

Vedecká rada  
Ústavu merania Slovenskej akadémie vied

Mgr. Vladimír Juráš

**Autoreferát dizertačnej práce**

**Nové metódy vyšetrovania ľudských kĺbových chrupaviek  
pomocou nukleárnej magnetickej rezonancie**

na získanie vedecko-akademickej hodnosti  
philosophiae doctor

v odbore doktorandského štúdia  
bionika a biomechanika 39-52-9

Bratislava, 2009

Dizertačná práca bola vypracovaná v externej forme doktorandského štúdia na Ústave merania Slovenskej akadémie vied v Bratislave.

Predkladateľ: Mgr. Vladimír Juráš  
Ústav merania SAV  
Dúbravská cesta 9  
841 04 Bratislava

Školiteľ: Prof. Ing. Ivan Frollo, DrSc.

Oponenti: .....  
.....  
.....

Autoreferát bol rozoslaný dňa:.....

Obhajoba dizertačnej práce sa koná:.....o.....hod.

pred komisiou pre obhajobu dizertačnej práce v odbore doktorandského štúdia,  
vymenovanou predsedom spoločnej odborovej komisie dňa.....

39-52-9 Bionika a biomechanika

na Ústave merania Slovenskej akadémie vied, Dúbravská cesta 9, 842 19 Bratislava

.....

Prof. Ing. Ivan Frollo, DrSc.

Predseda spoločnej odborovej komisie

Ústav merania Slovenskej akadémie vied

Bratislava

## Obsah:

1. Úvod.....	2
2. Prehľad o súčasnom stave problematiky .....	3
3. Ciele dizertačnej práce.....	5
4. Materiál a metódy .....	7
4.1 Meranie množstva proteoglykánov.....	8
4.2 Meranie stavu kolagénovej mriežky .....	10
4.3 Meranie difúzie .....	11
4.4 Vyhodnotenie parametrov.....	12
5. Výsledky .....	15
5.1 Skúmanie korelácie medzi MR a biomechanickými parametrami .....	15
5.2 Vyhodnotenie zrenia implantátov na modeli konských chrupaviek.....	17
5.3 Vyhodnotenie vplyvu kompresie na MR parametre pomocou kinetickej štúdie.....	18
5.3.1 Skupina dobrovoľníkov .....	19
5.3.2 Skupina pacientov .....	19
6. Záver a diskusia .....	21
7. Využitie výsledkov práce v praxi .....	23
8. Referencie použité v autoreferáte .....	24
9. Zoznam publikácií autora dizertačnej práce .....	26
10. Summary .....	28

# 1. Úvod

Kĺbová chrupavka je zložitú tkanivo, ktoré pokrýva konce dlhých kostí v kĺbových spojeniach. Absorbovaním tlaku chráni jednotlivé kosti pred mechanickým poškodením, ktoré by mohlo potenciálne vzniknúť pri záťaži kĺbu a zlepšuje súhlasnosť dotykových plôch. Spolu so synoviálnou tekutinou kĺbová chrupavka znižuje trenie počas pohybu kĺbu na minimum. Neustála dynamická remodelácia extracelulárnej hmoty zabezpečuje základné funkcie kĺbovej chrupavky počas celého života človeka pomocou syntézy a degradácie stavebných zložiek. Táto citlivá rovnováha však môže byť narušená mnohými faktormi ako je vek, nadmerná fyzická aktivita, vrodené vyklbenia, obezita alebo zranenie. Porušenie tejto rovnováhy obvykle vyúsťuje do poškodenia stavby a štruktúry chrupavky a následne aj jej mechanických vlastností. Keďže má kĺbová chrupavka veľmi obmedzené možnosti opravy, ak raz začne tento proces, len ťažko ho je zvrátiť. Je preto pochopiteľné, že existuje snaha vedcov a lekárov už po niekoľko desaťročí o zvrátenie degeneratívnych procesov kĺbových chrupaviek, respektíve o nájdenie účinných prostriedkov prevencie. Osteoartritída je najčastejšie ochorenie kĺbových spojení s obrovskými sociálnymi, ekonomickými a psychologickými dopadmi. V súčasnosti je diagnostikovaná osteoartritída vyše polovici ľudí nad 65 rokov, ktorí majú chronické ťažkosti s kĺbmi. Význam diagnostiky a terapie osteoartritídy bude vďaka demografickému vývoju modernej spoločnosti neustále rásť.

## 2. Prehľad o súčasnom stave problematiky

MRI predstavuje silný nástroj na zobrazovanie a pochopenie osteoartritídy. Zlepšenia, ktoré boli dosiahnuté pri morfológickom zobrazovaní, najmä v kontraste, rozlíšení a celkového času merania, umožňujú veľmi presne kvantifikovať hrúbku a objem chrupavky [1]. Veľké pokroky boli urobené aj v pochopení fyziológie chrupavky a v schopnosti detegovať zmeny množstva proteoglykánov a kolagénovej mikroštruktúry [2; 3]. Základný kompromis medzi rozlíšením v obraze a pomerom signál/šum však stále limituje schopnosť zobrazovať chrupavku in-vivo s dostatočným rozlíšením. Zobrazovanie pri 1,5 T je sa ukázalo ako vhodné, a však na hranici, pre korektné zobrazenie sú potrebné vyššie polia. Nové techniky založené na bSSFP (balanced Steady-State Free Precession) sekvenciách sľubujú zlepšenie schopnosti charakterizovať chrupavku ako z morfológického tak aj z biochemického hľadiska. Nič menej už dnes je MRI považované za flexibilnú a dôležitú metódu pri študovaní vývoji a postupovaní osteoartritídy, pri vyhodnocovaní nových terapeutických metód a poskytuje nový pohľad do patogenézy tejto choroby.

Morfologické a biochemické metódy MRI sú vďaka vysoko-poľovým systémom, zlepšenej technológii cievok a sofistikovaným sekvenciám vhodné na zobrazovanie chrupaviek in-vivo s vysokým rozlíšením, navyše v klinicky prijateľných časoch. Mnoho konvenčných dvojrozmerných a trojrozmerných klinických sekvencií sa dnes úspešne používa na zobrazovanie zmien v štruktúre chrupavky. Funkčné MR metódy navyše dokážu poskytnúť informáciu o jednotlivých stavebných zložkách chrupavky a transplantovaného tkaniva. Dá sa detegovať fyziologická štruktúra chrupavky a zmeny v obsahu makromolekúl, čo umožňuje diferenciaciu normálneho a transplantovaného tkaniva. Morfológické MRI poskytuje základ pre diagnostiku poškodení chrupaviek a prípadného následného sledovania vývoja po aplikácii liečby alebo chirurgického zákroku.

Najdôležitejšou makromolekulou v tkanive chrupavky je glykózaminoglykán, ktorý zabezpečuje základné biochemické a biomechanické funkcie chrupavky. Sledovanie množstva a rozloženia glykózaminoglykánov umožňuje získať informáciu o kvalite transplantovaného tkaniva. Nedávna štúdia ukázala, že pomocou metódy dGEMRIC je možné spoľahlivo odlíšiť zdravé tkanivo od transplantovaného a navyše aj odlišiť rôzne typy použitých metód transplantácie - napr. MACT a MFX [4]. Aplikovateľnosť tejto metódy bola potvrdená aj v iných kĺbových spojeniach ako je kolenný kĺb [5; 6]. Pravdepodobne najčastejšie používaná biochemická MR metóda je meranie transverzálneho relaxačného času  $T_2$ .  $T_2$  je parameter citlivý na zmeny obsahu vody, kolagénových vlákien a anizotropie tkaniva [7]. Pomocou zonálneho vyhodnotenia  $T_2$  je možné odlišiť MFX a MACT [8]. Zatiaľ čo transplantované tkanivo po MFX, ktoré je z histologického hľadiska

fibrózne, nevykazuje trend zvyšovania  $T_2$  smerom od hlbkej do povrchovej vrstvy, transplantované tkanivo po MACT (z histologického hľadiska sa jedná o hyalínne tkanivo) vykazuje signifikantnú stratifikáciu. V prípade  $T_2^*$  je takisto možné jasne pozorovať rozdielne hodnoty v jednotlivých vrstvách chrupavky s rovnakým trendom ako pri  $T_2$ . V MFX transplantovanom tkaniva sa táto diferenciácia stráca [9]. Pri vyhodnocovaní rozdielov medzi zdravým a transplantovaným tkanivom je preto veľmi dôležité vyhodnotiť zonálnu diferenciáciu ako pre  $T_2$  tak aj pre  $T_2^*$ .

Prepojenie MR parametrov získaných neinvazívnym spôsobom s biomechanickými parametrami ľudskej kĺbovej chrupavky by do značnej miery zlepšilo včasnú diagnostiku osteoartritídy. Biomechanické vlastnosti kĺbovej chrupavky sú pomerne detailne popísané v literatúre, najmä v súvislosti so stupňom degeneratívneho poškodenia [10] či zrenia chrupavky [11]. Nieminen a kol. zistili, že až 80% biomechanických parametrov chrupavky môže byť stanovených pomocou MRI [12]. Štúdia však bola robená na kravských chrupavkách, ktoré vykazovali iba malú mieru degeneratívneho poškodenia. Na rovnakom modeli bol ukázaný vzťah medzi  $T_1$ ,  $T_2$  a biomechanickou charakteristikou chrupavky a ich topografická variabilita [13]. Medzi-druhovú variabilitu vzťahu biomechanických a MR parametrov kĺbovej chrupavky bola skúmaná Nissim a kol. [14].

