, 11, 166-172.
9. Będziński R. : Biomechanika inżynierska. Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 1997.
10. Bjarnason K., Hassager C., Svendsen O.L., i wsp.: Anteroposterior and lateral spinal DXA for the assessment of vertebral body strength: comparison with hip and forearm measurement. *Osteoporosis Int.*, 1996, 6, 37-42.

11. Black J.: Orthopaedic biomaterials in resaerch and practice. Churchill Livingstone. New York, Edinburgh, London, Melbourne 1988.
12. Borejko M., Dziak A.: Badanie radiologiczne w ortopedii. PZWL, Warszawa 1988.
13. Brinckmann P., Biggemann M., Hilweg D.: Prediction of the compressive strenght of human lumbar vertebrae. Spine 1989 Jun., 14 (6), 606- 610.
14. Briney W.G.: Is measurement of bone density useful? Rheumatic Disease Clinics of North America, Feb. 1993, 19(1), 95-106.
15. Bryce R., Aspden R. M., Wytch R.: Stiffening effects of cortical bone on vertebral cancellous bone in situ. Spine 1995 May 1, 20 (9), 999- 1003.
16. Burr D.B., Martin R.B. :Mechanisms of bone adaptation to the mechanical enviroment. Triangle,1992, 31, 59-65.
17. Cameron J.R., Mazess R.B., Sorenson J.A.: Precision and accuracy of bone mineral determination by the direct photon absorptiometric method. Invest.Radiol., 1968, 3, 141-150.
18. Carter D.R., Spengler D.M.: Mechanical properties and composition of cortical bone. Clin. Orthop., 1978, 135, 192-217.
19. Cendre E., Mitton D., Roux J.- P., Arlot M. E., Duboeuf F., Burt- Pichat B., Rumelhart C., Peix G., Meunier P. J.: High- resolution computed tomography for architectural characterization of human lumbar cancellous bone: relationships with histomorphometry and biomechanics. Osteoporosis International 1999, 10, 353- 360.
20. Chappard D., Legrand E., Baslé M. F., Audran M. : Measuring trabecular bone architecture by image analysis of histological sections. European Microscopy and Analysis 1997 Nov., 13-15.
21. Cichocki T., Litwin J.A., Mirecka J.: Kompendium Histologii. Collegium Medicum UJ, Kraków 1996.
22. Claes L. E., Wilke H. J., Kiefer H.: Osteonal structure better predicts tensile strenght of healin bone than volume fraction. J Biomech 1995 Nov, 28 (11), 1377- 1390.

23. Cooper C., Barrett- Connor E.: Epidemiology of osteoporosis. *Osteoporosis* 1996, 75-77.
24. Cortet B., Colin D., Dubois P., Delcambre B., Marchandise X.: Methods for quantitative analysis of trabecular bone structure. *Rev Rhum Engl Ed.* 1995 Dec., 62 (11), 781- 793.
25. Croucher P. I., Garrahan N. J., Compston J. E.: Assesment of cancellous bone structure: comparision of strut analysis, trabecular bone pattern factor, and marrow space star volume. *J Bone Miner Res* 1996 Jul., 11 (7), 955-961.
26. Czerwiński E.: Ilościowa ocena zmian występujących pod wpływem fluoru w kości korowej i gąbczastej oraz ich znaczenie diagnostyczne. Rozprawa habilitacyjna. Collegium Medicum UJ, Kraków 1994.
27. Czerwiński E.: Diagnostyka radiologiczna i densytometryczna osteoporozy. *Przegl. Lek.*, 1997, 4, 220-225.
28. Czerwiński E., Pawlik W., Wójcik B., Bieda E.: Złamania kręgosłupa w osteoporozie. IX Sympozjum PTO i PFO, Streszczenia Prac, Kraków, październik 1997.
29. Delmas P.D.: Treatment of osteoporosis – state of art. X Sympozjum PTO i PFO, Streszczenia Prac, Kraków, wrzesień 1999.
30. Delmas P.D.: How to asses the risk of fractures in postmenopausal women. X Sympozjum PTO i PFO, Streszczenia Prac, Kraków, wrzesień 1999.
31. Dempster D. W., Ferguson- Pell M. W., Mellish R. W., Cochran G. V., Xie F., Fey C., Horbert W., Parisien M., Lindsay R.: Relationships between bone structure in the iliac crest and bone structure and strenght in the lumbar spine. *Osteoporosis International* 1993 March, 3 (2), 90- 96.
32. Dempster D.W. : Bone remodeling. Disorders of bone and mineral metabolism. Raven Press, New York, 1992.
33. Dickenson R.P., Hutton W.C., Scott J.R.R. :The mechanical properties of bone in osteoporosis. *J.Bone Joint Surg.*, 1981, 63-B, 233.
34. Dziak A.: Bóle krzyża. PZWL Warszawa 1990.

