

Comparison of micro-CT imaging and histology for approximal caries detection

→ Porównanie obrazowania mikro-CT i histologii do wykrywania próchnicy

W praktyce medycznej metoda histologiczna (tzn. pobieranie wycinka (wykrawanie) zęba) jest powszechną techniką *in vitro* do wykrywania próchnicy. Jest to jednak metoda, która wymaga sporej interwencji w uzębieniu. Ponadto próbki mogą zostać uszkodzone przez złamanie lub odpryskiwanie twardych tkanek zębów, podczas gdy cięcie piłą może spowodować nieodwracalne zniszczenie lub zaciemnienie małych zmian. Szuka się więc alternatywy dla badania histologicznego - wykorzystuje się w tym celu mikrotomografie komputerową.

Badano 60 próbek z 60 zębami ludzkimi (trzonowce i przedtrzonowce) – zarówno za pomocą mikro-CT, jak i badania histologicznego. Próbki histologiczne fotografowano. Przygotowanie próbki, połączone z dedykowanym przetwarzaniem obrazu zapewniało wybór identycznych regionów anatomicznych na obrazach i radiograficznych i histologicznych.

W mikro-CT obrazuje się stopień utraty minerałów, co jest „lepszą” informacją o rzeczywistym uszkodzeniu przez próchnicę niż interpretacja zmian koloru na skrawkach (jak to się robi w badaniach histologicznych jako wskaźnik pośredni) lub demineralizacja. W badaniu histologicznym nie ma jako tako standardu, a wynik badania jest zależy po prostu od „czujnego” oka badającej osoby.

Badania należało przeprowadzić tak, żeby porównywać dokładnie te same „miejsca” w zębie.

1) Badanie mikro-CT

Wykorzystano mikro-CT SkyScan, który posiadał też oprogramowanie do rekonstrukcji. Oprogramowanie miało zaimplementowane algorytmy z optymalnymi limitami kontrastu i redukcją artefaktów pierścieniowych. Źródło było chłodzone powietrzem. Skany wykonano przy 100 kV, 100 μ A. focal spot size 5 μ m, wybrano rozmiar woksela $18 \times 18 \times 18 \mu$ m (co dało 293 dwuwymiarowych rzutów odpowiadającym obrotowi próbki o 180° z krokami obrotu $0,7^\circ$). Podczas procesu akwizycji zastosowano filtr aluminiowy o grubości 1 mm w celu zmniejszenia efektów utwardzania wiązki.

Mocowanie próbki: wszystkie zęby zostały zamontowane na plastikowym wsporniku, który został zbudowany z plastikowego dysku przymocowanego do klocka Lego – aby zapewnić identyczną orientację wycinka podczas obrazowania.

2) Badanie histo

Po zrobieniu wszystkich skanów wszystkie zęby odwodniono i osadzono w samoprzylepnej żywicy akrylowej i zamocowanie w mikrotomie (taki nóż do cięcia preparatów biologicznych) z diamentową tarczą o grubości 300 mikrometrów. Osadzenie zagwarantowało, że płaszczyzny cięcia mikrotomografu i próbek histologicznych były równoległe (mamy to na rysunku zaznaczone). Każda wycięta powierzchnia została sfotografowana za pomocą lekkiego aparatu cyfrowego (Nikon) wyposażonego w obiektyw makro.

Aby ocenić obrazy mikro-CT względem wycinków histologicznych, należało ustalić zgodność między obrazami, aby umożliwić obserwatorom zbadanie tego samego miejsca zmiany. Zestawy obrazów użyte w tym badaniu zostały dopasowane za pomocą zautomatyzowanej procedury wspomaganej komputerowo. Ponieważ płaszczyzny osiowe skanowania mikro-CT były równoległe do płaszczyzny cięcia piły, znalezienie odpowiedniego obrazu w stosie CT dla danego wycinka histologicznego wymagało znalezienia obrazu wzdłuż osi Z.

Czemu mikro-CT zamiast/lub badania histologicznego?

- ➔ mniejsza inwazyjność - stosuje się wiązkę stożkową, co jeszcze bardziej zmniejsza inwazyjność (ograniczenie dawki),
- ➔ badanie histologiczne powoduje uszkodzenie zarówno zęba u człowieka, ale też zęba jako materiału badawczego – odpryski i złamania,
- ➔ niezależnienie od klasyfikacji przebarwień spowodowanych np. kawą jako próchnicy,
- ➔ szybsze przygotowanie próbki – w histo musimy dodatkowo robić całą preparatykę.

Porównanie wyników

Porównanie odbywało się przez czterech niezależnych obserwatorów. Aby uniknąć stronniczości, plasterki były prezentowane obserwatorom w kolejności losowej. Aby zapobiec stronniczości, obrazy mikro-CT lub skrawki histologiczne były oceniane w dwóch oddzielnych sesjach. Obserwatorzy mieli możliwość powiększenia sekcji i obejrzenia obrazów mikro-CT w odwróconym trybie czarno-białym. Każdemu obrazkowi przypisywano odpowiedni numer zgodny ze skalą Downera (1 – brak demineralizacji, 2 – demineralizacja w stopniu 50% itd.)

Zarys zmiany chorobowej zdefiniowano następująco: w badaniu histologicznym limit zmiany próchnicowej w szkliwie uznawano za granicę przebarwionego obszaru w szkliwie. W zębiny uszkodzenie zdefiniowano jako granicę między strefą przebarwioną a strefą przezroczystą. Natomiast na obrazach mikro-CT, uszkodzenie zdefiniowano jako przejście między wartościami jasnoszarego z powodu demineralizacji i ciemniejszymi poziomami szarości otaczającego zdrowego tkanki (lub odwrotnie w przypadku, gdy obserwator wybrał odwrócony obraz w kolorze szarym).

Wyniki:

- ➔ Ogólna korelacja między mikro-CT a histologią była bardzo wysoka: 0,80 ($p < 0,0001$) przy współczynnikach korelacji Spearmana dla poszczególnych obserwatorów w zakresie od 0,79 do 0,83.
- ➔ mikro-CT osiągnęło wyższy stopień zgodności między pacjentami niż histologia,
- ➔ mikro-CT podlega ograniczeniom w postaci artefaktów. Wiadomo, one mogą być zredukowane, ale jeżeli ich redukcja zostanie źle przeprowadzona to wpłynie to na wydajność metody wykrywania próchnicy,
- ➔ potwierdzenie, że mikro-CT jest dobrą metodą.

<https://www.nature.com/articles/s41598-017-06735-6?fbclid=IwAR1brzvRRCqdwEG30U8v9PWI9FADQftzrbr5zpl5aTIOPbp7wGDVPv1TDE>