

УДК 616.314.17/18-008.1-616.311-008.81-076:577-092.11

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КРИСТАЛЛОГРАФИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ В НОРМЕ И ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПАРОДОНТА

Н.В. БУЛКИНА*, Г.Е. БРИЛЬ*, Д.Э. ПОСТНОВ**, В.Т. ПОДЕЛИНСКАЯ*

* - Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

410012, Россия, г. Саратов, ул. Б.Казачья, д. 112, e-mail: podelinskaya14@mail.ru

** - Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского» Министерства образования и науки Российской Федерации, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83.

Аннотация. Изучена общая организация кристаллических структур ротовой жидкости в норме и при воспалительных заболеваниях пародонта. Проведен анализ кристаллографической картины полученных изображений при помощи специальной компьютерной программы. Получены соответствующие характеристики для нормы и различной степени тяжести воспалительных заболеваний пародонта. Результаты исследований сопоставлены с данными клинического обследования.

Ключевые слова: ротовая жидкость, воспалительные заболевания пародонта, кристаллографическая картина, компьютерный анализ.

THE QUANTITATIVE CHARACTERISTIC OF A CRYSTALLOGRAPHIC STRUCTURE OF THE ORAL FLUID IN NORM AND AT INFLAMMATORY PERIODONTAL DISEASES

N.V. BULKINA*, G.E. BRILL*, D.E. POSTNOV**, V.T. PODELINSKAYA*

*Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, e-mail: podelinskaya14@mail.ru

**Saratov State University named after N.G. Chernyshevsky

Abstract. Studied the general organization of the crystal structures of oral fluid under normal and inflammatory periodontal diseases. The analysis of the crystallographic structure images obtained by a special computer program. The corresponding characteristics for normal and varying degrees of severity of inflammatory periodontal diseases. Results of researches are compared with the data of clinical examination.

Key words: oral fluid, inflammatory periodontal diseases, crystallographic structure, computer analysis.

Введение. Возникновение воспалительно-деструктивного процесса в тканях пародонта приводит к изменению физико-химических свойств ротовой жидкости, которая служит обменной средой для твердых и мягких тканей полости рта [1]. Такие молекулярные изменения могут иметь диагностическое значение, точно характеризовать состояние тканей пародонта и служить для выявления патологического процесса на ранних стадиях. Кроме того, ротовая жидкость является биологической средой, которая может быть использована в лабораторно-исследовательских целях, включающих полную неинвазивность, многократный и достаточный по объему забор материала [2].

Изменения состава и свойств ротовой жидкости отражаются в особенностях кристаллических структур, полученных при ее дегидратации и имеющих строго специфическую картину. Сам метод клиновидной дегидратации, сущность которого заключается в высушивании в стандартных условиях капли биологической жидкости и анализе морфологической картины полученного структурного следа (фации) при помощи микроскопического исследования, нашел широкое применение в различных медико-биологических исследованиях [7, 8, 11, 13]. Особенности кристаллографической картины ротовой жидкости используются для диагностики как патологии полости рта, так и внутренних органов и систем [5, 10]. Существует достаточно большое количество различных принципов описания образующихся при дегидратации ротовой жидкости микроструктур. При патологии полости рта они направлены на определение дополнительных кристаллических образований, появление которых не характерно для нормы и соответствует клинической картине при определенном диагнозе. При различной патологии полости рта в кристаллографической картине ротовой жидкости выявлены патологический тип фаций и «маркеры патологии» в краевой зоне [9, 14]. Проводилось описание основных кристаллических структур ротовой жидкости, которые при патологическом состоянии изменяли особенности своей организации. При такой оценке определялся вид кристаллов, форма, характер ветвления и другие качественные признаки в норме и при патологии [5, 10].