35. Ebbesen E. N., Thomasen J. S., Beck- Nielsen H., Nepper- Rasmussen H. J., Mosekilde L.: Age- and gender- related differences in vertebral bone mass, density, and strenght. *J Bone Miner Res* 1999 Aug., 14 (8), 1394-1403.
36. Ebbesen E. N., Thomsen J. S., Beck- Nielsen H., Nepper- Rasmussen H. J., Mosekilde L.: Vertebral bone density evaluated by dual- energy X- ray absorptiometry and quantitative computed tomography in vitro. *Bone* 1998 Sep., 23 (3), 283- 290.
37. Edmondson S.J., Singer K.P., Day R.E., Price R.I., Breidahl P.D.: Ex vivo Estimation of Thoracolumbar Vertebral Body Compressive Strength: The Relative Contributions of Bone Densitometry and Vertebral Morfometry. *Osteoporosis Int.*, 1997, 7, 142-148.
38. Einhorn T.A.: Biomechanics in metabolic bone disease. *Bone Integrity, Bone Quality and bone density: Towards a relationship Consensus*. Sintra, Portugal, 1998.
39. Engelke K., Song S. M., Gluer C. C., Genant H. K.: A digital model of trabecular bone. *J Bone Miner Res* 1996 Apr., 11 (4), 480- 489.
40. Eriksson S. A., Isberg B. O., Lindgren J. U.: Prediction of vertebral strenght by dual photon absorptiometry and quantitative computed tomography. *Calcif Tissue Int* 1989 Apr., 44 (4), 243- 250.
41. Eriksson S., Isberg B., Lindgren U.: Vertebral bone mineral measurement using dual photon absorpiometry and computed tomography. *Acta Radiol* 1988 Jan.- Feb., 29 (1), 89- 94.
42. Eysel P., Schwitalle M., Oberstein A., Rompe J. D., Hopf C., Kullmer K.: Preoperative estimation of srew fixation strenght in vertebral bodies. *Spine* 1998 Jan. 15, 23 (2), 174- 180.
43. 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.
44. Favus M.J. i wsp.: Primer on metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. American Society for Bone and Mineral Research. Society Office, Kelseyville, California, 1990.

45. Fayrie D.P., Vashishit D.: Bone stiffness predicts strength similiary for human vertebral cancellous bone in compression and for cortical bone in tension. *Bone*, 26 (2), Feb.2000, 169-173.
46. Flynn M. J., Cody D. D.: The assesment of vertebral bone macroarchitecture with X- ray computed tomography. *Calcif Tissue Int* 1993, 53 Suppl. 1, 170- 175.
47. Galus K., Jaworski Z.: Choroby metaboliczne kości. PZWL, Warszawa,1982.
48. Genant H. K. (Chairman), Cooper C. (Rapporteur), Poor G. (Rapporteur), Reid I. (Rapporteur), Ehrlich G. (Editor), Kanis J. (Editor), Nordin B. E. Ch. (Editor), Barrett- Connor E., Blacj D., Bonjour J.- P., Dawson- Hughes B., Delmas P. D., Dequeker J., Ragi Eis S., Gennari C., Johnell O., Johnston Jr. C. C., Lau E. M. C., Liberman U. A., Lindsay R., Martin T. J., Masri B., Mautalen C. A., Meunier P. J., Miller P. D., Mithal A., Morii H., Papapoulos S., Woolf A., Yu W., Khaltsev N.: Interim report and recommendations of the World Health Organization task- force for Osteoporosis. *Osteoporosis International* 1999, 10, 259- 264.
49. Genant H.K., Cann C.E., Pozzi-Mucelli R.S., Kanter A.S.: Vertebral mineral determination by quantitative CT: clinical visability and normative data. *J.Comput.Assist.Tomogr.* 1983, 7, 554.
50. Genant H.K., Gordon Ch., Jiang Y. I wsp.: Advanced imaging of bone macro and microstructure. X Sympozjum PTOiPFO, Streszczenia Prac, Kraków, wrzesień 1999.
51. Geusens P., Dequeker J.: Osteoporose. *Fol.Rheumatol.*, Ciba-GeigyAG, 1989.
52. Gluer C.C.: Quantitative ultrasound asesment of osteoporosis. X Sympozjum PTO i PFO, Streszczenia Prac, Kraków, wrzesień 1999.
53. Gordon C. L., Lang T. F., Augat P., Genant H. K.: Image- based assessment of spinal trabecular bone structure from high- resolution CT images. *Osteoporosis International* 1998, 8 (4), 317- 325.
54. Górkiewicz M.: Statystyczna analiza danych za pomocą excel dla windows. Oficyna Cracovia, Kraków 1997.

