

дии рака желудка и кишечника — 27,4 и 24,6 мкг/л соответственно ($p < 0,01$).

Выявленные особенности селенового статуса у онкологических больных в зависимости от степени тяжести (стадии) заболевания позволяют поставить вопрос о необходимости дополнительной селенизации на ранней стадии болезни с целью предотвращения её прогрессирования, улучшения прогноза и увеличения продолжительности жизни.

ВЫВОД

Выявленное низкое содержание селена в почвах и продуктах питания, выращенных на территории изученных экономических районов, приводит к недостаточному поступлению в организм данного микроэлемента и развитию «селенодефицитных» состояний, способствующих росту онкологической заболеваемости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аземар М. Микроэлементы и иммунные функции: особенности селена // Биол. мед. — 2009. — Т. 17, №2. — С. 61–64.
2. Голубкина Н.А. Селен в сыворотке крови у больных с доброкачественными и злокачественными новообразованиями // Вопр. мед. хим. — 1995. — Т. 41, №4. — С. 50–53.
3. Гудратов Н.О. Биомедицинское значение селена // Биомедицина. — 2003. — №1. — С. 7–11.
4. Дерягина В.П., Жукова Г.Ф., Власкина С.Г. и др. Влияние селена на образование канцерогенных

N-нитрозоаминов // Вопр. питан. — 1996. — №3. — С. 31–33.

5. Книжников В.А., Комлева В.А., Шандала Н.К. и др. Исследования антиканцерогенных свойств селена в санитарно-гигиеническом эксперименте // Гиг. и санит. — 1993. — №7. — С. 54–57.

6. Мирошиников С.А., Бурцева Т.И., Голубкина Н.А. и др. Гигиеническая оценка селенового статуса Оренбургского региона // Вестн. ОГУ. — 2008. — №12. — С. 95–98.

7. Смирнова Л.П., Кондакова И.В., Слонимская Е.М. и др. Зависимость активности антиоксидантных ферментов от митотического индекса опухолей молочной железы // Сибир. онкол. ж. — 2002. — №2. — С. 47–51.

8. Стадникова Н.Н., Клейменова Е.В., Гранкина Е.П., Пылев Л.Н. Торможение натрия селенитом асбестового канцерогенеза у крыс Вистар // Вопр. онкол. — 1991. — Т. 37, №11–12. — С. 1077–1081.

9. Хотимченко С.А. Ингибирующее действие селена на эндогенный синтез N-нитрозосоединений у крыс // Вопр. питан. — 1997. — №4. — С. 16–18.

10. Цыкуниб А.А., Загородний С.А. Обеспеченность селеном населения Республики Адыгея // Вопр. питан. — 2008. — №2. — С. 72–75.

11. Bates J.M. Effects of selenium deficiency on tissue selenium content, deiodinase activity and thyroid hormone economy in the rat during development // Endocrinology. — 2000. — Vol. 141, N 7. — P. 2490–2500.

12. James C. Fleet dietary selenium repletion may reduce cancer incidence in people at high risk who live in areas with low soil selenium // J. Nutr. Rev. — 1997. — Vol. 55, N 7. — P. 277–279.

13. Jing W., Carolyn S., Robin G. et al. Increased consumption of wheat biofortified with selenium does not modify biomarkers of cancer risk, oxidative stress, or immune function in healthy Australian males // J. Envir. Molec. Mut. — 2009. — Vol. 50. — P. 489–501.

14. Raymond F.B. Selenium and antioxidant nutrient // Nutr. Clin. Care. — 2002. — Vol. 5, N 2. — P. 75–79.

15. Yoshizawa K., Willet W.C. Study of prediagnostic selenium level in toenails and the risk of advanced prostate cancer // Nat. Cancer Ins. — 1998. — Vol. 90. — P. 1219–1229.