Качественный анализ в основном имеет феноменологический описательный характер. Кроме того на конечные результаты могут оказывать влияние разные условия проведения исследований и различия в авторских методиках описания кристаллических структур. Стали разрабатываться подходы к количественному анализу морфологической картины фаций: коэффициент поясности, тезиграфический коэффициент, кристалличность, степень деструкции фаций [6]; отдельные характеристики кристаллов - длина, ширина, угол ветвления, число микроотростков [3, 4]. В последнее время одним из наиболее перспективных направлений в этой области является разработка новых компьютерных программ для анализа изображений кристаллической структуры фаций, позволяющих получать объективные статистически значимые результаты и быстро обрабатывать большой объем данных [12].

Целью данной работы является изучение возможностей использования специально разработанной компьютерной программы анализа кристаллографической картины фаций ротовой жидкости в диагностике воспалительных заболеваний пародонта различной степени тяжести.

Материалы и методы. При проведении работы были обследованы 90 пациентов: лица со здоровым пародонтом (20 человек), с диагнозом *хронический генерализованный катаральный гингивит* (ХГКГ) (35 человек), *хронический генерализованный пародонтит* (ХГП) различной степени тяжести (35 человек). Клиническое обследование пациентов помимо сбора анамнеза и осмотра включало в себя определение глубины пародонтального кармана, степени патологической подвижности зубов, рентгенологическое исследование (ортопантомограмма). Оценку стоматологического статуса производили по пародонтологическим индексам. Определяли индекс гигиены полости рта по J.C. Green, J.Vermillion (1969), индекс ПМА, пародонтальный индекс по A. Russel (1956).

Забор материала проводили через 3-5 часов после чистки зубов, при условии, что обследуемые не употребляли пищу в указанный промежуток времени. Ротовую жидкость собирали путем сплевывания в чистые высушенные пробирки. После этого материал центрифугировали при 3000 об/мин 10 минут. Надосадочную жидкость (2 мкл) наносили на чистое, сухое, обезжиренное предметное стекло в строго горизонтальном положении полуавтоматическим дозатором по шесть капель каждого образца. Стекла помещали в термостат на 30 мин при температуре 37°C. При завершении дегидратации получали фации ротовой жидкости, которые подвергали микроскопическому исследованию: микроскоп (Carl Zeiss, Jena) с видеоокулярном DCM 510 (5Мп) при конечном увеличении от 34 до 164 раз. Полученные изображения сохраняли в виде графических файлов в памяти компьютера. После этого проводили общее описание изображений кристаллографической картины фаций в норме и при воспалительных заболеваниях пародонта. Для обработки изображений применялась специальная компьютерная программа.

Для анализа изображения компьютерная программа использует некоторые особенности фации. Их форма обычно приближается к кругу и в структуре фаций ротовой жидкости достаточно четко можно выделить две зоны: «периферическая зона» и «центральная зона». Учитывая это проводилась аппроксимация указанных областей с помощью двух окружностей соответственно: по внешней кромке, на границе между периферической и центральной зонами. При этом программа рассчитывала относительную площадь периферической (SR1) и центральной (SR2) зон, нормированную на общую площадь фации. Кроме этого, определялось смещение центра центральной зоны (Sh 2-1) относительно центра периферической зоны.

Для анализа структурных особенностей фации компьютерной программой использовался типичный фрагмент, представляющий собой прямоугольный маркер. При проведении всех исследований он имел фиксированный размер. Для его расположения визуально выбирался наиболее структурированный участок фации. Типичный фрагмент рассматривался в черно-белом представлении, при этом программой автоматически устанавливалось одинаковое пороговое значение яркости. Структурные объекты, имеющие значение поля яркости выше или ниже порогового, представлялись соответственно в черном или белом цвете. С учетом этого, в пределах прямоугольного маркера рассчитывалось количество объектов белого цвета (N), средний размер объектов белого цвета (AS) и процент площади этих объектов (S). В данной работе использовались также такие характеристики, как коэффициент неоднородности поля яркости (Entr) и фрактальная размерность (D_{cong}).