### 3. Ciele dizertačnej práce

Cieľom dizertačnej práce bolo navrhnúť a overiť nové MR vyšetrovacie metódy na analýzu biomechanických a biochemických vlastností kĺbovej chrupavky v rôznych štádiách traumatického alebo degeneratívneho poškodenia alebo po chirurgickom zákroku. Pre dosiahnutie tohto cieľa bolo potrebné:

- Nájsť koreláciu medzi vybranými biomechanickými parametrami prirodzene degenerovanej ľudskej kĺbovej chrupavky, ktoré sú pomerne dobre popísané v literatúre, a biochemickými parametrami získanými z MRI ( $T_1$ ,  $T_2$ , ADC) v kĺbových chrupavkách postihnutých rôznymi štádiami osteoartritídy.
  - o Optimalizovať parametre MR sekvencií na meranie  $T_1$ ,  $T_2$  a ADC,
  - o navrhnúť dizajn experimentu pre získanie vybraných biomechanických parametrov (rovnovážny modul, okamžitý modul, čas relaxácie tkaniva)
  - o pomocou histologického vyšetrenia stanoviť mieru degenerácie jednotlivých vzoriek
  - o pomocou Pearsonovho korelačného koeficientu stanoviť mieru korelácie biochemických parametrov získaných pomocou MR a biomechanických parametrov
- Na modeli konských chrupaviek zistiť potenciálny význam biochemických MR parametrov pri stanovovaní kvality zrenia implantátov.
  - o Pomocou metódy dGEMRIC odhadnúť, ako sa mení množstvo proteoglykánov v transplantovanom tkanive
  - o kvalitatívnym a kvantitatívnym vyhodnotením priečného relaxačného času určiť mieru anizotropie transplantovaného tkaniva chrupavky
  - o pomocou merania zdanlivého difúzneho koeficientu (ADC) zistiť vlastnosti nového tkaniva z hľadiska schopnosti difúzie.
- Navrhnúť a klinicky overiť novú metódu vyšetrovania pacientov po MACT transplantácií chrupaviek pomocou MRI.
  - o S použitím unikátneho MR kompatibilného zariadenia, umožňujúceho vyšetovanie kolenného kĺbu v rôznych polohách priamo v magnete, overiť hypotézu, že kvantitatívne vyhodnotenie priečného relaxačného času  $T_2$  v dotykových plochách

chrupaviek počas flexie umožní diagnostické sledovanie zrenia transplantátu v kolennej chrupavke.

- Overiť reprodukovateľnosť novej metódy stanovením koeficientu variácie medzi vyšetrovanými jednotlivcami a medzi hodnotiteľmi



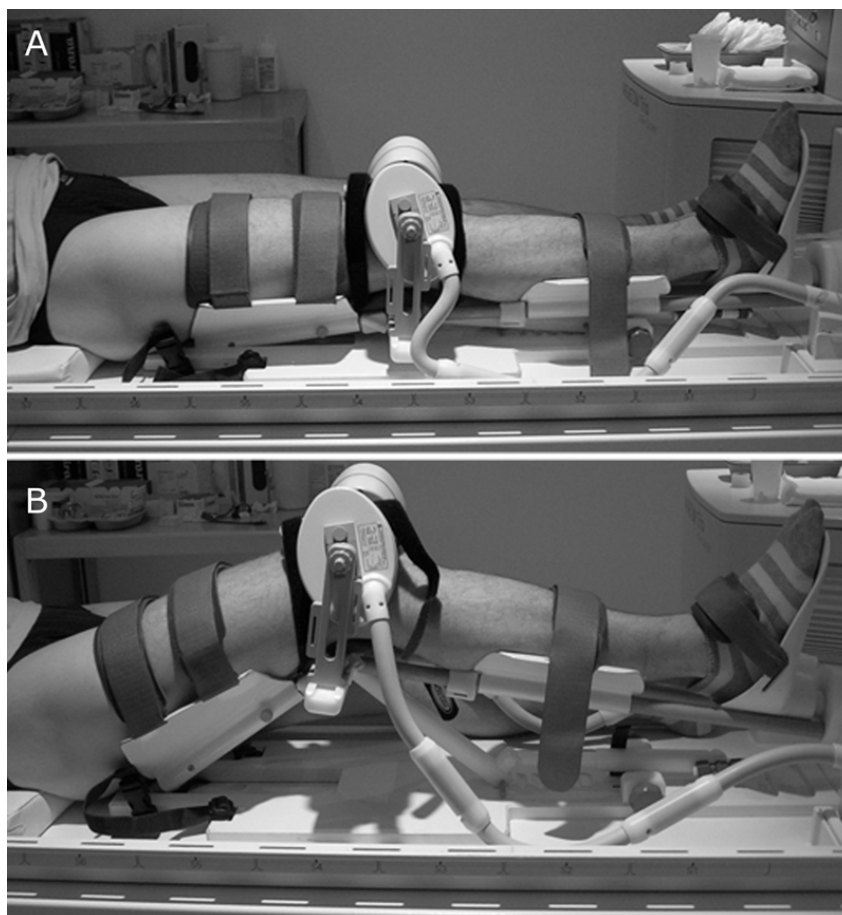
## 4. Materiál a metódy

In-vitro merania boli uskutočnené na celotelovom MR systéme Bruker 3T Medspec (Bruker, Ettlingen, Germany). Bol použitý mikrozobrazovací systém BGA 12, ktorého gradienty dosahujú až 200 mT/m (Obr. 4.1). Systém je aktívne tienový, chladený vodou a má vnútorný priemer ~25 cm.



**Obr. 4.1** MR kompatibilné kompresné zariadenie umiestnené v mikrogradientovom systéme BGA 12. Pomocou otočnej tyče a mierky je možné dosiahnuť posunutie piestu s presnosťou 1/100 mm v pozdĺžnom smere a kontrolovať tak tlak pôsobiaci na vzorku chrupavky.

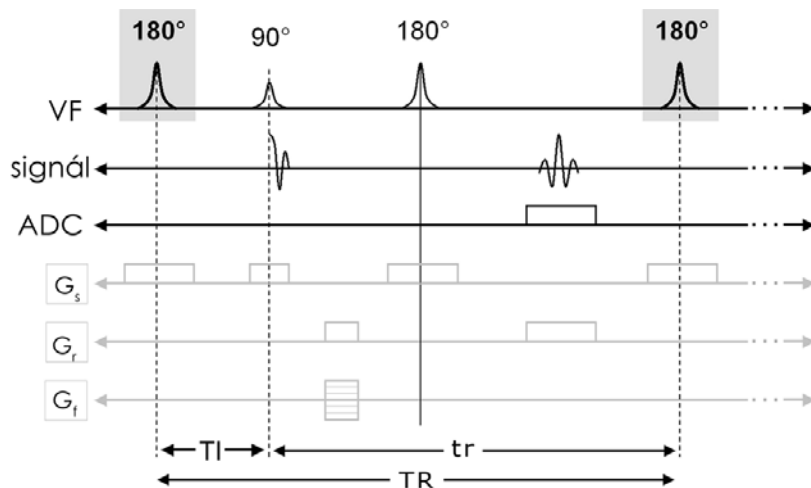
Klinické MR vyšetrenia boli vykonané na 3T komerčnom skeneri (Magnetom Tim Trio, Siemens Erlangen, Germany), ktorý disponuje gradientami o sile 40 mT/m. Bola použitá špeciálna flexibilná osemkanálová kolenná cievka, ktorá pozostávala zo 4 kanálov na každej strane (Noras, Germany). Na nastavenie rôznych stupňov flexie bol použitý MR-kompatibilný systém (Obr. 4.2).



**Obr. 4.2** MR-kompatibilný systém na nastavenie flexie kolena pri MR vyšetrení a osemkanálová flexibilná cievka; A) úplná extenzia kolena; B) 40° flexia kolena.

## 4.1 Meranie množstva proteoglykánov

Na meranie obsahu proteoglykánov vo vzorke kĺbovej chrupavky bola použitá metóda dGEMRIC (delayed Gadolinium Enhanced MRI of cartilage). Vzorok bola umiestnená do proteínového pufru (PBS, Sigma-Aldrich Inc.). Na meranie pozdĺžnej relaxácie ( $T_1$ ) bola použitá sekvencia spinového echa so zaradením 180° pulzu (Inversion Recovery, IR, Obr. 4.3). 180° pulz bol zaradený pred štandardnú multi-echo multi-slice sekvenciu.



Obr. 4.3 Schematické zobrazenie sekvencie Inversion Recovery

$T_1$  mapa bola vypočítaná zo šiestich rôznych po sebe idúcich obrazov s rôznymi inverznými časmi (TI): 15, 30, 60, 160, 400 a 2000 ms, každý s echo časom 15 ms. Čas opakovania sekvencie bol vypočítaný pre každý obraz zvlášť z inverzného času TI (t.j. času medzi prvým  $180^\circ$  pulzom a následným  $90^\circ$  pulzom) a časového intervalu  $tr$  medzi  $90^\circ$  excitačným pulzom a ďalším IR pulzom:

$$TR = TI + tr \quad 4.1$$

Na zabezpečenie dostatočného času na pozdĺžnu relaxáciu musí byť  $tr$  konštantné, preto sa musí TR zvyšovať zodpovedajúco k inverznému času. Čas  $tr$  bol nastavený na 4000 ms, z čoho boli vypočítané nasledovné časy TR: 4015, 4030, 4060, 4160, 4400 a 6000 ms. Pozdĺžny relaxačný čas bol následne vypočítaný nelineárnou numerickou metódou preložením krivky

$$S(TI) = |S(0) \times (1 - 2e^{-TI/T_1})| \quad 4.2$$

ktorá popisuje  $T_1$  relaxáciu v IR sekvencii.  $T_1$  relaxačné časy boli vypočítané pre každý bod matice dát, čoho výsledkom bola mapa  $T_1$  časov. Veľkosť matice bola 128 krát 96 bodov (čítací resp. fázo-kódovací smer), zrekonštruovaná bola na maticu obrazových dát o veľkosti 128 krát 128 bodov. Ostatné parametre boli nastavené nasledovne: počet akumulácií 6, šírka pásma 15 kHz, FOV  $30 \times 30$  mm, z čoho vyplýva nominálne rozlíšenie 234  $\mu$ m. Meranie trvalo 4 hodiny a 24 minút.

