

## Раздел I. Аппаратные и программные средства функциональной диагностики и терапии

УДК 541.64

Н. Гарнов, В. Грюндер

### ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ КОЛЛАГЕНОВОЙ СТРУКТУРЫ СУСТАВНОГО ХРЯЦА С ПОМОЩЬЮ ВЫСОКОРАЗРЕШАЮЩЕЙ ЯМР-ТОМОГРАФИИ

Исследование структурной матрицы гиалинового хряща, покрывающего соприкасающиеся кости коленного сустава, а также биомеханических и биохимических характеристик этой ткани способствует развитию методик для ранней диагностики артрита. Выдающиеся вискоэластические свойства хряща обоснованы сложным взаимодействием основных составляющих компонентов ткани – протеогликанов и коллагена [1]. При этом решающее значение имеет организованная ориентация коллагеновых волокон, которая описывается аркадной моделью, предложенной Benninghoff в 1925 году [2]. В соответствии с этой моделью, волокна расположены вертикально в глубине хрящевой ткани, изгибаются вблизи поверхности и переходят в тангенциальный слой (рис. 1,а).

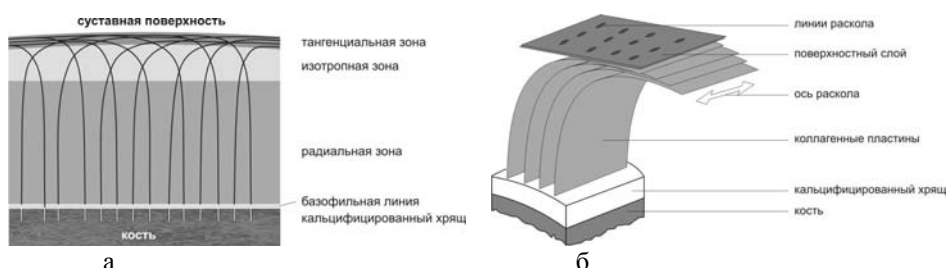


Рис. 1. а – аркадная модель строения хрящевой ткани; б – Пространственная структура пластинчатого коллагенового хряща [3]

Изучению структуры суставного хряща, а также его биомеханических характеристик уделяется большое внимание с начала 20 века. Особенно развитие электронно-микроскопических методик привело к возникновению противоречивых высказываний и теорий относительно пространственной структуры этой ткани. Так, если на настоящий момент аркадная модель подтверждается исследованиями большинства ученых, то в вопросе пространственного расположения коллагеновых волокон существуют до сих пор спорные точки зрения.

Исследования, проведенные с помощью сканирующей электронной микроскопии, привели к постулированию двух видов пространственной организации коллагеновой структуры: пластинчатая (англ. leaf-like) [3–5] и колоннообразная (англ. columnar) [4, 6–9]. Согласно пластинчатой модели, коллагеновые волокна сформированы в плотно прилегающие и связанные друг с другом слои, которые образуют арки. Сами же пластинки, однако, образованы абсолютно беспорядочно (изотропически) пролегающими волокнами (рис. 1,б). При колоннообразной же структуре отдельные ворсинки сформированы в пучки

(волокна), которые имеют аркадную форму.

При детальном изучении литературы, описывающей результаты исследований суставного хряща с помощью сканирующей электронной микроскопии, были выявлены некоторые несоответствия в определении пластинчатой или колоннообразной структуры ткани. Minns и Steven, а также Nürnbergger et al. сообщают о leaf-like строении коллагеновой структуры хряща, в глубине ткани, однако, обнаруживают упорядоченное радиальное расположение волокон [6, 9]. Clark описывает columnare-структуру в центральных регионах, но частично пластинчатую на периферии суставов [16], однако настаивает на строго радиальной матрице в глубине хрящевой ткани [7]. Другие авторы придерживаются пластинчатой модели с сугубо изотропным распределением коллагенных волокон внутри пластинок [3–5]. Hunziker et al. советуют не придерживаться крайних точек зрения и предложили модель, описывающую глубокие слои хрящевой ткани, включающие как радиальные, так и беспорядочно ориентированные волокна [11].

Очевидно, и в настоящее время не найдено однозначного ответа на вопрос организации пространственной структуры гиалинового хряща. Однако leaf-like модель неприемлема с точки зрения Т2-взвешенной ЯМР-микроскопии, которая опирается на влияние расположения хряща в постоянном магнитном поле на интенсивность ЯМР-сигнала [17]. В первую очередь это касается того факта, что коллагеновые волокна, формирующие пластинки, не имеют упорядоченной (радиальной) структуры даже в глубине хрящевой ткани. С точки зрения ЯМР, последствием этого было бы отсутствие влияния ориентации хряща во внешнем магнитном поле на ЯМР-интенсивность, и следовательно отсутствие выраженного эффекта «магического угла» на одной из плоскостей изображения (coronal или sagittal), параллельной коллагеновым пластинкам, при нормальном изображении другой плоскости. Из литературы и клинической практики, однако, такие случаи неизвестны. Но и специального исследования, направленного на решение этой проблемы, по нашим сведениям, также на настоящий момент не существует.