Вычисление коэффициента неоднородности поля яркости (Entr) основано на представлении поля яркости фрагмента фации I (цветовая информация игнорируется) в виде функции от двух пространственных координат X и Y . Распределение яркости $I(X, Y)$ в пределах выбранного образца нормировалось на единицу и к нему применялась формула К. Шеннона (1963), обычно используемая для вычисления энтропии: $E = -\sum I(X, Y) \ln(I(X, Y))$, где суммирование проводилось по всем пикселям фрагмента. Величина E , вычисленная таким образом, отражает неравномерность распределения $I(X, Y)$ по полю фрагмента. Она принимает максимальное значение E_{max} при одинаковой яркости всех пикселей фрагмента и равна нулю при засветке только одного пикселя. Таким образом, показатель неоднородности поля $I(X, Y)$ может быть определен как:

$K=(1-E/Emax)\cdot 100\%$.

Фрактальная размерность (D_{cong}) применялась для характеристики поля яркости фрагмента фации после его преобразование в черно-белое представление, при установлении порогового значения яркости. Фрактальная размерность оценивалась для характеристики структуры полученного изображения с помощью алгоритма покрытия (*box counting*) (Б. Мандельброт, 2002). При этом полностью белый фрагмент изображения имеет размерность 2,0 (размерность плоскости), линия шириной в один пиксель имеет размерность 1,0, а единственная точка - 0.

Расчет статистических показателей проводился с использованием пакетов прикладных программ Statistica 8.0 for Windows и Microsoft Office Excel 2008.

Результаты. Согласно результатам исследования фации ротовой жидкости сохраняли общий принцип организации, свойственный биологическим жидкостям организма. В норме и при воспалительных заболеваниях пародонта происходило деление пространства фаций ротовой жидкости две зоны: периферическую и центральную.

При нормальном состоянии тканей пародонта периферическая зона фации была бесструктурна и не содержала каких-либо включений. При воспалительных заболеваниях пародонта для краевой зоны фации было характерно наличие радиальных полос у 26 (74%) обследованных при ХГКГ и у 35 (100%) - при ХГП. Прямые или аркообразные трещины встречались достаточно часто при патологии у 23 (66%) при ХГКГ и у 32 (91%) при ХГП. Наличие таких маркеров, как «морщины» и участки пигментации в краевой зоне были больше характерны для выраженного воспалительно-деструктивного процесса. «Морщины» в периферической зоне появлялись у 6 (17%) больных ХГКГ и у 20 (57%) - при ХГП. Пигментация в краевой зоне фации не встречалась у пациентов с ХГКГ и имела место у 14 (40%) обследованных при ХГП. У больных с ХГП в периферической зоне появлялись скопления бесструктурных образований (10 обследованных - 28%). Перечисленные элементы могли встречаться вместе в одной фации и различным образом сочетаться между собой.

При компьютерной обработке изображений фаций ротовой жидкости по мере утяжеления воспалительного процесса происходило увеличение относительной площади периферической зоны ($SR1$). Определение характеристик в типичном фрагменте краевой зоны в норме не проводилось, т.к. она не содержала каких-либо структур. При ХГП в отличие от ХГКГ происходило увеличение фрактальной размерности (D_{cong1}) и коэффициента неоднородности поля яркости ($Entr1$). Количество объектов белого цвета ($N1$) и их средний размер ($AS1$) возрастали при увеличении степени тяжести патологии. Соответственно этому, увеличивался и процент площади ($S1$), занимаемый этими объектами.

При ХГКГ в центральной зоне встречались два типа фаций ротовой жидкости. В фациях первого типа (12 обследованных - 34%) наряду с кристаллами, характерными для нормы, появлялись качественно отличные кристаллические структуры нескольких типов, которые могли сочетаться в одной фации. Это могли быть объемные структуры, имеющие плоские пластинчатые расширенные на концах ветви различного порядка и микроотростки; структуры с истонченными отростками; игольчатыми отростками; кристаллы, имеющие размытые контуры. Встречались кристаллические структуры в виде пальмового листа, у которых основной ствол, направленный к центру фации, сильно утолщался на конце вместе с микроотростками. Для второго типа фаций (23 человек - 66%) был характерен нарушенный рваный контур центральной зоны, появление дополнительных центров кристаллизации. В области центра фации, куда направлялись основные стволы кристаллов, наблюдались скопления мелких кристаллических образований на фоне кристаллов правильной формы. Кристаллографическая структура становилась более насыщенной. Появлялось большое количество кристаллов, имеющих искривления основного ствола и отростков. Была характерна большая степень ветвления отростков, которые становились более узкими, вытянутыми. Значительно увеличивалось количество кристаллов, имеющих асимметричный тип ветвления – только в одну сторону от основного ствола. При различной степени тяжести ХГП не происходило качественного изменения кристаллических структур. Имел место более выраженный характер встречающихся при патологии особенностей кристаллического рисунка, сходного с центральной зоной второго типа фаций при ХГКГ.