Následne bol roztok (PBS) vo vodotesnej nádobke vymenený za 5 mmol roztok kontrastnej látky na báze gadolína ( $Gd-DTPA^{2-}$ ). Meranie bolo zopakované s identickými parametrami ako pred

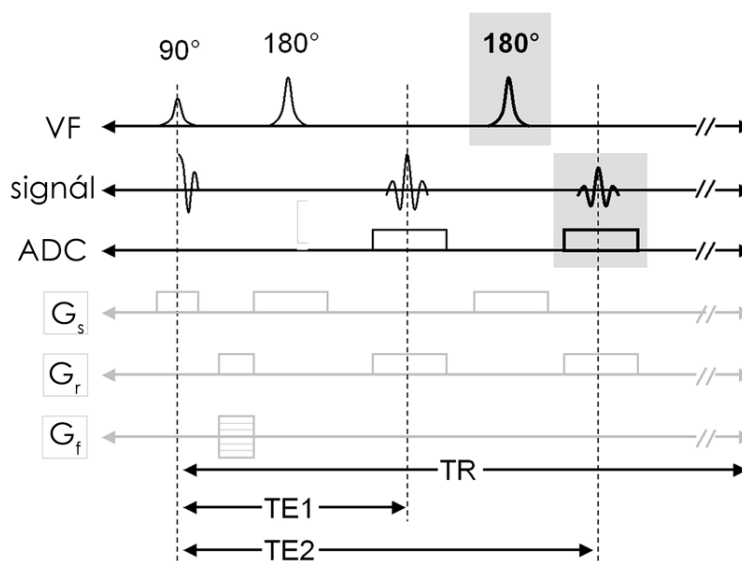
pridaním kontrastu, takisto trvalo 4 hodiny a 24 minút. Kontrastná látka penetruje do tkaniva chrupavky, kde sa rozloží prevažne v oblastiach, kde sa nachádza málo proteoglykánov. Koncentrácia Gd-DTPA sa potom dá vypočítať zo vzťahu

$$[GdDTPA] = 1/R(1/T_{1Gd} - 1/T_1) \quad 4.3$$

pričom  $T_{1GD}$  je hodnota  $T_1$  v prítomnosti kontrastu,  $T_1$  je natívna hodnota a  $R$  je relaxivita Gd-DTPA. Relaxivita Gd-DTPA sa predpokladá rovnaká v tkanive chrupavky ako vo fyziologickom roztoku pri 37°C,  $R = 3.1 \pm 0.3 \text{ l.mmol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  pri sile statického magnetického poľa 3 T [15].

## 4.2 Meranie stavu kolagénovej mriežky

Transverzálny relaxačný čas  $T_2$  je ovplyvňovaný stavom kolagénovej mriežky a množstvom vody v chrupavke. Na meranie  $T_2$  bola použitá multi-echo multi-slice spin echo sekvencia (Obr. 4.4).



Obr. 4.4 Sekvencia multi-slice multi-echo

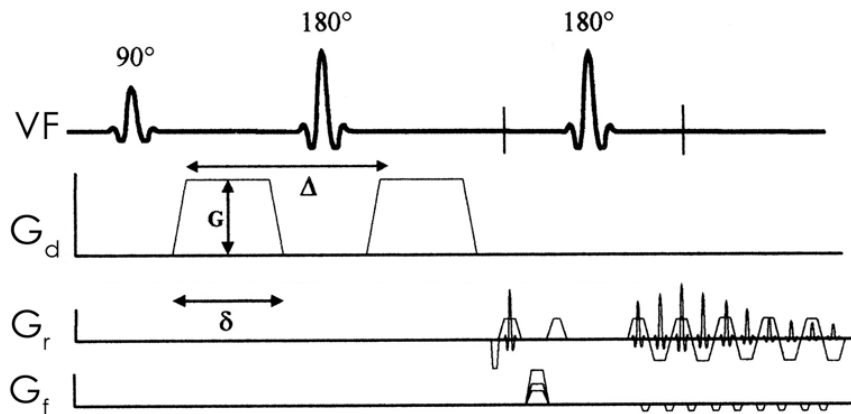
V jednom meraní bolo získaných 6 ech s rozličnými TE časmi: 15, 30, 45, 60, 75 and 90 ms. Veľkosť matice bola  $128 \times 96$ , zrekonštruovaná na  $128 \times 128$  bodov. Počet akumulácií bol 6, šírka pásma 15 kHz, FOV  $30 \times 30$  mm, výsledné nominálne rozlíšenie 234  $\mu\text{m}$ . Meranie trvalo 38 minút. Intenzity obrazov s rôznym echo časom boli preložené krivkou v každom bode obrazovej matice

$$S(TE) = S(0) \times e^{-TE/T_2} \quad 4.4$$

čím bola získaná  $T_2$  mapa. Na výpočet krivky bol použitý algoritmus, založený na nelineárnej numerickej metóde Levenberg–Marquardt.

### 4.3 Meranie difúzie

Zdanlivá difúzna konštanta ADC (Apparent Diffusion Constant) bola získaná z PGSE (pulsed gradient spin-echo) sekvencie (Obr. 4.5), ktorá bola zavedená Stejskalom a Tannerom v roku 1965. Citlivosť na difúziu je dosiahnutá zaradením gradientových pulzov pred aj za  $180^\circ$  refokusačný pulz.



Obr. 4.5 Sekvencia na meranie difúzie

Difúzny útlmový faktor  $R$  je daný

$$R = e^{-bD} \quad 4.5$$

kde  $D$  predstavuje konštantu ADC a  $b$  je parameter difúznej citlivosti a je definovaný vzťahom

$$b = \gamma^2 A^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3) \quad 4.6$$

kde  $\gamma$  je gyromagnetický pomer vodíkového jadra,  $A$  je amplitúda gradientových pulzov,  $\delta$  je ich trvanie, a  $\Delta$  je čas medzi ich nábehovými hranami. V tejto práci boli použité tieto hodnoty:  $\Delta = 16.26$  ms;  $\delta = 5$  ms;  $A \in [5, 80, 120, 155, 180]$ ; a zodpovedajúce hodnoty  $b \in [10,5; 220,6; 452,8; 724,5; 957,7]$ . Z difúzne vážených obrazov bola v každom bode obrazu preložená krivka

$$S(t) = S(0) \times e^{-bD} \quad 4.7$$

Čas opakovania sekvencie TR bol nastavený na 4000ms, bolo použitých 6 akumulácií, matica o veľkosti 128 x 96 rekonštruovaná na 128 x 128 obrazových bodov, FOV 30 mm a šírka frekvenčného pásma 15 kHz.

#### 4.4 Vyhodnotenie parametrov

Pre skúmanie korelácie medzi MR a biomechanickými parametrami boli použité vzorky ľudských kĺbových chrupaviek získané z pacientov, ktorí podstúpili výmenu kolenného kĺbu. Z chirurgického oddelenia boli dopravené vzorky chrupaviek (odrezky tvaru guľového vrchlíka z femorálneho kondylu) do laboratória v zmrazenom stave (-18°C). Celkovo bolo použitých 13 vzoriek s rôznymi stupňami osteoartritídy. Pre každú vrstvu zvlášť boli vypočítané korelácie medzi MR parametrami, mechanickými parametrami a stavom osteoartritídy. Korelácie boli vypočítané v zmysle Pearsonových koeficientov, premenné boli normálne rozložené a navzájom nezávislé. Na štatistickú analýzu bol použitý párový T-test a p hodnoty menšie ako 0,05 boli považované za štatisticky signifikantné.

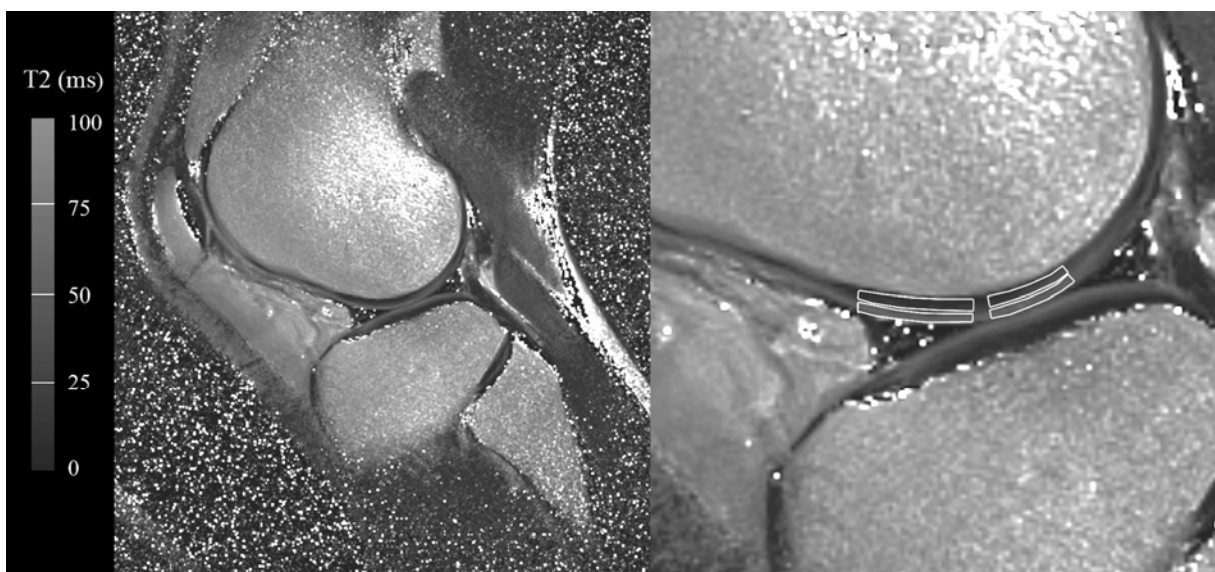
Vzorky konských chrupaviek s MACT boli zobrazené v MR skeneri v koronálnych rezoch. Oblasť záujmu bola vybratá pre všetky vzorky v dvoch vrstvách (hrúbka chrupavky umožňovala zmysluplne vybrať iba 2 vrstvy - povrchovú, ktorá obsahovala aj časť strednej a hlbokú, ktorá obsahovala druhú časť strednej vrstvy), a to samostatne pre natívnu časť chrupavky a transplantát. Vyhodnotenie bolo urobené v programe napísanom v IDL (rovnako ako bol použitý v kompresnej štúdiu). Kvantitatívne vyhodnotenie relaxačného pomeru  $R_1$  (definovaného ako  $R_1 = 1/T_1$ ) bolo porovnané s histologickými nálezmi. Bol vypočítaný aj tzv. relatívny delta relaxačný pomer  $R_{1rel}$ , ktorý je definovaný nasledujúcim vzťahom:

$$R_{1rel} = \frac{R_{1\_trans\_post} - R_{1\_trans\_pre}}{R_{1\_nat\_post} - R_{1\_nat\_pre}} \quad 4.8$$

kde jednotlivé indexy majú nasledovný význam: „trans“ - transplantát , „nat“ - natívna chrupavka, „pre“ - pred pridaním kontrastu a „post“ - po pridaní kontrastu. Relaxačný čas  $T_2$  bol vyhodnotený kvantitatívne, tzn. že boli hľadané rozdiely medzi absolútnymi hodnotami  $T_2$  v zdravom a transplantovanom tkanive, a kvantitatívne, tzn. že sa sledovala vrstvová diferenciácia v chrupavke. Parameter ADC bol vyhodnotený iba kvantitatívne.

Do klinickej štúdie bolo zahrnutých 10 pacientov a 10 (vekom aj pohlavím zodpovedajúcich) dobrovoľníkov. Priemerný vek pacientov a dobrovoľníkov bol  $28.0 \pm 6.5$  resp.  $28.4 \pm 3.6$  rokov. V každej skupine bolo 6 mužov a 4 ženy. MACT štep sa nachádzal na mediálnom epikondyle stehennej kosti u 6 pacientov a na laterálnom epikondyle u 4 pacientov. Všetci pacienti aj dobrovoľníci boli informovaní o priebehu štúdie a povolenie na vykonanie štúdie bolo udelené Etickou komisiou Lekárskej fakulty vo Viedni. Každý pacient bol vyšetrený dvakrát - prvé vyšetrenie pri  $40^\circ$  flexii kolenného kĺbu (maximum, ktoré sa dalo dosiahnuť pri 60 cm priemere tunelu) a druhé pri úplnej extenzii ( $0^\circ$ ).  $T_2$  mapy boli zhotovené pomocou multi-echo spin-echo sekvencie s časom opakovania 1650 ms. V jednom meraní bolo nameraných 6 ech (12.9ms, 25.8ms, 38.7ms, 51.6ms, 65.5ms and 77.4ms). FOV bolo nastavené na 20 x 20 cm, matica 320 x 320 obrazových bodov a šírka rezu 1 mm. Mapy boli vypočítané pomocou softvéru vstavaného na klinickom skeneri (Syngo, Siemens, Erlangen, Germany). V obrázkoch pacientov boli vybraté dve oblasti záujmu na dvoch po sebe nasledujúcich rezoch tak, aby obsahovali oblasť s transplantovaným tkanivom. Každá oblasť záujmu bola následne rozdelená na dve časti - jedna pokrývajúca prvú polovicu chrupavky (smerom od povrchu chrupavky) a druhá druhú polovicu. V polohe flexie nebola prítomná žiadna dotyková plocha medzi epikondylom stehennej kosti a kondylom píšťaľy, avšak pri úplnej extenzii bola medzi chrupavkami stehennej kosti a píšťaľy veľká kontaktná plocha. U dobrovoľníkov boli vybraté oblasti záujmu tak, aby korešpondovali s miestami, kde sa u pacientov nachádzalo transplantované tkanivo. Aby bolo možné porovnávať rôzne merania u každého pacienta, bola použitá analýza variancie pomocou trojcestného ANOVA testu s náhodným faktorom v softvéri SPSS (SPSS Inc., Chicago, USA). Hodnoty boli považované za štatisticky signifikantne odlišné pri  $p < 0.05$ . Pre vyhodnotenie reprodukovateľnosti kinetickej metódy a  $T_2$  merania boli odmeraní traja dobrovoľníci dvakrát v rôznych časoch. Každý dobrovoľník podstúpil meranie vystretého kolena (úplná extenzia) a následne pokrčeného ( $40^\circ$  flexia). Výsledné  $T_2$  mapy zo všetkých meraní boli vyhodnotené troma nezávislými posudzovateľmi so skúsenosťami v muskuloskeletálnej rádiológii. V  $T_2$  mape každého dobrovoľníka bola vybratá jedna vrstva, v ktorej boli definované dve sady oblasti záujmu: obe boli umiestnené v chrupavke kondylu stehennej kosti, prvá bola umiestnená na mieste, kde dochádza k

dotyku femorálnej a tibiálnej chrupavky pri vystretom kolene, a druhá v mieste, kde dochádza k dotyku pri flexii (Obr. 4.6). V každej sade bola zvolená povrchová a hlboká vrstva chrupavky (rozdelením približne na polovicu hrúbky chrupavky). Analýza  $T_2$  máp bola vykonaná na multi-modálnej pracovnej stanici (Leonardo, Siemens Medical Solutions, Erlangen, Nemecko). Reprodukovateľnosť bola stanovená v zmysle variability medzi posudzovateľmi aj medzi jednotlivými meranými dobrovoľníkmi a určená ako koeficient variácie (KV, %) pre každého posudzovateľa a dobrovoľníka. Priemerná hodnota bola vypočítaná ako efektívna hodnota (RMSA, Root Mean Square Average, %). Štatistická analýza reprodukovateľnosti bola stanovená použitím analýzy variancie (ANOVA) v programe SPSS (SPSS Institute, Chicago, IL, USA) for Windows (Microsoft, Redmont, WA, USA).



**Obr. 4.6**  $T_2$  mapa kolena dobrovoľníka v  $40^\circ$  flexii, multi-echo spin-echo sekvencia, TR, 1650ms; obrazová matica, 320 x 320 obrazových bodov; FOV, 20,0 cm x 20,0 cm, TE, 12,9ms, 25,8ms, 38,7ms, 51,6ms, 65,5ms a 77,4ms. Pôvodná  $T_2$  mapa je vľavo, maximálne zväčšenie použité pri vyhodnocovaní oblastí záujmu (vymedzené objektmi s bielymi okrajmi) vpravo.



## 5. Výsledky

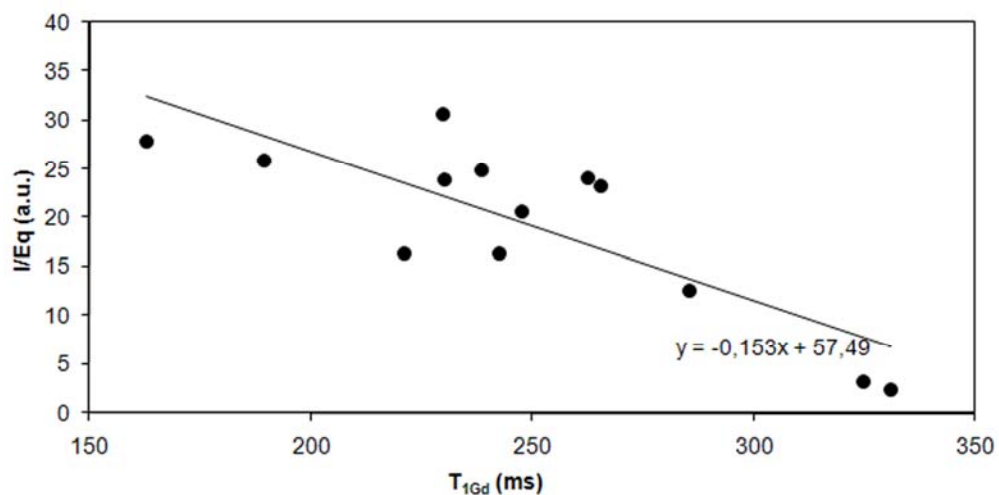
### 5.1 Skúmanie korelácie medzi MR a biomechanickými parametrami

Na odhadnutie vzťahu medzi mechanickými vlastnosťami a MR parametrami v poškodenej chrupavke boli vypočítané Pearsonove korelačné koeficienty ( $r$ ). Medzi niektorými parametrami boli nájdené veľké korelácie: napr. medzi pomerom  $I/Eq$  a celkovou koncentráciou Gd-DTPA ( $r = 0.9320$ ). Vo všeobecnosti  $T_{1Gd}$  a koncentrácia Gd-DTPA dobre korelovali s väčšinou biomechanických parametrov, pri  $T_{1Gd}$  navyše vo všetkých vrstvách. Korelácia [Gd-DTPA] pozdĺž jednotlivých vrstiev nebola rovnako homogénna ako pri  $T_{1Gd}$ : v hlbkej a povrchovej vrstve boli vypočítané Pearsonove koeficienty relatívne nízke. Pri  $T_2$  bola zaznamenaná najvyššia korelácia s  $Eq$  ( $r = 0,4717$ ). Všetky korelácie  $T_2$  s biomechanickými parametrami boli nižšie ako 0,5. Celkový ADC koreloval najlepšie s  $Eq$  ( $r = -0,5236$ ), pre jednotlivé zóny bola nájdená najvyššia korelácia v povrchovej zóne s  $\tau$  ( $r = -0,7262$ ). Na Obr. 5.1, Obr. 5.2 a Obr. 5.3 sú zobrazené najdôležitejšie závislosti MR a biomechanických parametrov ( $T_{1Gd}$  vs  $Eq$ ,  $T_{1Gd}$  vs  $\tau$  and  $T_{1Gd}$  vs  $I/Eq$ ). Všetky vypočítané Pearsonove koeficienty sú zosumarizované v Tab. 5.1.