УДК 616.314.13-076-079: 616.716.4001.5: 616.71-007.17-007.235: 612.086.3

T08

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ В ИЗУЧЕНИИ ПЛОТНЫХ ТКАНЕЙ ОРОФАЦИАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ

Сергей Николаевич Московский^{1*}, Андрей Сергеевич Коршунов¹, Игорь Леонидович Шестель¹, Владимир Павлович Конев¹, Михаил Александрович Хамов¹, Сергей Олегович Марковский²

¹Омская государственная медицинская академия,

²Городская клиническая больница №11, г. Омск

Реферат

Цель. Изучение возможности применения атомно-силовой микроскопии для морфологической диагностики патологии соединительной ткани по твёрдым тканям зубов и костной ткани.

Методы. С помощью атомно-силовой микроскопии оценивали степень упаковки, размер и форму костных пластинок, эмалевых призм, а также размер межпризменных промежутков и их высоту в костной ткани и эмали зубов. Материалом служили 30 удалённых по клиническим показаниям (в связи с травмой тупым твёрдым предметом) зубов и образцов костной ткани пациентов с дисплазией соединительной ткани и 27 удалённых зубов и образцов костной ткани группы контроля.

Результаты. Установлено, что аномальная компоновка коллагена при патологии соединительной ткани сопровождается увеличением промежутка между волокнами до 98 нм и снижением доли минерального матрикса в кости. В эмали зубов также выявлены нарушения формы и размеров эмалевых призм [(5,5±0,3)×(5,4±0,1) мкм] с увеличением расстояния между эмалевыми призмами до 1,5±0,1 мкм. При оценке костной ткани основным

различием между группой контроля и пациентами с патологией соединительной ткани было наличие пустот во втором случае, что сопровождалось изменением структуры залегания минеральных элементов кости, нарушением формирования костных пластинок, а также изменением количества минеральных компонентов в единице объёма кости. У пациентов с патологией соединительной ткани при исследовании эмали зубов были обнаружены гипоминерализованная структура кристаллической решетки гидроксиапатитов, неправильная их пространственная ориентация, изменение залегания органического матрикса, нарушение формирования полноценной структуры эмали вследствие нарушения нормального взаимоотношения органического матрикса и минерального компонента, что не свойственно данному периоду созревания эмали зубов. Таким образом, у пациентов с патологией соединительной ткани были выявлены признаки нарушения минерализации и организации эмали зубов и костной ткани.

Вывод. Использование атомно-силовой микроскопии позволяет изучать нативные клеточные культуры, в том числе твёрдые ткани зуба и костную ткань, что можно использовать в качестве основы для диагностики патологии соединительной ткани, а также для определения индивидуальных характеристик при идентификации личности.

Ключевые слова: патология соединительной ткани, коллаген, зубная эмаль, нижняя челюсть, стоматология, атомно-силовая микроскопия.

ATOMIC-FORCE MICROSCOPY IN STUDYING HARD TISSUES OF OROFACIAL AREA S.N. Moskovskiy¹, A.S. Korshunov¹, I.L. Shestel¹, V.P. Konev¹, M.A. Hamov¹, S.O. Markovskiy². ¹Omsk State Medical Academy, Omsk, Russia, ²Municipal Clinical Hospital №11, Omsk, Russia. **Aim.** To study the use of atomic-force microscopy for morphological diagnosis of a bone tissue and hard tooth tissue pathology. **Methods.** Dental occlusion, enamel crowns and bony tooth sockets shape and size, as well as embrasures' size and their depth, and crown height were estimated by the means of atomic-force microscopy. 30 teeth and bony fragments removed due to blunt maxillofacial trauma with signs of connective tissue hypermobility and 27 removed teeth and bony fragments from the control group were analyzed. **Results.** Abnormal collagen structure in hypermobility syndrome was associated with the increase of inter-fiber space to 98 nm and decrease of mineral matrix content in the bone. Enamel crowns shape and size alterations [(5.5±0.3)×(5.4±0.1) μm] as well as inter-crown space increase to 1.5±0.1 μm were found out. At the bone tissue analysis, the main distinctive feature between the control group and the patients with hypermobility syndrome was the presence of cystic lesions in the hypermobility syndrome group, accompanied by change of bone mineral structures disposition, trabeculae formation and changes of bone mineral density. In patients with hypermobility syndrome low mineralization of hydroxyapatite crystal structure, changes in spatial crystal structure as well as organic matrix disposition, all leading to enamel structure malformation due to change of interrelation between enamel organic and mineral components which is not typical for that certain period of teeth ontogenesis were found at enamel examination. Thus, in patients with connective tissue hypermobility signs of bone and enamel mineralization and structure change were found. **Conclusion.** The use of atomic-force microscopy allows to study the native cell cultures, including bone and hard tooth tissues, that can be used as a basis to diagnose connective tissue hypermobility as well as for identification of personality. **Keywords:** connective tissue hypermobility, collagen, enamel, mandible, dental medicine, atomic-force microscopy.

