

OCT 检测人离体牙根部早期脱矿的实验研究

王冠华 李燕妮 姚 晖 孟 卓 张林朴 梁 雨 连小丽
万木森 代晓华 石博雅 刘铁根 姚晓天

摘 要 **目的** 利用全光纤 OCT 系统对人离体牙根部早期人工脱矿模型进行扫描,探讨 OCT 检出早期根龋的可行性。**方法** 选取正畸拔除的无龋坏、色素沉着、缺损的人离体恒牙 3 颗,应用脱矿液进行处理,在脱矿时间为 0、6、24、72h 分别采用 OCT 进行检测得到二维图像,观察图像特点并计算图像的平均灰度值。将脱矿 72h 的样本应用偏光显微镜进行检测,将偏光显微镜图像与 OCT 图像进行比较。**结果** 在 OCT 二维图像中脱矿 6h 的样本未见明显的信号增强带,而脱矿 24h 和 72h 样本表现为脱矿区信号增强。脱矿区域平均灰度值随脱矿时间的延长而增大,最早发生 OCT 可见脱矿的时间为脱矿后 24h。对于脱矿 72h 样本,OCT 图像的形态学观察结果与偏光显微镜下组织学观察结果相一致。**结论** OCT 能够检出脱矿 24h 的离体人牙根表面的改变,从而证实 OCT 具有检出早期牙根表面脱矿的能力。揭示 OCT 在早期根龋的量化诊断中具有良好的应用前景。

关键词 光学相干断层扫描(OCT) 人牙根部 早期脱矿 平均灰度值 检测

Study of Detection of Artificial Demineralization on Exposed Surfaces of Tooth Roots with Optical Coherence Tomography. Wang Guanhua, Li Yanni, Yao Hui, Meng Zhuo, Zhang Linpu, Liang Yu, Lian Xiaoli, Wan Musen, Dai Xiaohua, Shi Boya, Liu Tiegeng, Yao Xiaotian. Research Center, Tianjin Stomatological Hospital & Affiliated Stomatological Hospital of Nankai University, Tianjin 300041, China

Abstract **Objective** To assess the possibility of detecting artificial demineralization on exposed root surfaces using optical coherence tomography (OCT). **Methods** Three human teeth free of caries, pigmentation and deterioration, were extracted and then the samples were exposed to demineralization solution. The samples that exposed to demineralization solution at 0, 6, 24 and 72h were detected by OCT. Then the characteristics and average gray values of OCT images of the testing area were observed and assessed. The sample which had been demineralized for 72h was measured by polarization microscope, and compared with the measurements from OCT. **Results** There was no detectable demineralization on the samples demineralized for 6h in the OCT images, while the signals of demineralized areas enhanced on the samples demineralized for 24 and 72h. The average gray values of the demineralization areas increased as the demineralization time extended. OCT could detect the demineralization changes of testing areas on root surfaces of the human teeth as early as 24h. The images obtained by OCT were consistent with the ones of the corresponding sites obtained by polarization microscope. **Conclusion** OCT could detect the demineralization changes of testing areas on root surfaces of the human teeth as early as 24h. OCT could detect early demineralization on root surfaces of human teeth, which suggested the perspective of OCT in quantitative diagnosis of early root caries.

Key words Optical coherence tomography; Human dental root; Early demineralization; Average gray values; Detection

根部龋齿初期症状不明显,但后期危害大,严重的将直接导致牙齿脱落,是人群失牙的主要原因。根部龋齿发病率高,牙齿根部牙骨质钙化程度较低,矿物质含量低,比牙冠部更容易形成龋齿。早期根龋是位于牙颈部牙釉质和牙骨质交界区以下牙根组织表

层的脱矿性改变,肉眼很难分辨,检查仪器也不容易探查到,随着年龄的增大,根部龋齿的发生率会逐渐增加,病变也会逐渐加重。由于牙根部有机质含量高,修复材料很难牢固地黏附,修补以后也易患继发龋齿。成年人的根部龋齿往往是在不知不觉中发生和加重的,当出现疼痛感的时候往往已经伤害到牙本质甚至深部牙髓,并引起牙髓炎了。严重的根部龋齿将导致牙齿脱落。早期诊断并治疗根龋会降低其危害性,因此寻找一种无创的早期诊断根龋的手段非常重要。光学相干层析技术(optical coherence tomography, OCT)是利用光学特性完成视觉检查和尖锐牙科探针探查所要完成的一种非主观方式检查。