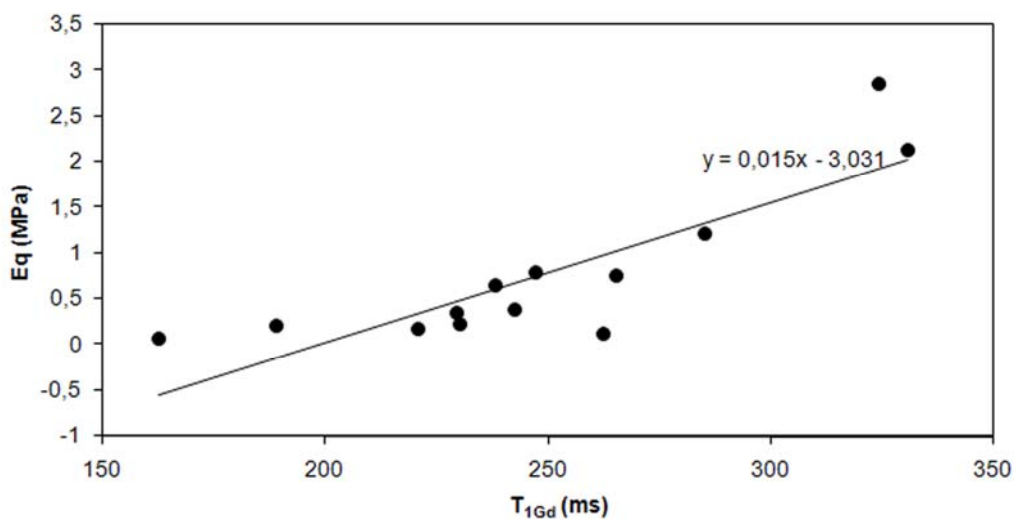
**Tab. 5.1 Pearsonove korelačné koeficienty medzi MR parametrami a biomechanickými vlastnosťami**

	celkovo	povrchová	stredná	hlboká
$T_{1Gd}$ vs $I$	-0.4136	-0.3986	-0.2738	-0.4319
$T_{1Gd}$ vs $Eq$	<b>0.8095</b>	<b>0.8072</b>	<b>0.9031</b>	0.7568
$T_{1Gd}$ vs $I/Eq$	<b>-0.8441</b>	<b>-0.9491</b>	<b>-0.9445</b>	<b>-0.8011</b>
$T_{1Gd}$ vs $\tau$	<b>0.8469</b>	<b>0.8610</b>	<b>0.9243</b>	<b>0.9053</b>
[Gd-DTPA] vs $I$	0.1577	0.1130	0.1819	0.2109
[Gd-DTPA] vs $Eq$	<b>-0.8732</b>	-0.6599	<b>-0.9466</b>	-0.1282
[Gd-DTPA] vs $I/Eq$	<b>0.9320</b>	<b>0.8219</b>	<b>0.9638</b>	-0.3707
[Gd-DTPA] vs $\tau$	<b>-0.8351</b>	-0.5739	<b>-0.9621</b>	-0.1440
$T_2$ vs $I$	0.1197	-0.2597	0.1554	0.0577
$T_2$ vs $Eq$	0.4717	0.3981	0.4842	0.3197
$T_2$ vs $I/Eq$	-0.4647	-0.3017	-0.4950	-0.5091
$T_2$ vs $\tau$	0.4085	0.4116	0.2747	0.3472
ADC vs $I$	0.3757	-0.1834	0.3406	0.1608
ADC vs $Eq$	-0.5236	-0.6427	0.0596	-0.3943
ADC vs $I/Eq$	0.2969	0.5567	-0.3282	0.5938
ADC vs $\tau$	-0.3975	-0.7262	0.0954	-0.3338

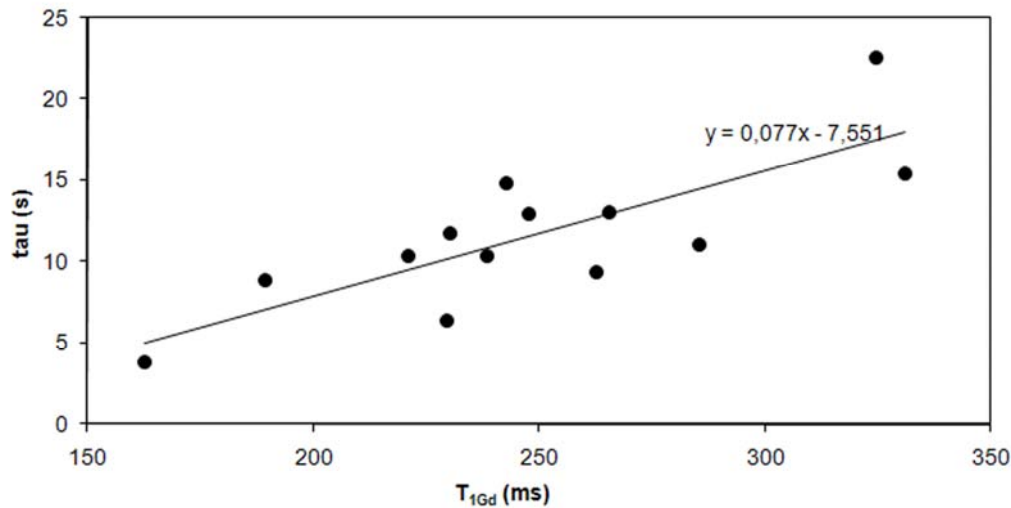
$I$ : momentálny modul (MPa),  $Eq$ : rovnovážny modul (MPa),  $\tau$ : čas relaxácie (s). Najdôležitejšie korelácie sú vysádzané tučným písmom.



Obr. 5.1 Závislosť medzi  $T_{1Gd}$  a rovnovážnym modulom (Eq) v poškodenej ľudskej kĺbovej chrupavke; Pearsonov koeficient  $r = 0,8095$ ; počet vzoriek 13. Cez hodnoty bola preložená lineárnou regresiou krivka  $Eq = 0,015 \times T_{1Gd} - 3,031$ .



Obr. 5.2 Závislosť medzi  $T_{1Gd}$  a pomerom I/Eq; Pearsonov koeficient  $r = -0,8441$ , počet vzoriek 13. Cez hodnoty bola preložená lineárnou regresiou krivka  $I/Eq = -0,153 \times T_{1Gd} + 57,49$ .



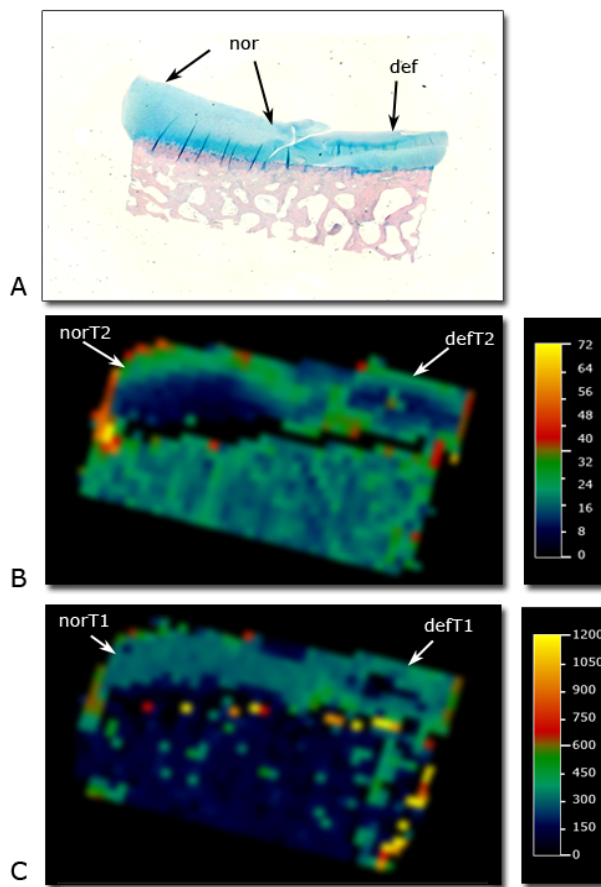
Obr. 5.3 Závislosť medzi  $T_{1Gd}$  a časom relaxácie  $\tau$  v poškodenej ľudskej kĺbovej chrupavke; Pearsonov koeficient  $r = -0,8469$ ; počet vzoriek 13. Cez hodnoty bola preložená lineárnou regresiou krivka  $\tau = -0,077 \times T_{1Gd} + 7,551$

## 5.2 Vyhodnotenie zrenia implantátov na modeli konských chrupaviek

V prípade  $T_1$  meraní boli pozorované nižšie hodnoty v hlbkej vrstve v porovnaní s povrchovou, a to v prípade natívnej aj transplantovanej chrupavky. Rozdiel medzi zdravou a transplantovanou časťou chrupavky nebol z hľadiska  $T_1$  hodnôt štatisticky signifikantný. Pred pridaním kontrastu bola rýchlosť relaxácie  $R_1$  ( $s^{-1}$ ) mierne nižšia v poškodenom tkanive ( $3.13 \pm 1.71$ ) v porovnaní so zdravým tkanivom ( $3.62 \pm 1.95$ ),  $p = 0,18$ . Po pridaní kontrastu bolo  $R_1$  vyššie v poškodenom tkanive ( $6.06 \pm 2.20$ ) v porovnaní so zdravým tkanivom ( $5.83 \pm 2.27$ ),  $p = 0,19$ . Porovnanie  $\Delta R_{1rel}$  a histologickými nálezmi ukázalo štatisticky signifikantné ( $p < 0,01$ ) rozdiely medzi hyalínou chrupavkou ( $\Delta R_{1rel} = 0.49 \pm 0.12$ ) a zmiešanou hyalínno-fibróznou ( $\Delta R_{1rel} = 0.88 \pm 0.09$ ). V prípade  $T_2$  kvantifikácie boli nájdené signifikantné rozdiely medzi povrchovou a hlbokou vrstvou chrupavky a rovnako aj medzi normálnou a transplantovanou chrupavkou ( $p < 0,001$ ). Kvalitatívne vyhodnotenie  $T_2$  (Tab. 5.2) ukázalo dobrú zhodu medzi organizovanosťou  $T_2$  cez jednotlivé vrstvy a typom chrupavky z histologického hľadiska (koeficient  $\kappa = 0,88$ ). Pri ADC boli opäť pozorované štatisticky signifikantné rozdiely hodnôt tak medzi jednotlivými vrstvami ako aj medzi natívnym a transplantovaným tkanivom. Príklad  $T_1$  a  $T_2$  mapy s vyznačenými oblasťami zdravej a transplantovanej chrupavky spolu s histologickým rezom je zobrazený na Obr. 5.4.