В связи с этим мы провели ряд ЯМР-экспериментов, в которых были использованы пробы хрящей человека и свиньи. Пространственная структура хряща этих особей, согласно Käåb, должна иметь строго leaf-like структуру [4].

В ходе исследования были получены Т2-взвешенные ЯМР-изображения (Rare, TE<sub>eff</sub> = 20 ms, TR = 1500 ms, RF = 4, 70×70 μm/pix) при различной ориентации проб в магнитном поле В0 и в различных направлениях (coronal, sagittal). Измерения были проведены на 8-ми пробках (цилиндр хрящ-кость, диаметром ок. 15 мм): femur medial и lateral, tibia medial и lateral, соответственно, левой конечности 92-летней женщины и 7-летней свиноматки. Пробы были помещены в томограф (Bruker AMX 300, 7.1 Тл) так, что нормаль к поверхности хряща была параллельна направлению В0, и в ходе эксперимента они вращались в 9 тактов на 90°, после каждого такта было сделано изображение. Таким образом, каждой пробе соответствовал ряд изображений с углом между нормалью к поверхности хряща и направлением статического магнитного поля равным 0 – 90° соответственно в корональном и сагиттальном направлениях.

Как было описано в [17], для идеально радиальной ориентации коллагеновых волокон интенсивность ЯМР-сигнала (в случае Т2-взвешенного изображения) I зависит от угла согласно соотношению

$$I \propto e^{-(1-3 \cos^2 \theta)^2} \quad (1)$$

Однако согласно leaf-like модели строения коллагенового хряща, в одном направлении (из литературы: в корональном) эта зависимость должна отсутствовать, т.к. волокна расположены в пластинках неорганизовано.

На рис. 2 представлены результаты измерения ЯМР-интенсивности (I) в радиальной (глубинной) зоне хряща в зависимости от ориентации в магнитном поле и плоскости изме-

рения. На обоих графиках наблюдается однозначная зависимость интенсивности от ориентации в В0, описанная соотношением (1), с максимумом при  $55^\circ$  («магический угол»), вне зависимости от плоскости измерения. Этот результат практически исключает возможность неупорядоченного (изотропного) расположения коллагеновых волокон в глубинной (радиальной) зоне хряща.

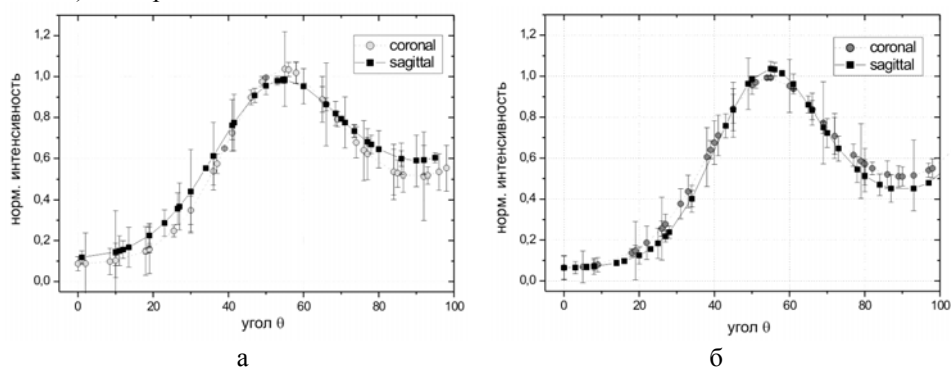


Рис. 2. Зависимость  $I(\theta)$  в радиальной зоне хряща человеческой пробы (а) и пробы свиньи (б). (Данные интенсивности были объединены для каждой особи соответственно в плоскостях измерений coronal и sagittal, нормированы на максимальное значение интенсивности и адаптированы на функцию (1) с незначительной константой ( $< 4\%$ ), учитывающей возможные изотропные волокна в радиальной зоне. Указанные отклонения являются максимальными значениями ошибок между экспериментальными данными и адаптированной функцией)

Решающим преимуществом микроскопических методик является прямое визуальное представление исследуемых структур, тогда как по ЯМР-изображению можно судить о коллагеновой ультраструктуре только с помощью модели диполь-дипольного взаимодействия протонов молекул воды, связанных с протеогликанами хрящевой ткани [17]. Однако ЯМР-томография предоставляет возможность исследования свежих проб а также *in vivo*. Любому же гистологическому исследованию биологических объектов предшествует сложный препаративный процесс, несущий в себе большой артефактный потенциал. В частности, пробы хряща для сканирующей электронной микроскопии подвергаются энзиматической обработке, фиксации, обезвоживанию в этаноле, после которых объект разламывается в засушенном или замороженном состоянии [3–5, 7]. Вероятно, один или некоторые из процессов подготовки проб оказывают непредвиденное влияние на строение хрящевой ткани, ведущее в итоге при микроскопическом исследовании к констатированию *leaf-like* структуры. Некоторые авторы упоминают в своих работах такие возможные артефакты при подготовке хрящевых проб к SEM-исследованиям, как расщепление и нарушение анизотропии структуры ткани [18–20].