Исследования клеточных структур микроскопическими методами на сегодняшний день являются основополагающими для диагностики патологических процессов, и главным методом остаётся оптическая микроскопия [1, 4, 5]. Несмотря на то, что технология изготовления микропрепаратов костной ткани и твёрдых тканей зубов требует длительного периода фиксации и декальцинации, традиционное гистологическое исследование остаётся чуть ли не единственным способом оценки патологических изменений, даже учитывая некоторые неизбежные негативные эффекты (набухание коллагеновых структур, микроразрушения кристаллической решетки гидроксиапатитов) [2, 3, 9].

Помимо рутинных методов микроскопии, для изучения ультраструктур клетки и клеточных мембран в настоящее время используют электронную микроскопию и сканирующую, зондовую микроскопию. Метод электронной микроскопии известен давно, в то время как методы сканирующей микроскопии развиваются на протяжении не более двух десятилетий. Атомно-силовую микроскопию (АСМ) пока чрезвычайно редко применяют для исследования гистологических

препаратов: стандартные способы подготовки образцов для АСМ позволяют исследовать поверхность образца, но не его внутреннюю структуру [4, 6, 10].

Сканирующая туннельная микроскопия и АСМ – наиболее перспективные представители сканирующей зондовой микроскопии, причём они не требуют обязательной электрической проводимости исследуемых образцов, то есть образцы не нуждаются в предварительной обработке [3, 7, 8].

Целью работы было изучение возможности применения АСМ для морфологической диагностики патологии соединительной ткани по твёрдым тканям зубов и костной ткани.

Для исследования на базе Омского государственного технического университета (кафедра оборудования и технологии сварочного производства) использовали полировально-шлифовальный станок «Нейрис», шлифовальные круги «Hermes» и полировальные круги с алмазной суспензией «Akasel». Образцы изучали на оптическом микроскопе «Olympus jx 41» с 1000-кратным увеличением, оценивали микроскопическое строение костной ткани и эмали зубов нижней челюсти.

Количественные характеристики минерального матрикса эмали зубов у обследуемых пациентов (зондовая микроскопия)

Группы пациентов	Размер эмалевых призм в горизонтальной плоскости (dx), мкм	Размер эмалевых призм в вертикальной плоскости (dy), мкм	Количество эмалевых призм в единице объёма (10×10 мкм)	Расстояние между эмалевыми призмами, мкм	Величина оболочки призмы, мкм	Высота межпризменного промежутка, мкм
Пациенты без ДСТ (n=27)	6,3±0,2	6,25±0,3	6,2±0,2	0,32±0,02	0,19±0,03	19,8±2,5
Пациенты с ДСТ (n=30)	5,5±0,3*	5,4±0,1*	5,2±0,1*	1,5±0,1*	0,8±0,2*	84,5±2,9*

Примечание: *коэффициент статистической значимости различий между основной (пациенты с дисплазией соединительной ткани – ДСТ) и контрольной группами $p < 0,05$.

Ультраструктурное строение образцов изучали на базе Омского государственного университета (кафедра прикладной и медицинской физики) с использованием сканирующего зондового микроскопа «Solver Pro» (NT-MPT, Россия). Анализ АСМ-изображения осуществляли с использованием программного модуля обработки изображения «Image Analysis NT-VDT».