55. Haidekker M. A., Andresen R. Werner H. J.: Relationship between structural parameters, bone mineral density and fracture load in lumbar vertebrae, based on high- resolution computed tomography, quantitative computed tomography and compression tests. *Osteoporosis International* 1999, 9, 433- 440.
56. Hansson T. H., Keller T. S., Panjabi M. M.: A study of the compressive properties of lumbar vertebral trabeculae: effects of tissue characteristics. *Spine* 1987 Jan.- Feb., 12 (1), 56- 62.
57. Hansson T., Roos B., Nachemson A.: The bone mineral content and ultimate compressive strenght of lumbar vertebrae. *Spine* 1980 Jan.- Feb., 5 (1), 46- 55.
58. Hauge E., Mosekilde L., Meisen F.: Missing observations in bone histomorphometry on osteoporosis: implications and suggestions for an approach. *Bone* 1999 Oct., 25 (4), 389- 395.
59. Hirano T., Hasegawa K., Washio T., Hara T., Takahashi H.: Fracture Risk during pedicle screw insertion in osteoporotic spine. *J Spinal Disord* 1998 Dec., 11 (6). 493- 497.
60. Hoszowski K., Gawron J., Korczyk P. i in.: Analiza czynników ryzyka i częstości występowania osteoporozy kręgosłupa w próbie populacyjnej mieszkańców Warszawy powyżej 50 roku życia. *Pol. Tyg. Lek.*, 1993, 48 supl., 31- 35.
61. Ito M.; Hayashi K., Yamada M.; Uetani M., Nakamura T.: Relationship of osteophytes to bone mineral density and spinal fracture in men. *Radiology* 1993, 189, 2, 497-502.
62. Jakubczyc J.: Współliniowość statystyczna. PWE. Warszawa 1987.
63. Jensen K. S., Mosekilde L., Mosekilde L.: A model of vertebral trabecular bone architecture and its mechanical properties. *Bone* 1990, 11 (6), 417- 423.
64. Jensen J-E.B., Stang H., Kringsholm B., Sorensen O.H.: Mineral density alone does not predict the strength of trabecular bone. *World Congress on Osteoporosis*. Amsterdam 1996.
65. Jędrzejewski J.: Epidemiologia złamań u kobiet leczonych w Oddziale Ortopedyczno-Urazowym Wojewódzkiego Szpitala Zespolonego im.