Результатом представленной работы является опровержение изотропии коллагеновых волокон в глубинной радиальной зоне хрящевого слоя, описанной в *leaf-like* модели ультраструктуры гиалинового хряща коленного сустава, с точки зрения  $T_2$ -взвешенной ЯМР-томографии.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. M. Anfield. Der Chondrozyt, das lebende Element des Gelenknorpels. In H.G.Fassbender, Hrsg., Gelenknorpel und Arthrose. Stuttgart, 1983.
2. A. Benninghoff. Der funktionelle Aufbau des Hyalinknorpels. *Ergeb. Anat. Entwicklungsgesch.*, 26:1–54, 1925.

3. *A. Jeffery, G. Blunn, C. Archer, G. Bentley.* Three-dimensional collagen architecture in bovine articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 73-B: 795-801, 1991.
4. *M. Kääh, I. Gwynn, H. Nötzli.* Collagen fibre arrangement in the tibial plateau articular cartilage of man and other mammalian species. *J. Anat.* 193, 23-34, 1998.
5. *D. Goodwin, H. Zhu, J. Dunn.* *In Vitro MR* Imaging of hyaline cartilage: correlation with scanning electron microscopy. *AJR*; 174: 405-409; 2000.
6. *R. Minns, F. Steven.* The collagen fibril organization in human articular cartilage. *J Anat.* 123 (Pt 2): 437-457, 1977.
7. *J. Clark.* Variation of Collagen Fiber Alignment in a Joint Surface: A Scanning Electron Microscope Study of the Tibial Plateau in Dog, Rabbit, and Man. *J. Orthop. Res.* 9:246-257, 1991.
8. *M. Kääh, K. Ito, J. Clark, H. Nötzli.* Deformation of articular cartilage collagen structure under static and cyclic loading. *J. Orthop. Res.* 16: 743-751, 1998.
9. *S. Nürnberger, W. Klepal, V. Vécsei, S. Marlovits.* Ultrastructural insights into the world of cartilage: electron microscopy of articular cartilage. *Ost Tr Care* 14:168-180, 2006.
10. *I. Clarke.* Articular cartilage: a review and scanning electron microscope study. I. The interterritorial fibrillar architecture. *J Bone Joint Surg Br.* 53(4):732-50, 1971.
11. *E. Hunziker, M. Michel, D. Studer.* Ultrastructure of adult human articular cartilage matrix after cryotechnical processing. *Microsc Res Tech.* 37(4): 271-84, 1997.
12. *G. Kempson, M. Freeman, S. Swanson.* Tensile properties of articular cartilage. *Nature.* 220:1127-8, 1968.
13. *W. Hultkrantz.* Über die Spaltrichtungen der Gelenkknorpel. *Verhandlungen der Anatomischen Gesellschaft, Kiel*, 248, 1898.
14. *S. Below, S. Arnoczky, J. Dodds, C. Kooima, N. Walter.* The split-line pattern of the distal femur: A consideration in the orientation of autologous cartilage grafts. *Arthroscopy.* 18(6): 613-7, 2002.
15. *D. Goodwin, Y. Wadghiri, H. Zhu, C. Vinton, E. Smith, J. Dunn.* Macroscopic Structure of Articular Cartilage of the Tibial Plateau: Influence of a Characteristic Matrix Architecture on MRI Appearance. *AJR* 182:311-318, 2004.
16. *J. Clark.* The organisation of collagen fibrils in the superficial zones of articular cartilage. *J Anat.* 171:117-30, 1990.
17. *Н. Гарнов, В. Грюндер.* Исследование ультраструктуры и биомеханических свойств суставного хряща с помощью высокоразрешающей ЯМР-томографии. *Известия ТРТУ. МИС-2006.* 11(66). С.58-65, 2006.
18. *A. Boyde, E. Bailey, S. Jones, A. Tamarin.* Dimensional changes during specimen preparation for scanning electron microscopy. In: *Proceedings of the 10th Annual Scanning Electron Microscopy Symposium, Chicago, in Scanning Electron Microscopy/1977/I, IIT Res. Inst., Chicago*, 507-518. 1977.
19. *H. Helminen, J. Jurvelin, M. Tammi, A. Pelttari, C. Svartbäck, I. Kiviranta, A. Säämänen, K. Paukkonen.* Prolonged ethanol replacement by CO<sub>2</sub> increases splits on articular cartilage surface after critical point drying. *J Microsc.* 137(Pt 3):305-12, 1985.
20. *J. Clark, P. Simonian.* Scanning electron microscopy of "fibrillated" and "malacic" human articular cartilage: technical considerations. *Microsc. Res. Tech.* 37(4):299-313, 1997.

УДК 681.323:621.391.837

**И.В. Разин, Е.П. Попечителев**

## **О КОРРЕЛЯЦИОННОМ АНАЛИЗЕ В ПРОСТРАНСТВЕ ХАРАКТЕРИСТИК ОПИСАНИЯ**

Весьма распространенной задачей в анализе биомедицинских изображений является задача быстрого поиска заданного (эталонного) изображения среди множества изображе-