

К-20

1

ТОМ XII

2011

СТОМАТОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ



ВНИМАНИЕ!

21-22 мая 2011

Симпозиум «Ортодонтические аспекты
в повседневной практике врача-стоматолога ортопеда»

Подробнее читайте на стр. 9

Экспериментальное обоснование эффективности применения лазерно-оптического метода в диагностике болезней пародонта

Рубникович С.П.,
д. мед. наук, доцент
кафедры стоматологической
стоматологии БГМУ

Болезни пародонта являются одной из наиболее важных проблем современной стоматологии. По данным экспертов ВОЗ (1990), у лиц в возрасте от 35 до 44 лет уровень болезней пародонта составляет от 65 до 98%, а в возрасте 13–19 лет от 55 до 95%. В Республике Беларусь болезни пародонта выявлены у 92,5% в возрасте 35–44 года [2].

Широкий объем и повышение качества оказания стоматологической помощи, дальнейшее развитие и внедрение в практику новых методов лечения стоматологических больных поставили перед стоматологией новые задачи по всестороннему и углубленному обследованию тканей челюстно-лицевой области.

Учитывая, что система микроциркуляции является основным звеном, обеспечивающим метаболический гомеостаз в органах и тканях, в последнее время при изучении патогенеза пародонтита все большее внимание уделяется ее состоянию, так как данная система играет ключевую роль в трофическом обеспечении тканей пародонта. В связи с этим, всестороннее изучение кровоснабжения тканей пародонта приобретает важное значение [1, 3, 5].

В стоматологии для диагностики и контроля за эффективностью лечения болезней пародонта используют многочисленные клинико-лабораторные методы (лазерная и ультразвуковая доплерография, реопародонтография, биомикроскопия, фотоплетизмография, гистохимические и другие методы исследования). Однако они

имеют ряд недостатков, которые затрудняют получение достоверной объективной оценки состояния микроциркуляции пародонта и, тем более, возможность прогнозирования результатов лечения [3, 4].

В связи с этим, возникла необходимость в разработке новых специальных методов лазерной оптической диагностики, поскольку многие методики устарели, мало информативны, не решают весьма важные задачи по раннему выявлению скрытых проявлений патологического процесса в тканях ротовой полости и зубочелюстной системы и прогнозированию исхода заболеваний [6–8].

Лазерное исследование биотканей является чрезвычайно важным и быстро развивающимся междисциплинарным направлением на стыке лазерной физики, оптики рассеивающих сред, биофизики и инженерной физики, включая современные методы диагностики и контроля, основанные на глубокой компьютерной обработке результатов измерений в режиме реального времени. Стремительное развитие этого направления в последние два десятилетия стимулировалось успехами в лазерной технике и цифровых технологиях ввода когерентных изображений в ПЭВМ с использованием ПЗС-камер в сочетании с опытом накопления огромных массивов экспериментальной информации и ее статистического анализа. Такие методы исследования получили названия цифровая динамическая спекл-фотография. В результате рассеяния когерентного

EXPERIMENTAL
SUBSTANTIATION
OF EFFICIENCY
OF APPLICATION
OF LASER-OPTICAL
METHODS IN DIAGNOSTICS
OF ILLNESSES
OF A PARODONTIUM

S. Rubnikovich

The experimental
substantiation on
application of
laser-optical method
of a digital
spect-photometry in
estimation
of illnesses of a
parodontium is spent.

Experimental substantiation of a periodontal diseases and morphological parameters

излучения в диффузном объекте и 3-мерной интерференции рассеянного излучения формируется спекл-поле, состоящее из мельчайших гранул излучения, спеклов, имеющих характерные размеры порядка 1–2 мкм. Аналогичные спекл-поля создаются также и при рассеянии лазерного излучения биотканями. Так, видимый свет, проникая на глубину 1–2 мм в кожу человека, рассеивается на эритроцитах крови, протекающей в мельчайших капиллярах ткани. В результате процессов многократного рассеяния формируется динамическое био-спекл-поле, изменяющееся в пространстве и во времени в результате движения эритроцитов [9–11].

В настоящее время не изучены вопросы ранней неинвазивной диагностики локального уровня микроциркуляции в поверхностных тканях ротовой полости в реальном масштабе времени и с высоким пространственным разрешением. Применение лазерно-оптических методов посредством цифровой динамической спекл-фотографии с использованием лазеров и цифровой техники позволило нам разработать технологию измерения интенсивности кровотока микроциркуляторного русла тканей периодонта (патент на изобретение РБ №13188 от 30.04.2010 г.). Методика ее применения у пациентов утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь (№ 041-0410 от 06.05.2010) и разрешена для практического использования.