**Tab. 5.2 Kvalitatívne vyhodnotenie  $T_2$  vo vzorkách konských chrupaviek pre zdravé a transplantované tkanivo.**

Histologický nález	Počet vzoriek s normálnou vrstvovou organizáciou $T_2$	Počet vzoriek s porušenou vrstvovou organizáciou $T_2$
Hyalínna chrupavka	9	1
Hyalínno-fibrózna alebo fibrózna chrupavka	0	7



**Obr. 5.4 A:** Mikroskopická fotografia transplantovaného tkaniva v konskej chrupavke (MACT) s normálnym hyalínnym tkanivom (nor) a v pravej časti s transplantovaným tkanivom (def), ktoré vykazuje čiastočnú prítomnosť fibrínových vlákien (farbené alcianovou modrou, originálne zväčšenie,  $\times 1$ ); **B:** zodpovedajúca  $T_2$  mapa - zdravá časť chrupavky (nor $T_2$ ) s vysoko organizovanými  $T_2$  (vyššie hodnoty v povrchovej zóne postupne klesajúce smerom k hlbkej) a porušenou zónovou organizáciou v transplantovanom tkanive (def $T_2$ ); **C:**  $T_1$  mapa - nízke hodnoty  $T_1$  v oblasti poškodeného tkaniva (def  $T_1$ ) a normálne hodnoty v zdravej časti chrupavky (nor $T_1$ )

### 5.3 Vyhodnotenie vplyvu kompresie na MR parametre pomocou kinetickej štúdie

Pri vyhodnocovaní  $T_2$  meraní bol dosiahnutý koeficient variancie (CV %) pri dobrovoľníkoch v rozmedzí od 3 do 15 a od 2 do 13 pre hlbokú resp. povrchovú vrstvu chrupavky (RMSA bolo 7% pre obe vrstvy). Variabilita (CV, %) medzi posudzovateľmi bola dosiahnutá od 2 do 9 a od 2 do 10

pre hlbokú resp. povrchovú vrstvu chrupavky (RMSA bolo 7% v hlbkej vrstve a 6% v povrchovej).

### 5.3.1 Skupina dobrovoľníkov

Zonálna diferenciácia v chrupavkách v skupine dobrovoľníkov bola charakteristická pre zdravú chrupavku: postupne sa zvyšujúce hodnoty  $T_2$  smerom od hlbkej k povrchovej vrstve. V oblasti bez kontaktu chrupaviek (pri flexii kolenného kĺbu), hodnoty  $T_2$  sa signifikantne ( $p < 0.05$ ) zvýšili smerom od hlbkej ( $41.88 \pm 13.07$  ms) po povrchovú vrstvu ( $55.17 \pm 19.95$  ms). V oblasti, kde dochádzalo ku kontaktu chrupaviek (pri extenzii kolenného kĺbu) sa takisto relaxačný čas  $T_2$  zvýšil zo  $44.25 \pm 10.94$  ms (v hlbkej vrstve) na  $55.91 \pm 11.05$  ms (v povrchovej vrstve), pričom tento rozdiel bol opäť štatisticky signifikantný. Rozdiel medzi strednými hodnotami  $T_2$  v oblasti s kontaktom ( $50.03 \pm 10.84$  ms) a bez kontaktu ( $48.53 \pm 16.29$  ms) bol 1,56 ms a nebol štatisticky signifikantný ( $p > 0.05$ ). Hodnoty pre dobrovoľníkov sú zosumarizované v Tab. 5.3.

**Tab. 5.3** Priemerné hodnoty z vybratých oblastí záujmu v dobrovoľníkoch,  $T_2$  - transversálny relaxačný čas v ms, St. Od. - štandardná odchýlka

vrstva	Kontakt			Bez kontaktu		
	hlboká	povrchová	priemer	hlboká	povrchová	priemer
$T_2$	44.25	55.92	50.08	41.88	55.17	48.52
St. Od.	10.94	11.05	10.84	13.07	19.96	16.29

### 5.3.2 Skupina pacientov

U pacientov s transplantovaným tkanivom (MACT) boli hodnoty  $T_2$  v oblasti bez kontaktu signifikantne ( $p < 0.05$ ) vyššie v povrchovej vrstve ( $56.67 \pm 12.45$  ms) v porovnaní s hlbkou vrstvou ( $48.61 \pm 16.63$  ms). V oblasti s kontaktom chrupaviek bol pozorovaný mierny avšak štatisticky nesignifikantný pokles  $T_2$  smerom od povrchovej ( $48.41 \pm 9.2$  ms) po hlbokú ( $46.29 \pm 12.44$  ms) vrstvu. Pri porovnaní hlbkej vrstvy medzi oblasťami s kontaktom a bez nebol pozorovaný žiadny štatisticky signifikantný rozdiel, avšak pri povrchovej vrstve bol štatisticky signifikantný rozdiel medzi oblasťou s kontaktom ( $56.67 \pm 12.44$  ms) a bez kontaktu ( $48.41 \pm 9.32$  ms). Pri uvažovaní celej hrúbky chrupavky bola hodnota  $T_2$  v oblasti bez kontaktu vyššia ( $52.64 \pm 14.03$  ms) v porovnaní s oblasťou s kontaktom ( $47.32 \pm 10.40$  ms), avšak štatisticky nesignifikantne ( $p = 0.061$ ). Hodnoty pre pacientov sú zosumarizované v Tab. 5.4.

**Tab. 5.4** Priemerné hodnoty z vybratých oblastí záujmu u pacientov s MACT,  $T_2$  - transversálny relaxačný čas v ms, St. Od. - štandardná odchýlka

vrstva	Kontakt			Bez kontaktu		
	hlboká	povrchová	priemer	hlboká	povrchová	priemer
$T_2$	46.29	48.41	47.32	48.61	56.67	52.64
<b>St. Od.</b>	12.44	9.32	10.40	16.63	12.45	14.03

## 6. Záver a diskusia

Štúdium vzťahu MR parametrov a biomechanických vlastností degeneratívne poškodenej ľudskej kĺbovej chrupavky odhalilo vysokú koreláciu medzi niektorými MR parametrami ( $T_{1Gd}$ , koncentrácia Gd-DTPA) a biomechanickými parametrami (Eq,  $I/Eq$  a  $\tau$ ). Je všeobecne známe, že biomechanické vlastnosti kĺbovej chrupavky závisia od biochemického zloženia tkaniva, ultraštruktúrálnej organizácie a interakcie makromolekúl v kolagénovej sieti. Pretože zmena štruktúrálnych a biochemických vlastností chrupavky je jeden z prvých prejavov degeneratívneho poškodenia chrupavky, biochemické vlastnosti sú citlivé na patologické zmeny v chrupavke [16]. Popri biochemickej analýze kĺbovej chrupavky je aj mechanické testovanie užitočným ukazovateľom funkčnosti chrupavky. Mechanické testovanie kĺbových chrupaviek bolo uskutočnené v mnohých štúdiách, a to pomocou ohraničenej a neohraničenej kompresie a indentačných testov [17]. V niektorých štúdiách boli navrhnuté špeciálne zariadenia na mechanické testovanie [18; 19]. Úspešné mechanické testovanie chrupaviek *in-vivo* počas artroskopie bolo publikované v štúdií Lyyra a kol [20], avšak táto metóda má určité nedostatky, najmä z dôvodu invazívnej povahy tejto procedúry.

Hodnoty okamžitého ( $I$ ) a rovnovážneho ( $Eq$ ) modulu v tejto práci boli v dobrej zhode s výsledkami publikovanými v minulosti [21]. Pomer medzi  $I$  a  $Eq$  predstavuje veličinu, ktorá určuje viskoelastický charakter tkaniva kĺbovej chrupavky. V tejto štúdií boli skúmané chrupavky v rôznom štádiu osteoartritídy, dá sa preto očakávať rôzny obsah glykózaminoglykánov v tkanive. Čím nižší je pomer  $I/Eq$ , tým lepšie mechanické vlastnosti má chrupavka. Výsledky tejto štúdie preto naznačujú, že strata glykózaminoglykánov úzko súvisí s pevnosťou a vitalitou chrupavky.