- M. Kopernika w Łodzi w latach 1990-1991. Post. Osteoartrol., 1993, 5, 106-110.
66. Kanis J. A., Johnell O., Oden A., Johnsson B., De Laet C., Dawson A.: Risk of hip Fracture according to the World Health Organization criteria for osteopenia and osteoporosis. Bone, 2000 Nov., 27 (5), 585- 590.
 67. Kanis J.A.: The epidemiology of hip fracture in Europe. The MEDOS study. Rev. Clin. Esp., 1991, 188, 12-14.
 68. Kanis J.A.: Clinical use of bone mineral density and other risk factors. X Sympozjum PTOiPFO, Streszczenia Prac, Kraków, wrzesień 1999.
 69. Kaplan F. S., Scherl J. D., Wisneski R., Cheatle M., Haddad J. G.: The cluster phenomenon in patients who have multiple vertebral compression fractures. Clin Orthop 1993 Dec., (297), 161- 167.
 70. Kinney J.H., Lane N.E., Haupt D.L.: In vivo, Three-Dimensional Mikroskopy of Trabecular Bone. J.Bone Miner.Res.,1995, 10(2), 264-267.
 71. Kleerekoper M., Villanueva A. R., Stanciu J., Rao D. S., Parfitt A. M.: The role of three- dimensional trabecular microstructure in the pathogenesis of vertebral compression fractures. Calcif Tissue Int 1985 Dec., 37 (6), 594-597.
 72. Kobayashi M., Akiyama Y., Tomiuga T., Hara K., Nakamura T.: Automatic determination for bone morphometry using a computed analyzer. Nippon Seikeigeka Zasshi 1995 Nov., 69 (11), 1170- 1181.
 73. Konermann W., Stubbe F., Link Th., Meier N.: Axiale Bruchfestigkeit von thoracolumbalen Wirbelkörpern – eine experimentelle biomechanische Studie. Z.Orthop. 137, 199, 223-231.
 74. Kurzydowski KJ, Ralph B.: The qunatitative description of the microstructure of materials. Boca Raton, CRC Press 1995.
 75. Ladd A. J., Kinney J. H., Haupt D. L., Goldstein S. A.: Finite- element modeling of trabecular bone: comparism with mechanical testing and determination of tissue modulus. J Orthop Res 1998 Sep., 16 (5), 622- 628.
 76. Lang S. M., Moyle D. D., Berg E. W., Detorie N., Gilpin A. T., Pappas N. J. Jr, Reynolds J. C., Tkacik M., Waldron R. L. 2d: Correlation of mechanical properties of vertebral trabecular bone with equivalent mineral

- density as measured by computed tomography. J Bone Surg [Am] 1988 Dec., 70 (10), 1531- 1538.
77. Lang T. F., Li J., Harris S. T., Genant H. K.: Assesment of vertebral bone mineral density using volumetric quantitative CT. J Comput Tomogr 1999 Jan.- Feb. 23 (1), 130- 137.
 78. Lindsay R., Cosman F.: Primary osteoporosis. Disorders of bone and mineral metabolism. Raven Press, New York, 1992.
 79. Lyritis G.P.: Osteoporotic fractures ,a major health problem in the 1990s. Rev. Clin. Esp., 1991, 188, 1-5.
 80. McBroom R.J., Hayes W.C., Edwards W.T., Goldberg R.P., White A.A.: Prediction of vertebral body compressive fracture using quantitative computed tomography. J.Bone Joint Surg., 1985, 67-A, 1206-1214.
 81. McCalden R. W., McGeough J. A., Court- Brown C. M.: Age- related changes in the compressive strenght of cancellous bone. The relative importance of changes in density and trabecular architecture. J Bone Surg [Am] 1997 Mar., 79 (3), 421- 427.
 82. Melton J.L.III, Atkinson E.J., O'Fallon W.M.: Long-term fracture prediction by bone mineral assessed at different skeletal sites. J Bone Miner.Res., 1993, 8(10), 1227-1232.
 83. Mellish R.W.E., Fergusson-Pell M.W., Cochran G.V.B. i wsp.: JBone Miner.Res., 1991, 6, 689-694.
 84. Meunier P. J., Chavassieux P.: Histomorphometry. Method for evaluating the bone mass. Rev Rhum Mal Osteoartic 1985 Dec., 52 (12), 669- 673.
 85. Meunier P. J.: Bone histomorfometry. Osteoporosis: etiology, diagnosis and menagement. Second edition. Lippincott-Raven, Philadelphia 1995.
 86. Miazgowski T., Napierała K., Czekalski S., Krzyształowski A., Ogonowski J.: Częstość występowania i czynniki ryzyka osteoporozy w próbce populacyjnej mieszkańców Szczecina powyżej 50 roku życia. Pol. Tyg. Lek., 1993, 48 supl., 13-15.
 87. Mitton D., Cendre E., Roux J.- P., Arlot M. E., Peix G., Rumelhart C., Babot D., Meunier P. J.: Mechanical properties of ewe vertebral cancellous