基金项目:国家自然科学基金面上项目(30770597);天津市口腔医院重点科技基金资助项目

作者单位:300041 天津市口腔医院暨南开大学附属口腔医院实验研究中心(王冠华、李燕妮、姚晖、张林朴、连小丽、代晓华);300072 天津大学精密仪器与光电工程学院(孟卓、梁雨、万木森、石博雅、刘铁根、姚晓天)

通讯作者:姚晖,电子信箱:yaoh2k@163.com

OCT 提供一种背向散射光强度的计算能够反映牙釉质层深度,是一种非常合适检测光散射、组织偏振和折光率变化的技术,它是一种非创伤性成像模式,在牙釉质中穿透深度达2~3mm,分辨率为10~30 μm ^[1]。OCT 系统能够应用近红外光,特别是1310nm,它能够在可见光范围内显著改善轴向图像的穿透深度^[2]。牙本质的光散射系数高于牙釉质,因此本质的光穿透深度小于牙釉质。但是早期根龋位于牙本质和牙骨质的表层,应该很容易用 OCT 成像^[3]。

在以往的研究中,Fried 等应用化学酸蚀脱矿制备人牙根人工脱矿后,用 OCT 检测龋损深度,剩余牙骨质厚度和集成反射率,并应用偏光显微镜和数字显微放射技术(简称 DM)作为参比方法,最后得到结果 DM 检测得到的矿物质丢失量 ΔZ 与 OCT 检测得到的集成反射率 ΔR 具有相关性。在此研究之前,Fried 等对人工脱矿的牙本质进行了 OCT 扫描,所取得的量化资料同样是集成反射率和龋损深度^[4]。有国外学者应用 OCT 检测人工脱矿的牛牙的颊面发现,脱矿组织的折射率损失的百分数(R%)取决于矿物质损失的量,R%随着脱矿时间的延长而增大。因此,折射率损失的百分数也可以表示脱矿区矿物质含量的变化情况^[5]。但也有文献报道伴随脱矿时间延长集成反射率反而减小,Amaechi 等在研究定量光诱导荧光法与 OCT 量化检测早期龋的对比时得出的结论是釉质的荧光辐射强度与反射率伴随脱矿时间的增加而减少^[6]。

本实验采用自研全光纤口腔 OCT 系统对人工制备的不同脱矿时段的人离体牙根面早期脱矿模型进行扫描成像,得到脱矿区图像,并在脱矿 72h 时段与偏光显微镜得到的脱矿区图像进行对比,观察形态学特点,探讨 OCT 检出早期根龋的可行性^[7]。

材料与方法

1. 实验材料:人新鲜离体恒牙,取自天津市口腔医院口腔外科门诊新鲜拔除的正畸牙齿,经软组织剥离消毒处理和分类保存备用。快凝造牙水、自凝牙托粉、石膏、蜡片、载玻片、外径千分尺、磨石、金刚砂片等。

2. 实验仪器:OCT 为课题组自行研制的系统,包括 SLD 光源(LD-101,General Photonics Corp,美国)、口腔小型手持光纤探头、电动控制样品采集台、高速电机(SAEHIN STRONG 204,韩国)图像采集核心、LABVIEW 数据处理系统、步进电机等。中心波长 1310nm,带宽 50nm,相干长度 15 μm ,分辨率 10 μm ,牙齿成像深度 2.2mm。偏振光显微镜(尼康 50i-POL,日本)。

3. 实验方法:(1)样本准备:选取正畸拔除的无龋坏、色素

沉着、缺损的人离体恒牙 3 颗,将 3 颗样本在脱矿 0h、6h、24h、72h 时分别进行 OCT 检测,观察不同脱矿时间段的二维图像,并得到平均灰度值,将数据进行方差分析。将脱矿 72h 样本进行偏光显微镜检测,将得到的图像与相同脱矿时间段的 OCT 图像进行对比。(2)人工脱矿模型制备:用清水将所选样本冲洗干净,用软毛刷清洁牙齿根部。选定样本牙的邻面作为实验区域,设计开窗区为 3mm×3mm,根部其他区域应用抗酸指甲油涂布,将脱矿样本置于 15ml 脱矿液中浸泡,脱矿液成分:2.2mmol/L 钙(CaNO_3),2.2mmol/L 磷酸盐(KH_2PO_4),16.6mmol/L NaF,50mmol/L 醋酸,调节 pH 值为 4.5(37℃)^[8]。设定 4 个脱矿时间段:脱矿 0h、6h、24h、72h。分别在这 4 个脱矿时间段将样本自脱矿液中取出,应用 OCT 测量样本。(3)光学相关断层扫描(OCT):利用 LABVIEW 数据处理系统设定步进电机次数:200 步;扫描间距 0.5mm,沿样本横轴进行扫描;每个样本开窗区选取不同位置扫描 3 次,得到 3 幅二维图像,应用 Matlab 软件处理后得到二维伪彩图和脱矿区域的平均灰度值,并标记号扫描路径。(4)偏光显微镜:将脱矿 72h 的样本牙用自凝材料包埋,应用高速电机将样本沿牙齿横轴的标记进行切割,厚度为 1mm。用磨石将样本进行打磨抛光,制备为厚度约 100 μm 的模片。应用偏光显微镜观察牙齿模片,得到相应的图像。