Výsledky druhej časti tejto práce poukazujú na to, že pomocou niektorých MR parametrov je možné sledovať vývoj transplantovanej časti chrupavky v čase a jej kvalitatívne zrenie. Glykózaminoglykány obsahujú bočné skupiny, ktoré definujú záporný náboj týchto molekúl. Po administrácii záporne nabitej kontrastnej látky ( $Gd-DTPA^{2-}$ ) sa táto distribuuje v oblastiach s menším obsahom glykózaminoglykánov. Preto nízke hodnoty  $T_1$  merané po aplikácii kontrastnej látky indikujú nízky obsah glykózaminoglykánov. Pre kvantitatívne vyhodnocovanie zrenia tkaniva chrupavky po transplantácii je vhodný odvodený parameter,  $\Delta R_{1rel}$ , ktorý je vypočítaný z rýchlostí pozdĺžnej relaxácie v zdravom a transplantovanom tkanive toho istého subjektu [22]. Pri vývoji chrupavkového transplantátu v čase je možné predpokladať postupné upravovanie množstva proteoglykánov a približovanie sa k fyziologickým hodnotám. V našej štúdií boli pozorované minimálne zmeny  $T_{1post}$  medzi transplantovaným a zdravým tkanivom, avšak pomocou

$\Delta R_{rel}$  bolo možné štatisticky signifikantne odlišiť typ tkaniva (hyalínne od fibrózneho). Malé zmeny  $T_{1post}$  môžu znamenať, že množstvo proteoglykánov v transplantovanom tkanive sa po určitom čase zrenia (v našom prípade 14 týždňov) približuje k množstvu v zdravej chrupavke. Tieto výsledky súhlasia s výsledkami v publikovaných štúdiách [3; 23].

V tretej časti tejto práce sme zistili, že  $T_2$  hodnoty boli rozdielne v natívnom a transplantovanom tkanive v dôsledku pôsobenia reaktívnych síl, ktoré sa objavujú v kontaktných zónach chrupaviek počas flexie a extenzie (aj bez zaťaženia kĺbu). Pri porovnaní oblastí s kontaktom s oblasťami bez kontaktu sa ukázal štatisticky signifikantný pokles  $T_2$  v povrchovej vrstve chrupavky. Jeden z významných prínosov tejto štúdie bola implementácia flexibilnej kolennej cievky s použitím špeciálneho polohovacieho zariadenia. Toto umožnilo urobiť MR vyšetrenia v rôznych stupňoch flexie kolenného kĺbu. Stupeň flexie mohol byť nastavený s veľkou presnosťou ( $\sim 1^\circ$ ), čo umožnilo merať kolenný kĺb v celom rozsahu jeho pohybu. Jediným obmedzením bol priemer otvoru magnetu. Merania boli reprodukovateľné s nízkym koeficientom variácie (CV) - medzi hodnotiteľmi to bolo menej ako 7% a medzi meranými objektmi práve 7%.  $T_2$  je perspektívny ukazovateľ zmien v transplantovanom tkanive v rôznych štádiách zrenia pri porovnaní so zdravým tkanivom. Jedným s obmedzením našej štúdie môže byť limitácia maximálnej flexie v dôsledku otvoru magnetu. Flexia vo vyšších uhloch by potenciálne mohla priniesť ďalšiu informáciu pri vyhodnocovaní pacientov po MACT, ale vo väčšine klinických MR zariadení nie je možný ohyb dolnej končatiny o viac ako 40 stupňov.



## 7. Využitie výsledkov práce v praxi

Výsledky prvej časti tejto práce ukázali, že pomocou niektorých parametrov získaných pomocou MRI (najmä  $T_1$  merané za prítomnosti kontrastnej látky), je možné odhadnúť biomechanické vlastnosti ľudskej kĺbovej chrupavky v rôznych stupňoch degeneratívneho poškodenia. Z hľadiska diagnostiky poškodení kĺbových chrupaviek je zaujímavá najmä neinvazívna povaha zobrazovania pomocou MR. Schopnosť ľudskej kĺbovej chrupavky vykonávať svoje základné funkcie je priamo spojená s mechanickými vlastnosťami tkaniva. Kvantifikácia zmien mechanických vlastností chrupavky pri degeneratívnych ochoreniach chrupaviek je v bežnej praxi pomerne zložitá, väčšinou sa testy vykonávajú počas otvorených operácií (napr. artroskopii). Nepriame určenie biomechanických vlastností chrupavky pomocou MR spolu s bežnými biochemickými MR analýzami (dGEMRIC,  $T_2$ , ADC) má významné ekonomické a z hľadiska pacienta aj psychologické výhody.

Okrem diagnostiky degeneratívnych poškodení má MRI výrazný potenciál aj pri sledovaní postoperatívneho stavu pacientov po transplantácií tkaniva chrupavky. V druhej časti tejto práce boli navrhnuté a overené metódy na sledovanie zrenia MACT transplantátov na modeli konských chrupaviek pomocou MRI. Neinvazívna povaha MR vyšetrenia odbremeňuje pacienta od operatívnych zákrokov, navyše umožňuje častejšiu periodicitu vyšetrení, čo zvyšuje pravdepodobnosť odhalenia potenciálnych problémov chrupavkového štepu či už vo fáze uchytávania alebo zrenia.

Výsledky tretej časti štúdie potvrdili klinickú realizovateľnosť a reprodukovateľnosť kinematického biochemického MR vyšetrenia. Na základe signifikantnej zmeny  $T_2$  v oblasti kontaktu chrupaviek počas flexie medzi zdravým a transplantovaným tkanivom je možné stanoviť vývoj transplantátu v čase. Táto metóda má veľký potenciál v klinickom monitoringu úspešnosti chirurgických opráv traumatických kĺbových poškodení.

## 8. Referencie použité v autoreferáte

- [1] H. Sittek, F. Eckstein, A. Gavazzeni, S. Milz, B. Kiefer, E. Schulte, and M. Reiser, Assessment of normal patellar cartilage volume and thickness using MRI: An analysis of currently available pulse sequences. *Skeletal Radiology* 25 (1996) 55-62.
- [2] J.D. Rubenstein, J.K. Kim, I. Morova-Protzner, P.L. Stanchev, and R.M. Henkelman, Effects of collagen orientation on MR imaging characteristics of bovine articular cartilage. *Radiology* 188 (1993) 219-26.
- [3] S. Trattnig, S. Marlovits, S. Gebetsroither, P. Szomolanyi, G.H. Welsch, E. Salomonowitz, A. Watanabe, M. Deimling, and T.C. Mamisch, Three-dimensional delayed gadolinium-enhanced MRI of cartilage (dGEMRIC) for in vivo evaluation of reparative cartilage after matrix-associated autologous chondrocyte transplantation at 3.0T: Preliminary results. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 26 (2007) 974-982.
- [4] S. Trattnig, T.C. Mamisch, K. Pinker, S. Domayer, P. Szomolanyi, S. Marlovits, F. Kutscha-Lissberg, and G.H. Welsch, Differentiating normal hyaline cartilage from post-surgical repair tissue using fast gradient echo imaging in delayed gadolinium-enhanced MRI (dGEMRIC) at 3 Tesla. *European Radiology* 18 (2008) 1251-1259.
- [5] Y.J. Kim, D. Jaramillo, M.B. Millis, M.L. Gray, and D. Burstein, Assessment of early osteoarthritis in hip dysplasia with delayed gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging of cartilage. *Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume* 85A (2003) 1987-1992.
- [6] S. Vaga, M.T. Raimondi, E.G. Caiani, F. Costa, C. Giordano, F. Perona, A. Zerbi, and M. Fornari, Quantitative assessment of intervertebral disc glycosaminoglycan distribution by gadolinium-enhanced MRI in orthopedic patients. *Magnetic Resonance in Medicine* 59 (2008) 85-95.
- [7] T.J. Mosher, and B.J. Dardzinski, Cartilage MRI T2 relaxation time mapping: Overview and applications. *Seminars in Musculoskeletal Radiology* 8 (2004) 355-368.
- [8] G.H. Welsch, T.C. Mamisch, S.E. Domayer, R. Dorotka, F. Kutscha-Lissberg, S. Marlovits, L.M. White, and S. Trattnig, Cartilage T2 assessment at 3-T MR imaging: In vivo differentiation of normal hyaline cartilage from reparative tissue after two cartilage repair procedures - Initial experience. *Radiology* 247 (2008) 154-161.
- [9] T. Hughes, G. Welsch, and S. Trattnig, T2-star relaxation as a means to differentiate cartilage repair tissue after microfracturing therapy. *Intern Soc MagnReson Med* 15 (2007) 183.
- [10] R.C. Appleyard, D. Burkhardt, P. Ghosh, R. Read, M. Cake, M.V. Swain, and G.A.C. Murrell, Topographical analysis of the structural, biochemical and dynamic biomechanical properties of cartilage in an ovine model of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage* 11 (2003) 65-77.
- [11] A.K. Williamson, A.C. Chen, K. Masuda, E.J.M.A. Thonar, and R.L. Sah, Tensile mechanical properties of bovine articular cartilage: variations with growth and relationships to collagen network components. *Journal of Orthopaedic Research* 21 (2003) 872-880.
- [12] M.T. Nieminen, J. Toyras, M.S. Laasanen, J. Silvennoinen, H.J. Helminen, and J.S. Jurvelin, Prediction of biomechanical properties of articular cartilage with quantitative magnetic resonance imaging. *Journal of Biomechanics* 37 (2004) 321-328.
- [13] J.E. Kurkijarvi, M.J. Nissi, I. Kiviranta, J.S. Jurvelin, and M.T. Nieminen, Delayed gadolinium-enhanced MRI of cartilage (dGEMRIC) and T-2 characteristics of human knee articular cartilage: topographical variation and relationships to mechanical properties. *Magnetic Resonance in Medicine* 52 (2004) 41-46.
- [14] M.J. Nissi, J. Rieppo, J. Toyras, M.S. Laasanen, I. Kiviranta, M.T. Nieminen, and J.S. Jurvelin, Estimation of mechanical properties of articular cartilage with MRI - dGEMRIC,