Цель работы — экспериментальное обоснование применения лазерно-оптического метода (ЛОМ) посредством цифровой динамической спекл-фотографии в функциональной оценке болезней периодонта.

Материал и методы. Для определения достоверности и информативности разработанной методики определения микроциркуляции в тканях периодонта с применением ЛОМ проведены экспериментальные исследования на животных. Экспериментальное моделирование воспаления в тканях периодонта изучали на 60 крысах линии Вистар, с помощью лигатурного метода под общей анестезией. Сущность метода состояла в наложении лигатур в области зубов нижней челюсти в специально высверленных бороздках вокруг шейки каждого зуба. Бороздки располагали на 1–2 мм выше десневого края. Наложение лигатур в таком местоположении способствовало образованию микробного налета и развитию воспаления в тканях периодонта. Животных выводили из опыта под наркозом и забор материала для микроскопических исследований проводили через каждые сутки в течение 10 дней. До и после наложения лигатур у экспериментальных животных каждые сутки в течение 10 дней в тканях периодонта проводили оценку клинического, функционального и морфологического состояния тканей десны. Оценка

клинического состояния тканей периодонта проводили по определению цвета, плотности десневого края, кровоточивости при зондировании, образованию и измерению глубины периодонтальных карманов.

Микроциркуляторное состояние исследуемых тканей периодонта определяли в области зубов нижней челюсти. Интенсивность микроциркуляции крови в десне высчитывали с помощью специальной компьютерной программы в условных единицах. Качественную и количественную оценку гемодинамики микрососудов осуществляли с помощью цифровой динамической спекл-фотографии (рис. 1).

Морфологические исследования проводили на материале слизистой-надкостничного лоскута (14–15 мм²) отростка нижней челюсти в области наложения лигатур. Иссеченные участки десны крысы фиксировали в 10% нейтральном формалине в течение 48 ч. Затем промывали в проточной воде в течение 24 ч, обезживали в спиртах восходящей концентрации (70, 80, 96°, абсолютный спирт). Далее материал проводили через спирт-хлороформ, хлороформ, хлороформ-парафин и заливали в парафин. Из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 4–5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Изучение микропрепаратов и изготовление микрофотографий проводили с помощью микроскопа DMLS с программным обеспечением («Leica», Германия).

Изучали субклеточные и молекулярные механизмы повреждения эндотелия микрососудов и клеточных элементов соединительнотканых структур биоптатов десны крыс.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В первые сутки после наложения лигатур у экспериментальных животных было хорошее клиническое состояние десны без патологических изменений (рис. 2).

При микроскопических исследованиях выявлено, что эпителий слизистой в свободной и прикрепленной частях десны относительно равномерно тонкий, очагово утолщен, в большей степени в свободном сегменте. Эпителиальные гребешки преимущественно широкие и низкие, отдельные удлинены, соответствующую структуру имеют и соединительнотканые (СТ) сосочки собственной пластинки слизистой оболочки (СПСО). Базальная мембрана прослеживается нечетко. Выявляются неравномерной толщины все слои эпителия. Базальный слой представлен 1–2 рядами низких кубических или удлиненных гиперхромных клеток, местами расположенных в виде частотола; отдельные базальные клетки с везикулярной цитоплазмой. Шиповатые клетки расположены неравно в 1–2–3 ряда, полиочагово отмечается элиминация шиповатых клеток, и

в таких участках клетки зернистого слоя примыкают к базальному. Зернистые клетки по большей части удлиненные с обилием в их цитоплазме пылевидных гранул кератогиалина, ядра таких клеток не прослеживаются или выявляются их «тени». Полиочагово отмечается заметное утолщение данного слоя, гипертрофия зернистых клеток, везикуляция цитоплазмы, фрагментация ядер и обилие мелких и, преимущественно, глыбчатых гранул кератогиалина. Роговой слой равномерно тонкий, клетки в нем неразличимы. Выявляются очаги усиленного ортокератоза (гиперкератоза) с формированием по наружной поверхности кистозно-подобных углублений в эпителии, заполненных роговыми массами. Собственная пластинка слизистой оболочки представлена неоформленной соединительной тканью, более рыхлой в сосочковом слое и нечетко отграниченным сетчатым слоем, представленным плотной неоформленной СТ, с более объемными коллагеновыми волокнами (КВ). СТ обоих слоев малоклеточная, выявляются в основном фиброциты и фибробласты, а также единичные лимфоциты, гистиоциты, плазматические клетки, эозинофильные моноциты. В толще СПСО выявляются расположенные «гнездно» или изолированно (по одиночке) диффузно разбросанные артериальные капилляры без компонентов крови и с набухшими эндотелиоцитами. Встречаются единичные венозные капилляры, слабо полнокровные; периадвентициты весьма малочисленные (рис. 3).