结 果

1. 人牙根部早期脱矿的 OCT 图像分析:OCT 二维图像显示脱矿后的样本表现为脱矿区信号均匀性增强。对同一样本不同脱矿时间段的 OCT 二维图像进行比较,脱矿 0h 和 6h 时样本显示没有明显的信号增强带,脱矿 6h 样本图像表层没有明显的信号衰减。脱矿 24h 和 72h 的样本图像中可见信号增强带渐进性增宽,即脱矿深度出现递增性变化,且信号增强带下方的信号衰减明显。见第 140 页彩图 4 中箭头所示。由此可知,人离体牙根部早期脱矿的程度是随脱矿时间延长而逐渐加深的。但对相同脱矿时间段的不同样本图像进行比较后发现信号增强的程度并不相同,这可能与不同样本之间存在差异有关。

2. 人牙根部早期脱矿的偏光显微镜检测结果:在偏光显微镜图像中脱矿表现为暗带,见图 1 所示。脱矿区与周围正常区域相比较,样本开窗区有明显的暗带,而开窗区外没有明显暗带。这与 OCT 扫描得到的脱矿 72h 的图像结果相对应,进一步验证了 OCT 扫描图像得到的结果。

3. 脱矿区域平均灰度值与时间的相关性:将 4 个脱矿时间段得到的平均灰度值的变化趋势进行观察,见图 2 所示。发现平均灰度值的变化随脱矿时间的延长而增大。



图1 脱矿 72h 样本的偏光显微镜图片

脱矿 72h 开窗区与开窗区外 (50 ×), 红色箭头所示为开窗区

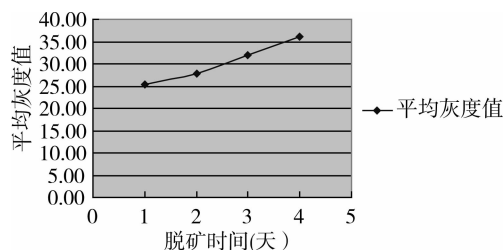


图2 平均灰度值随脱矿时间变化趋势图

4. OCT 检出早期根部脱矿的敏感性分析: 将不同脱矿时间段平均灰度与脱矿 0h 样本的平均灰度值进行比较, 利用方差分析的方法进行计算, 可得到如下结果脱矿 6h 样本与脱矿 0h 样本的平均灰度值进行比较, $P > 0.05$, 差异无统计学意义。脱矿 24h 和 72h 样本与脱矿 0h 样本的平均灰度值进行比较, $P < 0.05$ 差异有统计学意义 (表 1)。而因此说明在本实验中样本发生 OCT 可见脱矿的时间应为脱矿 24h。

表1 不同脱矿时间段平均灰度值

时间	$\bar{x} \pm s$
脱矿 0h (平均灰度值)	25.38 ± 3.80
脱矿 6h	27.78 ± 2.94
脱矿 24h	32.00 ± 0.39
脱矿 72h	35.99 ± 0.31

$F = 11.265, P = 0.003$

讨 论

由于根龋的危害较大, 早期发现龋变并进行及时正确的干预会逆转龋病进程, 最大限度地保存牙齿和减少患者接受侵入性治疗的恐惧和痛苦。因此龋病的早期准确检出是关键。本课题组研发的 OCT 系统具有良好的重复性和高分辨率, 且对样本没有破坏性, 且在实现系统的小型化、集成化和便于在体牙齿量化检测方向迈进了一步。本研究就是利用课题组自研 OCT 系统对检出早期根龋的可行性进行研究。通过实验研究发现不同脱矿时间段的同一牙齿样本, 随着脱矿时间的延长, 龋损区域光的散射逐渐增强,