- T-2 and T-1 imaging in different species with variable stages of maturation. *Osteoarthritis and Cartilage* 15 (2007) 1141-1148.
- [15] M. Rohrer, H. Bauer, J. Mintorovitch, M. Requardt, and H.J. Weinmann, Comparison of magnetic properties of MRI contrast media solutions at different magnetic field strengths. *Investigative Radiology* 40 (2005) 715-724.
- [16] J.A. Buckwalter, V.C. Mow, and A. Ratcliffe, Restoration of Injured or Degenerated Articular Cartilage. *J Am Acad Orthop Surg* 2 (1994) 192-201.
- [17] M. LaBerge, Mechanical testing of cartilage. In: *Animal Models in Orthopaedic Research*. Boca Raton, FL: CRC Press, (1999) 165–174.
- [18] J.S. Jurvelin, M.D. Buschmann, and E.B. Hunziker, Optical and mechanical determination of Poisson's ratio of adult bovine humeral articular cartilage. *Journal of Biomechanics* 30 (1997) 235-241.
- [19] M. Stolz, R. Raiteri, A.U. Daniels, M.R. VanLandingham, W. Baschong, and U. Aebi, Dynamic elastic modulus of porcine articular cartilage determined at two different levels of tissue organization by indentation-type atomic force microscopy. *Biophysical Journal* 86 (2004) 3269-3283.
- [20] T. Lyyra, J. Jurvelin, P. Pitkanen, U. Vaatainen, and I. Kiviranta, Indentation Instrument for the Measurement of Cartilage Stiffness under Arthroscopic Control. *Medical Engineering & Physics* 17 (1995) 395-399.
- [21] R.L. Mauck, M.A. Soltz, C.C.B. Wang, D.D. Wong, P.H.G. Chao, W.B. Valhmu, C.T. Hung, and G.A. Ateshian, Functional tissue engineering of articular cartilage through dynamic loading of chondrocyte-seeded agarose gels. *Journal of Biomechanical Engineering-Transactions of the Asme* 122 (2000) 252-260.
- [22] A. Watanabe, Y. Wada, T. Obata, T. Ueda, M. Tamura, H. Ikehira, and H. Moriya, Delayed gadolinium-enhanced MR to determine glycosaminoglycan concentration in reparative cartilage after autologous chondrocyte implantation: Preliminary results. *Radiology* 239 (2006) 201-208.
- [23] S. Trattng, A. Ba-Ssalamah, K. Pinker, C. Plank, V. Vecsei, and S. Marlovits, Matrix-based autologous chondrocyte implantation for cartilage repair: noninvasive monitoring by high-resolution magnetic resonance imaging. *Magnetic Resonance Imaging* 23 (2005) 779-787.

## 9. Zoznam publikácií autora dizertačnej práce

### Publikácie v karentovaných časopisoch

1. **V. Juráš**, G. H. Welsch, S. Millington, P. Szomolányi, C. T. Mammisch, K. Pinker, S. Trattmig, Kinematic biomechanical assessment of human articular cartilage transplants in the knee using 3-T MRI: an in vivo reproducibility study, *European Radiology*, 2009, In Press
2. **V. Juráš**; M. Bittsanský, Z. Majdišová, P. Szomolányi, I. Sulzbacher, S. Gäbler; J. Stampfl, G. Schüller; S. Trattmig, In vitro Determination of Biomechanical Properties of Human Articular Cartilage in Osteoarthritis Using Multi-parametric MRI, *Journal of Magnetic Resonance*, 2009, In Press
3. I. Frollo, P. Andris, J. Přibíl, **V. Juráš**, Indirect Susceptibility Mapping of Thin-Layer Samples Using Nuclear Magnetic Resonance Imaging, *IEEE Transactions on Magnetics*, Vol. 43, No. 8, 2007, pp. 3363 - 3367

### Publikácie v ostatných časopisoch

1. **V. Juráš**., I. K. Haverlík, Discrete Mathematical Model of Simulation of Autowave Processes in Biomembranes, *Measurement Science Review*, Volume 6, Section 1, No. 5, pp. 58-64
2. I. Frollo, P. Andris, **V. Juráš**, Z. Majdišová, Imaging of Magnetic Field Distribution Using Thin-Layer Magnetic Resonance Method, *Journal of Electrical Engineering*, Vol 57, No 8/S, 2006, pp. 21-24
3. **V. Juráš**, M. Bittšanský, Z. Majdišová, S. Trattmig, In-Vitro Evaluation of Pre- and Post-Compression States of Human Articular Cartilage Using MRI at 3 Tesla, *Measurement Science Review*, Volume 7, Section 2, 2007, pp. 39-42
4. **V. Juráš**, P. Szomolányi, Z. Majdišová, S. Trattmig; MR-Compatible Compression Device for In-Vitro Evaluation of Biomechanical Properties of Cartilage; *Journal of Biomechanical Science and Engineering*, Vol. 3 (2008) , No. 2 Special Issue on Cardiovascular Flow and Cell Biomechanics, pp. 200-208

## Príspevky na konferenciách

1. I. Frollo, P. Andris, **V. Juráš**, I. Strolka Thin-Layer Magnetic Resonance Imaging Based on Magnetic Susceptibility Pattern Projections, 5th International Conference on Measurement, Smolenice, 2005
2. I. Frollo, P. Andris, **V. Juráš**, Z. Majdišová Imaging of Magnetic Field Distribution Using Thin-Layer Magnetic Resonance Method, Magnetic Measurement'06 International Conference, Z.Poruba, 21-23. Sept. 2006. The Book of Abstracts, pp. 22-23
3. F. Dubecký, B. Zařko, I. Frollo, **V. Juráš**, J. Přibil, J. Jakubek, J. Mudroň, First results observed with test X-CT system using GaAs radiation detector working in single photon counting regime, ASDAM 2006, pp. 213-216
4. **V. Juráš**, M. Bittšanský, Z. Majdišová, S. Trattinig; In Vitro Measurement of MR Parameters Before and After Compression of Human Articular Cartilage at 3 Tesla, International Conference Measurement 2007, Smolenice, Slovakia, 2007
5. Z. Majdišová, P. Szomolányi, **V. Juráš**, S. Trattinig. Nude-mouse Model of Human Articular Cartilage In-vitro Maturation Study. MEASUREMENT 2007, Proceedings of the 6th International Conference, Smolenice, Slovakia, 2007. pp. 437-441
6. **V. Juráš V.**, M. Bittšanský, Z. Majdišová, S. Trattinig, High resolution multiparametric MR compression study of human articular cartilage at 3 Tesla using unique compression device; International Cartilage Repair Society Meeting, Warsaw, Poland, 2007
7. **V. Juráš**, Z. Majdišová, M. Bittšanský, S. Trattinig; In vitro human cartilage compression study at 3 Tesla using unique compression device; European Congress of Radiology (ECR), Vienna, Austria, March 7-11, 2008
8. I. M. Noebauer-Huhmann, O. Kraff, **V. Juráš**, P. Szomolányi, S. Maderwald, V. Mlynarik, J. M. Thyesson, S. C. Ladd, M. E. Ladd, S. Trattinig; MR Contrast Media at 7 Tesla - Preliminary Study on Relaxivities; ISMRM 2008, Toronto, Canada, May 3-9, 2008
9. Z. Majdišová, P. Szomolányi, **V. Juráš**, S. Trattinig; MRI Study of the Repair Tissue Following ACI in the Defect of the Human Cartilage Specimens; ISMRM 2008, Toronto, Canada, May 3-9, 2008
10. **V. Juráš**, P. Szomolányi, Z. Majdišová, S. Trattinig; Assessment of T1 and T2 MRI Parameters as Predictors of Cartilage Implants Maturation: The Equine Subject Study; ISMRM 2008, Toronto, Canada, May 3-9, 2008

## 10. Summary

Human articular cartilage carries out essential function in human body - it decreases friction during joint movement, absorbs the pressure during joint loading and increases the congruency of contact areas. The lower functionality of the cartilage from any reason results in failed joint mobility, chronic pain and in worst cases in complete joint dysfunction. Nowadays, the most common reason of cartilage damage is, besides the traumatic lesion, complex chronic disease called osteoarthritis. Demographic development of the human population implies the impact of this disease will increase with time. There is an effort of investigators to better understand the origin of osteoarthritis and to improve the treatment. Early diagnosis of cartilage impairments and monitoring of treatment results are also of a great importance. MRI offers a powerful tool for non-invasive diagnosis of articular cartilage damage and has a potential to monitor the development of the cartilage tissue after the surgical and medicamentous treatment. The aim of this thesis was to contribute to the functional MRI of articular cartilage by introducing of three new approaches. The first part of this work deal with potential correlation of biomechanical properties of articular cartilage and biochemical parameters acquired by MRI. Statistical significant correlation between these parameters was found. This can bring new information to currently evaluated MR parameters like relaxation times and diffusion. The most important was the correlation between longitudinal relaxation time measured in the presence of contrast agent ( $T_{1Gd}$ ) and equilibrium modulus ( $E_q$ ) which is strongly related to the osteoarthritis stage. In the second part of this work was suggested the new approach for monitoring of MACT (matrix-associated autologous chondrocyte transplantation) implant maturation using quantitative and qualitative MR parameters evaluation. This approach was proved in-vitro in the equine model. It was shown that the degree of implant maturation correlates with quantitative assessment of transversal relaxation time ( $T_2$ ) and relative relaxation rate ( $R_{1rel}$ ) which is calculated from  $T_1$  and  $T_{1Gd}$ . Moreover, the clinical examination of patients after MACT was suggested and proved in the third part of this work. This approach consists in the measurements of knee joint in different angle of flexion which is accompanied by contact areas between the cartilages of femur and tibia. Measurements were performed using special flexible knee coil. Unequal physiological response of healthy and repair cartilage tissue expressed by  $T_2$  assessment reflects the status of cartilage implant maturation. New approaches of cartilage examination using MRI have a great potential to improve non-invasive diagnosis of degenerative and traumatic impairments and to monitor the development of the cartilage repair tissue.