Показатели интенсивности микроциркуляции крови в десне, по данным ЛОМ, составляли от 28 до 35 УЕ, что соответствовало норме и показателям контрольной группы (рис. 4).

На четвертые сутки после наложения лигатур у экспериментальных животных было хорошее клиническое состояние десны без патологических изменений. Гистологическое строение тканей периодонта без выраженных патологических изме-

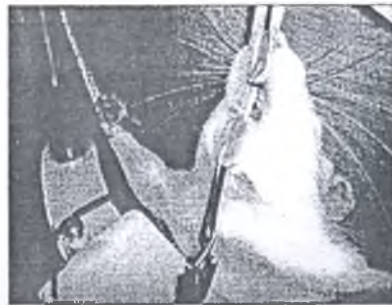


Рис. 1. Определение микроциркуляции сосудов десны крысы лазерно-оптическим методом



Рис. 2. Клиническая картина десны крысы в первые 4 сутки соответствует норме

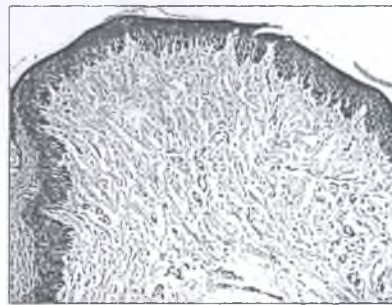


Рис. 3. Слизистая оболочка свободной и прикрепленной десны в первые и четвертые сутки. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200

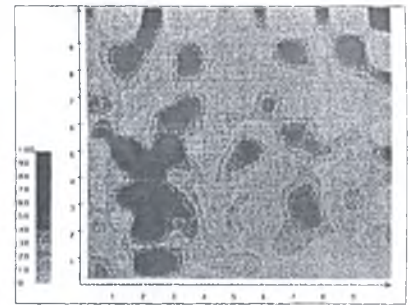


Рис. 4. Контраст интенсивности микроциркуляции десны крысы в первые 4 сутки

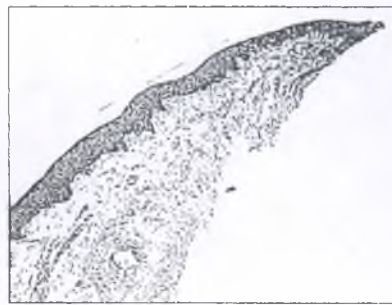


Рис. 5. Морфологические признаки начала воспаления в слизистой оболочке десны на 5 сутки после наложения лигатур. Очаги везикуляции цитоплазмы базофильных клеток, элиминации шиповатых и зернистых клеток (в свободном сегменте); минимально-выраженный ортокератоз. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 100

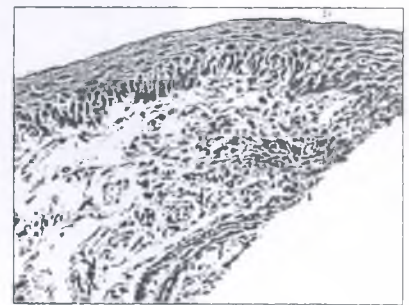


Рис. 6. Морфологические признаки начала воспаления в слизистой оболочке десны на 5 сутки после наложения лигатур. Выраженное набухание эндотелиоцитов в таких капиллярах и десквамация отдельных клеток. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400

нений. Однако у двух животных из шести отмечается очаговое венозное полнокровие от умеренного до выраженного, слабовыраженный периваскулярный отек.

Показатели интенсивности микроциркуляции крови в десне у этих двух исследуемых животных на 4 сутки

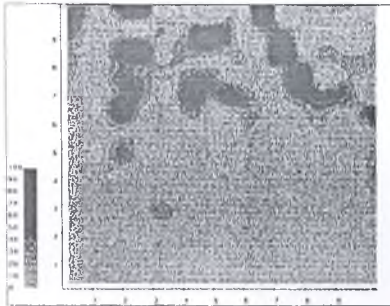


Рис. 7. Контраст интенсивности микроциркуляции десны крысы на 5 сутки. Ув. 100



Рис. 8. Клиническая картина воспаления в десне крысы на 10 сутки после наложения лигатур



Рис. 9–11. Морфологические признаки воспаления тканей периодонта у экспериментальных животных на 10 сутки после наложения лигатур. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 100–400

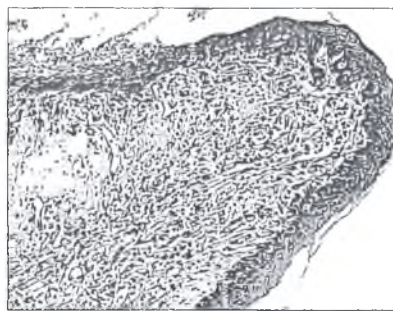


Рис. 10.