且脱矿程度随着脱矿时间的延长而增加。但不同样本同一脱矿时间段脱矿程度并不相同。早期根面龋主要为牙骨质龋, 在其发生早期龋变后, 表面有许多浅凹陷, 牙骨质磷灰石晶体出现溶解、破坏, 胶原纤维断裂消失, 最后结构崩解, 使牙骨质的晶体结构发生改变, 因此在牙根早期脱矿的 OCT 二维图像中, 随着脱矿时间的延长, 脱矿区域的散射增加, 信号增强, 在 OCT 图像上脱矿区灰度增大。本次实验得到的结果是随着矿时间的延长, 平均灰度值也会增大, 因此可以推断平均灰度值的变化可能与脱矿区矿物质含量的变化有关。

脱矿 6h 时段样本信号较脱矿 0h 时段信号强, 是由于脱矿破坏了牙根表层结构, 使光学信号传递发生改变造成的。样本在脱矿 24h 时可见信号增强带, 但个别样本未见明显的信号增强带, 但可见脱矿区域光的穿透深度增强, 说明样本本身存在个体差异性, 造成在同样脱矿时间内脱矿的程度不同。但通过 OCT 二维图像可发现样本发生 OCT 可见脱矿的时间段应该为脱矿 24h。通过对不同脱矿时间段样本的平均灰度值进行统计学分析后发现, 除脱矿 6h 样本外其他脱矿时间段的平均灰度值都与对照组 0h 差异有统计学意义, 即可进一步说明在本实验中 OCT 可以检出脱矿 24h 样本开窗区的改变, 但课题组此前已经利用 OCT 系统对早期釉质脱矿进行过研究, 结果发现脱矿 12h 即可在实验窗牙釉质表面探测出早期脱矿改变^[9]。由于本次实验没有设计脱矿 12h 时间段, 因此并不能观察脱矿 12h 的变化。另外, 目前关于 OCT 检测早期根龋的研究中, 样本脱矿时间较长, 最短的脱矿时间为 168h。而本实验设计的最短脱矿时间为 6h, 最早发生 OCT 可见脱矿的时间为脱矿后 24h, 因此本课题组自研的 OCT 系统可以敏感检出早期人牙根表面脱矿。

偏光显微镜检出早期龋的原理是通过观察病损区域各部位微孔体积变化引起的色彩变化鉴别正常区域和龋变区域。本研究的偏光显微镜图像没有表层薄而密度低、表层下脱矿层较厚的明显的根面病变呈分层结构, 牙骨质比釉质和牙本质双折射弱, 而且由于牙骨质层较薄, 因此造成偏光显微镜图像中没有明显的双折射现象。但本研究的偏光显微镜的图像中观察发现脱矿区的暗带较明显, 因此可以观察到脱矿区与对照区的区别。另外也有学者在进行牙本质龋研究时用偏光显微镜作为组织学标准, 与 OCT 结果进行对比^[10]。因此, 目前本研究中应用偏光作为

OCT 定性研究的对照标准是可行的手段。国外学者在进行 OCT 检测牙本质龋的相关研究中将 TMR 作为量化检测龋齿的参照标准,并将 OCT 结果与其进行比较,即矿物质损失量和反射率损失率进行相关研究^[11],但由于本研究共进行了 4 个脱矿时间段的 OCT 检测,但只有一个脱矿时间段进行了偏光显微镜的对照检测,且偏光结果未进行量化检测,因此结果具有一定的局限性。

本研究应用 OCT 系统对人工制备的不同脱矿时间的人离体牙根部早期脱矿模型进行扫描成像,发现脱矿区域平均灰度值随脱矿时间的延长而增大,且最早发生 OCT 可见脱矿的时间为脱矿后 24h,从而证明了 OCT 具有检出早期牙根部脱矿的能力,揭示 OCT 在早期根龋的量化诊断中具有良好的应用前景。

参考文献

- 1 Sowa MG, Popescu DP, Werner J, *et al.* Precision of Raman depolarization and optical attenuation measurements of sound tooth enamel. *Anal Bioanal Chem*, 2007, 387: 1613 - 1619
- 2 Jones RS, Darling CL, Featherstone JDB, *et al.* Imaging Artificial Caries on the Occlusal Surfaces with Polarization - Sensitive Optical Coherence Tomography. *Caries Res*, 2006, 40: 81 - 89
- 3 Fried D, Xie J, Shafi S. Imaging caries lesions and lesion progression with polarization sensitive optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics*, 2002, 7(4): 618 - 627