В исследовании был использован материал 57 пациентов в возрасте от 20 до 40 лет (49 мужчин и 8 женщин), у которых после удара тупым твёрдым предметом (при бытовых, дорожно-транспортных травмах) в области угла нижней челюсти по клиническим показаниям был удалён 8-й зуб из линии перелома. По результатам анкетирования и общеклинического обследования (по диагностическому алгоритму Нечаевой Г.И. и Яковлева В.М., с диагностическим коэффициентом выше порога «+17») было сформировано две группы пациентов: основная группа пациентов – с дисплазией соединительной ткани (30 человек, из них 25 мужчин и 5 женщин), контрольная группа – без дисплазии соединительной ткани (27 человек, из них 23 мужского пола и 4 женского). Морфологическое исследование выполнено на 57 зубах, которые были консервированы после удаления (в нейтральном 10% растворе формалина).

По разработанной методике подготовки образцов для 8-го зуба нижней челюсти (зуб 38 по двузначной нумерации) были подготовлены шлифы путём обработки поверхности медиального щёчного бугра с помощью шлифовальных, полировальных кругов и травления ортофосфорной кислотой марки «Eviscol». Полученные образцы зубов помещали в поле зрения оптического микроскопа с последующей АСМ. В результате были получены цифровые снимки образцов зубов, по которым осуществляли анализ степени упа-

ковки, формы и размера эмалевых призм, размера межпризменных промежутков и их высоты, размера оболочки эмалевых призм у группы контроля и пациентов с патологией соединительной ткани. Морфологическое исследование 57 костных объектов (нижняя челюсть) было выполнено с применением описанной выше методики.

Плотное вещество состояло из тонких костных пластинок, границы которых на поперечных шлифах кости выступали весьма чётко, так как полости костных пластинок в плотном костном веществе располагались, как правило, между соседними пластинками. Местами костные пластинки соприкасались друг с другом, местами же между ними располагались вставочные пластинки.

По качественным характеристикам эмалевых призм зуба у людей без патологии соединительной ткани было отмечено постоянство структуры в виде упорядоченных шестигранных и даже семигранных с аркообразными формами эмалевых призм. В группе с патологией соединительной ткани призмы были расположены хаотично, имели и пятигранную, и шестигранную структуру, отличались полиморфизмом и напоминали различные геометрические фигуры. При зондовой микроскопии эмали зубов нижней челюсти у пациентов с патологией соединительной ткани эмалевые призмы отличались меньшими размерами как в горизонтальной, так и в вертикальной плоскости. Также было выявлено уменьшение количества эмалевых призм на единицу объёма, что свидетельствует о менее плотной их упаковке. Достоверное увеличение расстояния между эмалевыми призмами, увеличение высоты межпризменных промежутков у пациентов основной группы свидетельствует об увеличении общей доли органического вещества в полностью про-

Количественные характеристики минерального матрикса костной ткани у обследуемых пациентов (зондовая микроскопия)

Группы пациентов	Размер коллагеновых волокон в горизонтальной плоскости (dx), нм	Размер коллагеновых волокон в вертикальной плоскости (dy), нм	Размер минеральных пластин в горизонтальной плоскости (dx), нм	Размер минеральных пластин в вертикальной плоскости (dy), нм
Пациенты без ДСТ (n=27)	61,4±8,5	98,7±23,3	61,4±9,5	5,4±1,3
Пациенты с ДСТ (n=30)	84,7±14,2*	56,0±17,4*	74,7±9,4*	9,0±2,3*

Примечание: *коэффициент статистической значимости различий между основной (пациенты с дисплазией соединительной ткани – ДСТ) и контрольной группами $p < 0,05$.

резавшихся зубах. Величина оболочки эмалевой призмы у пациентов с патологией соединительной ткани отличалась большими размерами (табл. 1).