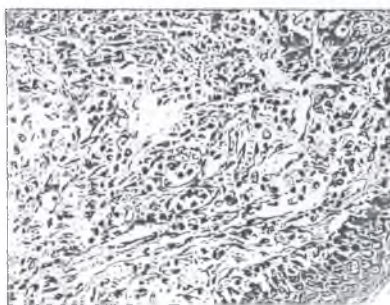


Рис. 11.

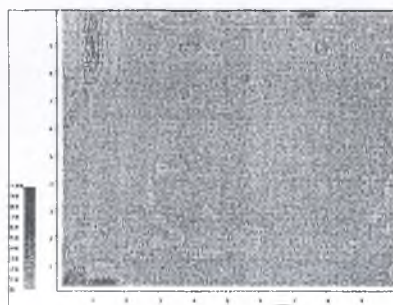


Рис. 12. Контраст интенсивности микроциркуляции десны крысы на 10 сутки после наложения лигатур

после наложения лигатур, по данным ЛОМ, составляли от 20 до 24 УЕ.

На 5 сутки после наложения лигатур у экспериментальных животных клинические признаки воспаления десны отсутствовали, отмечалось хорошее клиническое состояние десны.

Однако проведенные экспериментальные исследования на животных показали, что возникали первые

морфологические признаки начала воспаления. Микроскопическими исследованиями выявлено, что в свободном и прикрепленном сегментах десны отмечается сглаженность эпителиальных гребешков и, соответственно, СТ-сосочков СПСО; выявляются очаги везикуляции цитоплазмы базофильных клеток, элиминации шиповатых и зернистых клеток (в свободном сегменте); минимально-выраженный ортокератоз (рис. 5). Базальная мембрана не прослеживается. Отек и разволокнение сосочкового (преимущественно) и (в меньшей мере) сетчатого слоев СПСО. Незначительное и неравномерное увеличение количества объемных фибробластов, встречаются единичные в поле зрения (ув. 10x40) лимфоциты, моноциты, гистиоциты, плазматические клетки. В отечной СПСО выявляются цепочки и изолированно полнокровные венозные и артериальные капилляры (до 5–6 в п. зрения; ув. 10x40), отмечается выраженное набухание эндотелиоцитов в таких капиллярах и десквамация отдельных клеток (рис. 6). В свободном и прикрепленном сегментах десны отмечается сглаженность эпителиальных гребешков и, соответственно, СТ-сосочков СПСО; выявляются очаги везикуляции цитоплазмы базофильных клеток, элиминации шиповатых и зернистых клеток (в свободном сегменте); минимально-выраженный ортокератоз (рис. 7). Базальная мембрана не прослеживается. Отек и разволокнение сосочкового (преимущественно) и (в меньшей мере) сетчатого слоев СПСО. Незначительное и неравномерное увеличение количества объемных фибробластов, встречаются единичные в поле зрения (ув. 10x40) лимфоциты, моноциты, гистиоциты, плазматические клетки. В отечной СПСО выявляются цепочки и изолированно полнокровные венозные и артериальные капилляры (до 5–6 в п. зрения; ув. 10x40), отмечается выраженное набухание эндотелиоцитов в таких капиллярах и десквамация отдельных клеток (рис. 6).

Показатели интенсивности микроциркуляции крови в десне у исследуемой группы на 5 сутки после наложения лигатур, по данным ЛОМ, составляли от 1 до 21 УЕ (рис. 7).

На 10 сутки после наложения лигатур явные признаки воспаления тканей периодонта у экспериментальных животных по всем исследуемым критериям (клинический, функциональный, морфологический) выявлены. Клинические признаки воспаления соответствовали периодонтиту (рис. 8).