- bone compared with histomorphometry and high- resolution computed tomography parameters. *Bone* 1998 Jun., 22 (6), 651- 658.
88. Mitton D., Rumelhart C., Hans D., Meunier P. J.: The effects of density and test conditions on measured compression and shear strenght of cancellous bone from the lumbar vertebrae of ewes. *Med. Eng Phys* 1997 Jul., 19 (5), 464- 474.
 89. Mosekilde L., Bentzen S. M., Ortoft G., Jorgensen J.: The predictive value of quantitative computed tomography for vertebral body compressive strenght and ash density. *Bone* 1989, 10 (6), 465- 470.
 90. Mosekilde L., Mosekilde L.: Sex differences in age- related changes in vertebral body size, density and biomechanical competence in normal individuals. *Bone* 1990, 11 (2), 67- 73.
 91. Mosekilde L., Viidik A., Mosekilde L.: Correlation between the compressive strenght of iliac and vertebral trabecular bone in normal individuals. *Bone* 1985, 6 (5), 291- 295.
 92. Mosekilde L.: The effect of modeling and remodeling on human vertebral body architecture. *Technol Health Care* 1998 Dec., 6 (5- 6), 287- 297.
 93. Mosekilde L.: Vertebral structure and strenght in vivo and in vitro. *Calcif Tissue Int* 1993, 53 Suppl., 121- 125; diss.125- 126.
 94. Mow V.C., Hayes W.C.: *Basic orthopaedics biomechanics*. Raven Press, New York, 1991.
 95. Mundy G.R.: *Bone remodeling and its disorders*. Martin Dunitz Ltd, London, 1995.
 96. Muller R., Van Campenhout H., Van Damme B., Van Der Perre G., Dequeker J., Hildebrand T., Ruegsegger P.: Morphometric analysis of human bone biopsies: a quantitative structural comparision of histological sections and micro- computed tomography. *Bone* 1998 Jul., 23 (1), 59- 66.
 97. Myers E. R., Wilson S. E.: Biomechanics of osteoporosis and vertebral fracture. *Spine* 1997, Dec. 15, 22 (24 Suppl), 25- 31.
 98. Odgaard A.: Three- dimensional quantification of cancellous bone strucure. *Imaging Techniques in Biomaterials. Digital Image Processing Applied to Orthopaedic and Dental Implants*, INEB,181- 188.

99. Ogiela M.: Wykorzystanie metod rozpoznawania obrazów w diagnostyce radiologicznej wybranych chorób trzustki.– Rozprawa doktorska. 1996, AGH Kraków.
100. Ortoft G., Mosekilde L., Hasling C., Mosekilde L.: Estimation of vertebral body strenght by dual photon absorptiometry in elderly individuals: comparision between measurements of total vertebral and vertebral body bone mineral. *Bone* 1993 Jul.- Aug., 14 (4), 667- 673.
101. Ostlere S.J., Gold R.H. : Osteoporosis and bone density measurement methods. *Clin. Orthop.*, 1991, 271, 149.
102. Ott S. M.: When bone mass fails to predict bone failure. *Calcif Tissue Int* 1993, 53 Suppl. 1, 7- 13.
103. Parfitt A. M.: Bone age, mineral density, and fatigue damage. *Calcif Tissue Int* 1993, 53 Suppl. 1, 82- 85; discussion 85- 86.
104. Parfitt A. M.: Implications of architecture for the pathogenesis and prevention of vertebral fracture. *Bone* 1992, 13 Suppl 2, 41- 47.
105. Parfitt A.M. : The two-stage concept of bone loss revisited. *Triangle*, 1992, 31, 99-110.
106. Parfitt A.M. i wsp.: Bone histomorfometry : standarisaton of nomenclature, symbols and units. *J.Bone Mineral Res.*, 1987, 2, 595-610.
107. Pawlicki R.: Podstawy histologii. Collegium Medicum UJ. Kraków 1996.
108. Reeve J., Felsenberg D., Lunt M., i wsp.: The EPOS vertebral fracture incidence study : descriptive results. X Sympozjum PTO i PFO, Streszczenia Prac, Kraków, wrzesień 1999.
109. Reid IR, Evans MC, Ames R. Wattie DJ. The influence of osteophytes and aortic calcification on spine mineral density in postmenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 1991;72:1372-4.
110. Revilla M., Cardenas J. L., Hernandez E. R., Villa L. F., Rico H.: Corralation of total- body mineral content determined by dual- energy X-ray absorptiometry with bone mineral density determined by peripheral quantitative computed tomography. *Acta Radiol* 1995 Dec. 2 (12), 1062-1066.