- 4 Manesh SK, Darling CL, Fried D. Nondestructive assessment of dentin demineralization using polarization - sensitive optical coherence tomography after exposure to fluoride and laser irradiation. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2009, 90(2): 802 - 812
- 5 Amaechi BT, Higham SM, Podoleanu GH, *et al.* Use of optical coherence tomography for assessment of dental caries: quantitative procedure. *Journal of Oral Rehabilitation*, 2001, 28: 1092 - 1093
- 6 Amaechi BT, Podoleanu A, Higham SM. Correlation of quantitative light - induced fluorescence and optical coherence tomography applied for detection and quantification of early dental caries. *Journal of Biomedical Optics*, 2003, 8(4): 642 - 647
- 7 孟卓, 姚晓天, 梁燕, 等. 全光纤光学相干层析牙齿检测系统的解调. *传感技术学报*, 2008, 21(11): 1858 - 1861
- 8 张莉, 刘鲁川. 脉冲 Nd:YAG 激光结合氟化钠对人牙本质、牙骨质人工龋的影响. *口腔医学研究*, 2004, 20(6): 570 - 573
- 9 姚晖, 李燕妮, 姚晓天, 等. 新型生物组织成像技术—光学 CT 对牙釉质早期脱矿检出效能的实验评价. *中国组织工程研究与临床*, 2009, 13(48): 9413 - 9417
- 10 Manesh SK, Darling CL, Fried D. Polarization - sensitive optical coherence tomography for the nondestructive assessment of the remineralization of dentin. *J Biomed Opt*, 2009, 14(4): 044002 - 1 - 6
- 11 Amaechi BT, Podoleanu AG, Komarov G, *et al.* Quantification of root caries using optical coherence tomography and microradiography: a correlational study. *Oral Health Prev Dent*, 2004; 2(4): 377 - 382

(收稿: 2010 - 02 - 26)

(修回: 2010 - 06 - 24)

salusin - α 的中枢降血压机制研究

周 静 李晓云 李浩旭 周 荣 鲁 彦

摘 要 **目的** 通过侧脑室给药的方法探讨 salusin - α 的中枢心血管效应及其机制。**方法** 雄性 SD 大鼠 50 只, 腹腔注射氨基甲酸乙酯 1.0g/kg 麻醉, 人工通气, 股动脉、静脉插管, 固定于立体定位仪。其中 25 只大鼠随机分为对照组[侧脑室注射人工脑脊液 (artificial cerebrospinal fluid, aCSF), $n = 4$], salusin - α 100pmol 组 ($n = 7$)、200pmol 组 ($n = 7$)、400pmol 组 ($n = 7$)。给药后观察大鼠血压和心率。其余 25 只大鼠为预先给予阻断剂组, 随机分为对照组 aCSF + salusin - α 组 ($n = 4$)、N - 甲基 - D - 天门冬氨酸 (NMDA) 受体拮抗剂 MK - 801 + salusin - α 组 ($n = 7$)、内皮源性一氧化氮合酶 (eNOS) 抑制剂 N^G - 硝基 - L - 精氨酸甲酯 (L - NAME) + salusin - α 组 ($n = 7$)、 γ - 氨基丁酸 (GABA) 受体阻断剂荷包牡丹碱 (Bic) + salusin - α 组 ($n = 7$)。先分别侧脑室给药 MK - 801 等阻断剂, 10min 后待血压平稳再分别侧脑室注射 salusin - α , 观察给药后大鼠血压和心率的变化。**结果** 侧脑室注射 salusin - α 100pmol (给药前: 99 ± 11 mmHg 比给药后: 83 ± 13 mmHg, $P < 0.05$) 200pmol (给药前: 99 ± 17 mmHg 比给药后: 87 ± 21 mmHg, $P < 0.05$) 或 400pmol (给药前: 91 ± 9 mmHg 比给药后: 85 ± 12 mmHg, $P < 0.05$), 各剂量 salusin - α 均降低麻醉大鼠血

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30700266); 陕西省卫生厅资助项目 (06E05)

作者单位: 730000 甘肃省兰州大学第一医院急诊科 (周静、周荣); 730030 甘肃省兰州市解放军第一医院检验科 (李晓云、鲁彦); 710068 陕西省西安医学院解剖教研室 (李浩旭)

通讯作者: 周荣, 电子信箱: zhourong0204@sina.com; 鲁彦, 电子信箱: lu73free@yahoo.com.cn