При зондовой микроскопии костной ткани нижней челюсти в группе контроля молекулы коллагена не были связаны между собой «конец в конец», между ними присутствовали промежутки размером 35–40 нм. Предполагают, что в костной ткани эти промежутки играют роль центров минерализации, где откладываются кристаллы фосфата кальция. При АСМ фиксированные и контрастированные фибриллы коллагена выглядели поперечно исчерченными с периодом 67 нм (одна тёмная и одна светлая полоски) и диаметром в среднем 100 нм. Считают, что такое строение максимально повышает сопротивление ткани растягивающим нагрузкам. При этом у пациентов с патологией соединительной ткани длина и поперечник коллагеновых волокон значительно варьировали с увеличением промежутка между волокнами до 98 нм (в среднем 84,7±14,2 нм) и уменьшением поперечного размера волокон до 40 нм (в среднем 56,0±17,4 нм). При сопоставлении размеров минеральных пластин между коллагеновыми волокнами в костной ткани нижней челюсти у пациентов с патологией соединительной ткани и в группе сравнения статистически значимой разницы не выявлено (табл. 2).

При оценке костной ткани основным различием между группой контроля и пациентами с патологией соединительной ткани было наличие пустот во втором случае, что сопровождалось изменением структуры залегания минеральных элементов кости, нарушением формирования костных пластинок, а также изменением количества минеральных компонентов в единице объёма кости. У пациентов с патологией соединительной ткани при исследовании

эмали зубов выявлены гипоминерализованная структура кристаллической решетки гидроксиапатитов, неправильная их пространственная ориентация, изменение залегания органического матрикса, нарушение формирования полноценной структуры эмали вследствие нарушения нормального взаимоотношения органического матрикса и минерального компонента, что не свойственно данному периоду созревания эмали зубов.

ВЫВОДЫ

1. По результатам исследования ультраструктуры и минерального состава можно говорить о нарушении минерализации и организации эмали зубов и костной ткани у пациентов с признаками патологии соединительной ткани. Это обусловлено недостаточно плотной упаковкой эмалевых призм, костных пластинок в единице объёма, их хаотичным расположением, недостаточно организованным и минерализованным органическим матриксом.

2. Достоинство атомно-силовой микроскопии – возможность изучения микрорельефа поверхности без предварительной обработки, деформирующей клеточные структуры. Исследования срезов при атомно-силовой микроскопии дают возможность получать изображения (менее ~25 000) просвечивающего электронного микроскопа. Дальнейшее развитие методик позволит использовать этот метод в качестве основного способа исследования тканей, применяемого в сочетании с другими видами микроскопии.

3. Полученные результаты демонстрируют возможность использования атомно-силовой микроскопии для изучения нативных клеточных культур, в том числе твёрдых тканей зуба и костной ткани, как в судебно-медицинской, так и в стоматологической

практике, с возможностью определения индивидуальных характеристик. В клинике возможны диагностика патологических процессов и контроль качества лечения пациентов с патологией соединительной ткани с помощью атомно-силовой микроскопии. Вопрос об использовании этого метода для исследования особенностей костной ткани и твёрдых тканей зубов при диспластических процессах, таких как синдром Педжета, синдром Марфана, синдром Элерса-Данло и других, заслуживает дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cadet E.R., Gafni R.I., McCarthy E.F. et al. Mechanisms responsible for longitudinal growth of the cortex: coalescence of trabecular bone into cortical bone // *J. Bone Jt. Surg. Am.* — 2003. — Vol. 85. — P. 39–48.
2. Chiego D.J. The early distribution and possible role of nerves during odontogenesis // *Int. J. Develop. Biol.* — 1995. — Vol. 39, N 1. — P. 191–194.
3. Gao H.J., Ji B.H., Jager I.L. et al. Materials become insensitive to flaws at nanoscale: lessons from nature //

PNAS. — 2003. — Vol. 100. — P. 597–600.