111. Riggs B.L., Melton L.J.III : Osteoporosis. Lippincott-Raven, Philadelphia, 1995.
112. Ring F.J., Elvis D.M.: The clinical use of total body densitometry. X Sympozjum PTO i PFO, Streszczenia Prac, Kraków, wrzesień 1999.
113. Ring F.J.: Errors and artefacts dual X-ray absorptiometry.(DXA). IX Sympozjum PTO i PFO, Streszczenia Prac, Kraków, październik 1997.
114. Ross P., Huang C., Davis J., i wsp.: Predicting vertebral deformity using bone densitometry at various skeletal sites and calcaneus ultrasound. Bone 1995, 16(30), 325-332.
115. Ryś J.: Stereologia materiałów. Fotobit design. Kraków 1995.
116. Sawicki A. Polowiec Z., Małydk E.: Ocena histomorfometryczna prawidłowej kości talerza kości biodrowej. Pol.Tyg.Lek., 1987, XLII(5), 121-123.
117. Schnitzler C. M.: Bone quality: a determinant for certain risk factors for bone fragility. Calcif Tissue Int 1993, 53 Suppl.1, 27- 31.
118. Siemienieć A., Skorupa A.: Ćwiczenia laboratoryjne z wytrzymałości materiałów. Wydawnictwo AGH, Kraków, 1987.
119. Siffert R. S., Luo G. M., Cowin S. C., Kaufman J. J.: Dynamic relationships of trabecular bone density, architecture, and strenght in a computational of osteopenia. Bone 1996 Feb., 18 (2), 197- 206.
120. Singer K., Edmondston S., Day R., Breidahl P., Price R.: Prediction of thoracic and lumbar vertebral body compressive strenght: correlations with bone mineral density and vertebral region. Bone 1995 Aug., 17 (2), 167-174.
121. Singh M., Nagraath A.R., Maini S.: Changes in trabecular pattern of the upper end of the femur as an index of osteoporosis. J.Bone Joint Surg., 1970, 52A, 457-467.
122. Smit T. H., Odgaard A., Schneider E.: Structure and function of vertebral trabecular bone. Spine 1997 Dec 15, 22 (24), 2823- 2833.

123. Swartz D. E., Wittenberg R. H., Shea M., White A. A.3d, Hayes W. C.: Physical and mechanical properties of calf lumbosacral trabecular bone. *J Biomech* 1991, 24 (11), 1059- 1068.
124. Sznajd J.: *Biochemia kliniczna w praktyce lekarskiej*. PZWL, Warszawa 1983.
125. Szydlowski L.: Ocena echokardiograficzna konfiguracji komór w wadach wrodzonych serca okresu wczesnonoworodkowego.- Rozprawa habilitacyjna. Collegium Medicum UJ 1999.
126. Tatoń G. i wsp.: Ilościowa ocena wybranych metod densytometrycznych. *Post.Osteoartrologii*, 1998, 10, 24-37.
127. Vashisht D. i wsp.: In vivo diffuse damage in human vertebral trabecular bone. *Bone*, 26(2), Feb. 2000, 147-152.
128. Vega E., Ghiringhelli G., Mautalen C., Rey Valzacchi G., Scaglia H., Zylberstein C.: Bone mineral density and bone size in men with primary osteoporosis and vertebral fractures. *Calcif Tissue Int* 1998 May, 62 (5), 465- 469.
129. Vesterby A., Mosekilde L., Gundersen H. J., Melsen F., Mosekilde L., Holme K., Sorensen S.: Biologically meaningful determinants of the in vitro strenght of lumbar vertebrae. *Bone* 1991, 12 (3), 219- 224.
130. Vogel M., Hahn M., Delling G.: Relation between 2- and 3- dimensional architecture of trabecular bone in the human spine. *Bone* 1993 May- Jun., 14 (3), 199- 203.
131. Weinstein R. S., Majumdar S.: Fractal geometry and vertebral compression fractures. *J Bone Miner Res* 1994 Nov., 9 (11), 1797- 1802.
132. Wojnar L., Majorek M.: *Komputerowa analiza obrazu. Fotobit-Design* 1994.
133. Wojnar L.: *Image analysis. Applications in materials engineering*. Boca Raton: CRC Press 1998.
134. Zieliński R.: Optimal Choice of Statistical Model: a Disscusion of the Akaike and Classical approaches. *Applicationes Mathematicae*, 1990, 20(4), 543-549.