Микроскопическими исследованиями выявлено, что в срезах прикрепленная и свободная части десны. Эпителий десны неравномерно истончен за счет элиминации шиповатых и зернистых клеток; микроциркуляция цитоплазмы сохранившихся клеток; эпителиальный слой тонкий однородный. Неравномерная слабо выраженная пролиферация базальных клеток, дисккомпаксация их. БМ прослеживается нечетко; лимфоцитарные гребешки и СТ-сосочки выявляются фрагментарно, единичные и слабо выражены (рис. 9). Эпителий свободной части десны в зоне десневой борозды набухший, дистрофичный, с признаками дисккомпаксации. В области сегмента прикрепленной части десны эпителий резко утолщен, гипертрофирован, клетки в состоянии дистрофии; очаги полосовидного некроза, выраженная инфильтрация СЯ гранулоцитами (рис. 10). БМ не прослеживается. Дистальнее, в зоне прикрепленной десны, эпителий разрушен, выявляются распространенные инкапсулированные абсцессы, в том числе и поднадкостничные. Капсула абсцесса трехслойная: внутренняя пиогенная, средняя сосудистая, наружная фиброзно-гигантоклеточная. СПСО: деление на сосочковый и сетчатый слои не прослеживается. В зоне свободной части десны и во краю десневой борозды выявляются очаги гомогенизации волокнистой ткани. По большей части отмечается выраженная гиперплазия фибробластов (фиброплазия), диффузно-очаговая инфильтрация лимфоцитами и моноцитами, среди которых встречаются малочисленные СЯ гранулоциты, плазматические и тучные клетки, макрофаги; выявляются многочисленные, в основном синусоидного типа капилляры и мелкие венулы с агрегацией в просвете последних эритроцитов и СЯ гранулоцитов (рис. 11). В зоне прикрепленной десны и, особенно, в участках микроабсцессов, процесс фиброплазии резко нарастает, увеличивается количество синусоидных и сформированных капилляров, мелких венул, выявляются очаги интенсивной инфильтрации лимфоцитами,

моноцитами, неравномерная распространенная и выраженная инфильтрация СЯ гранулоцитами, а также по всей площади срезов трансформация эндотелиоцитов в эпителиоидные клетки и обилие многоядерных гигантских клеток, в т.ч. в надкостнице (фиброзно-сосудистая гигантоклеточная гранулема). В цитоплазме гигантских клеток встречаются СЯЛ (рис. 11). Встречаются островки незрелых (резко базофильных) формирующихся костных балок среди клеточно-волокнистой остеогенной ткани.

Показатели интенсивности микроциркуляции крови в десне у исследуемой группы, по данным ЛОМ, составляли от 3 до 10 УЕ (рис. 12).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что с помощью лазерно-оптического метода возможно раннее выявление патологических процессов в тканях периодонта, что подтвердили морфологические исследования. Вместе с тем метод чувствителен к изменениям интенсивности микроциркуляции тканей периодонта, что важно для ранней диагностики болезней периодонта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грудянов А.И. Заболевания пародонта. — М., 2009. — 336 с.
2. Дедова Л.Н. Диагностика болезней периодонта: Учебно-метод. пособие / Бел. гос. мед. ун-в.; Сост. Л.Н.Дедова. — Минск, 2004. — 70 с.
3. Логинова Н.К., Кречина Е.К., Ермолаев С.Н. Функциональная диагностика в стоматологии. — М., 2007. — 120 с.
4. Козлов В.А. и др. Ультразвуковая доплерография сосудов макро- и микроциркуляторного русла тканей полости рта, лица и шеи. Минимакс. — СПб., 1999. — 22 с.
5. Орехова Л.Ю. Заболевания пародонта. — М., 2004. — 432 с.
6. Рубникович С.П. Применение цифровой динамической спекл-анеметрии в диагностике поверхностного кровотока тканей ротовой полости // Стоматологический журнал. — 2007. — № 3. — С. 26-28.
7. Тучин В.В. Лазеры и волоконные световоды в биомедицинских исследованиях / В.В. Тучин. Саратов: Изд-во Саратовского Унив., 1998. — 383 с.
8. Фомин Н.А., Рубникович С.П., Базылев Н.Б. Новые возможности исследования кровотока мягких тканей ротовой полости // ИФЖ. — 2008. — Т. 81, № 3. — С. 508-517.
9. Fomin N. Speckle Photography for Fluid Mechanics Measurements. Berlin, Springer Verlag. — 1998. — 248 p.
10. Ul'yanov S.S. Speckle-interferometry for bio-tissue vibration measurement / S.S. Ul'yanov, V.P. Ryabukho, V.V. Tuchin // Opt. Eng. 1994. — V. 33. — P. 908-914.
11. Zimnyakov D.A. Spatial speckle correlometry in applications to tissue structure monitoring / D.A. Zimnyakov, V.V. Tuchin, A.A. Mishin // Applied Optics. 1997. — V. 36, N 22. — P. 5594-5607.

Контактный адрес: ул. Сухая, 28, 220004, г. Минск, Беларусь.
Тел.: (+375 17) 200 54 72.

Поступила 03.01.2011