4. Gutschmann T., Fantner G.E., Venturoni M. et al. Evidence that collagen fibrils in tendons are inhomogeneously structured in a tubelike manner // *Biophys. J.* — 2003. — Vol. 84. — P. 93–103.
5. Katz E.P., Li S. Structure and function of collagen fibrils // *J. Mol. Biol.* — 1973. — Vol. 80. — P. 1–15.
6. Lees S. Mineralization of type I collagen // *Biophys. J.* — 2003. — Vol. 85, N 20. — P. 4–7.
7. Ng L., Grodzinsky A.J., Patwari P. et al. Individual cartilage aggrecan macromolecules and their constituent glycosaminoglycans visualized via atomic force microscopy // *J. Struct. Biol.* — 2003. — Vol. 143, N 2. — P. 42–57.
8. Roschger P., Gupta H.S., Berzanovich A. et al. Constant mineralization density distribution in cancellous human bone // *Bone.* — 2003. — Vol. 32, N 3. — P. 16–23.
9. Rubin M.A., Jasiuk L., Taylor J. et al. TEM analysis of the nanostructure of normal and osteoporotic human trabecular bone // *Bone.* — 2003. — Vol. 33, N 3. — P. 270–282.
10. Venturoni M., Gutschmann T., Fantner G.E. et al. Investigations into the polymorphism of rat tail tendon fibrils using atomic force microscopy // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2003. — Vol. 30, N 50. — P. 8–13.
11. Tong W., Glimcher M.J., Katz J.L. et al. Size and shape of mineralites in young bovine bone measured by atomic force microscopy // *Calcif. Tissue Int.* — 2003. — Vol. 75, N 59. — P. 2–8.

УДК 616.315.007.254.089.844.089.168: 614.2 (571.17)

T09

КОМПЛЕКСНАЯ РЕАБИЛИТАЦИЯ ПАЦИЕНТОВ С РАСЩЕЛИНАМИ ГУБЫ И НЁБА В УСЛОВИЯХ КЕМЕРОВСКОГО ЦЕНТРА ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ДЕТЕЙ С ВРОЖДЁННОЙ ПАТОЛОГИЕЙ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ

Елена Александровна Булгакова^{1,2*}, Игорь Анатольевич Те¹, Сергей Миронович Ахапкин³

¹Кемеровская государственная медицинская академия,

²Областная клиническая стоматологическая поликлиника, г. Кемерово,

³Областная клиническая больница, г. Кемерово

Реферат

Цель. Повышение доступности и качества стоматологической помощи детям Кемеровской области с врождённой патологией челюстно-лицевой области в условиях специализированного центра.

Методы. Разработаны мероприятия по реорганизации структуры и деятельности Кемеровского регионального центра профилактики и лечения детей с врождённой патологией челюстно-лицевой области, проведена оценка эффективности их внедрения. При оценке эффективности использовали наиболее значимые показатели медицинской, социальной и экономической эффективности, сравнивая данные работы центра за два периода: 1999–2003 гг. и 2005–2009 гг. Кроме того, изучали качество жизни пациентов в возрасте 15–18 лет путём анкетирования. Провели анкетирование более 50 человек, закончивших лечение в медицинском центре. Определяли уровень физического, психического, социального и экономического благополучия.

Результаты. Усовершенствована структура и скорректированы задачи Центра профилактики и лечения детей с врождённой патологией челюстно-лицевой области, создана система учёта и мониторинга пациентов, разработаны и внедрены адекватные диагностические, лечебные и реабилитационные технологии. До 95% детей-инвалидов регистрируют в базе данных центра в течение первых месяцев жизни, снижен возраст детей при проведении хейлопластики и уранопластики, хирургическое лечение пациентов 15–18 лет полностью заканчивается в 84,5% случаев, инвалидность к 15 годам остается у 2,2%, 48,0% детей полностью удовлетворены ходом проводимого лечения, своей внешностью и социальной адаптацией.

Выводы. Внедрение предложенных мероприятий позволило обеспечить высокий уровень оказания помощи детям с врождённой патологией челюстно-лицевой области, скорейшую их реабилитацию, снятие инвалидности и сокращение государственных выплат.

Ключевые слова: специализированный центр, врождённая патология челюстно-лицевой области, расщелины губы и нёба, профилактика и лечение, дети, комплексная реабилитация, организация здравоохранения.

COMPLEX REHABILITATION OF PATIENTS WITH CLEFT LIP AND PALATE AT THE KEMEROVO CENTER OF MAXILLOFACIAL AREA CONGENITAL PATHOLOGY PREVENTION AND TREATMENT IN CHILDREN E.A. Bulgakova^{1,2}, I.A. Te¹, S.M. Ahapkin³. ¹Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia, ²Regional Clinical Dental Out-patient Depart-