9. SPIS RYCIN I TABEL

Ryciny

- Ryc. 1. Zależności pomiędzy analizą, przetwarzaniem i rozumieniem obrazu.
- Ryc. 2. Zmiana jasności obrazu.
- Ryc. 3. Zmiana kontrastu obrazu.
- Ryc. 4. Zmiana intensywności obrazu.
- Ryc. 5. Przykład obrazu (a) i otrzymanych na jego podstawie obrazów binarnych (b, c i d), reprezentujących różne obszary obrazu wyjściowego.
- Ryc. 6. Ilustracja procesu filtracji.
- Ryc. 7. Analiza czerwonych ciałek krwi (opis w tekście).
- Ryc. 8. Cztery podstawowe typy sił działających na kość.
- Ryc. 9. Schemat zależności pomiędzy naprężeniem a odkształceniem.
- Ryc. 10. Charakterystyczne przebiegi zależności naprężenie-odkształcenie dla różnych typów materiałów.
- Ryc. 11. Kręgi lędźwiowy.
- Ryc. 12. Miejsce wycięcia fragmentu trzonu kręgowego przeznaczonego do badań histomorfometrycznych.
- Ryc. 13. Schemat stanowiska do komputerowej analizy obrazu.
- Ryc. 14. Obraz zapisany w standardzie RGB.
- Ryc. 15. Składowa niebieska obrazu kolorowego. W celu poprawy czytelności została ona na tym rysunku rozjaśniona.
- Ryc. 16. Składowa czerwona obrazu RGB.
- Ryc. 17. Negatyw składowej zielonej obrazu kolorowego.
- Ryc. 18. Iloczyn składowej czerwonej i negatywu składowej zielonej.
- Ryc. 19. Wynik filtracji medianowej.
- Ryc. 20. Obraz tła z Ryc. 19. W celu lepszego uwidocznienia nierównomierności oświetlenia, na ilustracji rozciągnięto zakres stopni szarości.

- Ryc. 21. Korekcja poziomu oświetlenia obrazu z Ryc. 19.
- Ryc. 22. Wynik binaryzacji z histerezą.
- Ryc. 23. Końcowy wynik detekcji.
- Ryc. 24. Ostateczny wynik detekcji nałożony na wyjściowy obraz.
- Ryc. 25. Binarny obraz beleczek kostnych, stanowiący podstawę do dalszych pomiarów. Struktura beleczek pokazana na tym rysunku odpowiada Ryc. 23.
- Ryc. 26. Szkielet obrazu beleczek z Ryc. 25.
- Ryc. 27. Szkielet z Ryc. 26, wygładzony przez obcięcie krótkich gałęzi.
- Ryc. 28. Wygładzony szkielet naniesiony na obraz beleczek.
- Ryc. 29. Miejsca występowania punktów węzłowych, naniesione na szkielet.
- Ryc. 30. Miejsca występowania punktów końcowych, naniesione na szkielet.
- Ryc. 31. Funkcja odległości.
- Ryc. 32. Funkcja odległości z naniesionym szkieletem.
- Ryc. 33. Belecзки kostne z naniesionym szkieletem SKIZ.
- Ryc. 34. Aparat Tiratest 2300.
- Ryc. 35. Schemat zmian siły przenoszonej przez kręg w funkcji przemieszczenia.

Tabele

- Tab. 1. Charakterystyka niektórych metod densytometrycznych.
- Tab. 2. Wyniki badania gęstości mineralnej tkanki kostnej gąbczastej badanych trzonów kręgowych (BMD).
- Tab. 3. Parametry mechaniczne i pole powierzchni badanych trzonów kręgowych.
- Tab. 4. Uzyskane minimalne, maksymalne, i średnie wartości cech badanych kręgów.
- Tab. 5. Symbole, nazwy i opisy badanych i analizowanych statystycznie cech trzonów kręgowych.
- Tab. 6. Wartości wytrzymałości i wartości średnie cech histomorfometrycznych dla poszczególnych kręgów.
- Tab. 7. Analiza korelacji między wartościami średnimi cech histomorfometrycznych a wytrzymałością.
- Tab. 8. Porównanie współczynników korelacji.