В общем, при воспалительных заболеваниях пародонта кристаллические структуры центральной зоны становятся более узкими, длинными, между ними практически нет свободных пространств, они наполняют почти всю поверхность центральной зоны. Изменения характера кристаллов центральной зоны фаций ротовой жидкости в норме и при воспалительных заболеваниях пародонта представлены на рис. 1.

При компьютерной обработке относительная площадь центральной зоны ($SR2$) уменьшалась по мере утяжеления патологии. При этом возрастало смещение центра центральной зоны ($Sh\ 2-1$) относительно центра периферической зоны. Фрактальная размерность (D_{cong2}) и коэффициент неоднородности поля яркости ($Entr2$) уменьшались по направлению от нормы до ХГП. Количество белых объектов центральной зоны ($N2$) возрастало, а их средний размер ($AS1$) уменьшался в этом же направлении. Соответственно этому, относи-

тельная площадь этих объектов (S2) центральной зоны фации снижалась от нормы до ХГП.

Соответствующие характеристики компьютерной обработки фаций ротовой жидкости в норме и при воспалительных заболеваниях пародонта представлены в табл. 1. Примеры фрагментов фаций в интерфейсе используемой программы показаны на рисунках 2, 3 и 4.

Таблица 1

Характеристики компьютерной обработки фаций ротовой жидкости в норме и при воспалительных заболеваниях пародонта ($M \pm m$)

Характеристики	Нормальное состояние тканей пародонта	ХГКГ	ХГП
Площадь периферической зоны (SR1)	0,09±0,0026	0,109±0,002*	0,165±0,003**
Площадь центральной зоны (SR2)	0,908±0,0026	0,890±0,002*	0,834±0,003**
Смещение центра центральной зоны (Sh 2-1)	0,006±0,0004	0,01±0,001*	0,012±0,001
Фрактальная размерность периферической зоны (D _{cont1}).	-	1,638±0,011*	1,93±0,01**
Фрактальная размерность центральной зоны (D _{cont2}).	1,85±0,004	1,803±0,005*	1,75±0,006**
Коэффициент неоднородности поля яркости периферической зоны (Entr1)	-	0,215±0,004*	0,392±0,018**
Коэффициент неоднородности поля яркости центральной зоны (Entr2)	0,911±0,03	0,641±0,018*	0,581±0,022***
Количество белых объектов периферической зоны (N1)	-	18,32±0,52*	34,6±1,16**
Количество белых объектов центральной зоны (N2)	131,4±3,92	235,7±6,02*	375,9±6,91**
Средний размер объектов белого цвета периферической зоны (AS1)	-	377,4±10,55*	447,5±15,12**
Средний размер объектов белого цвета центральной зоны (AS2)	289,0±12,76	140,1±4,12*	71,0±2,52**
Процент площади объектов периферической зоны (S1)	-	8,3±0,3*	18,4±0,78**
Процент площади объектов центральной зоны (S2)	44,7±0,74	39,0±0,79*	31,9±0,81**

Примечание: * - характеристики имеют достоверные различия по сравнению со значениями в группе лиц с нормальным состоянием тканей пародонта ($p < 0,01$); ** - характеристики имеют достоверные различия по сравнению со значениями в группе с ХГКГ ($p < 0,01$); *** - характеристики имеют достоверные различия по сравнению со значениями в группе с ХГП ($p < 0,05$).

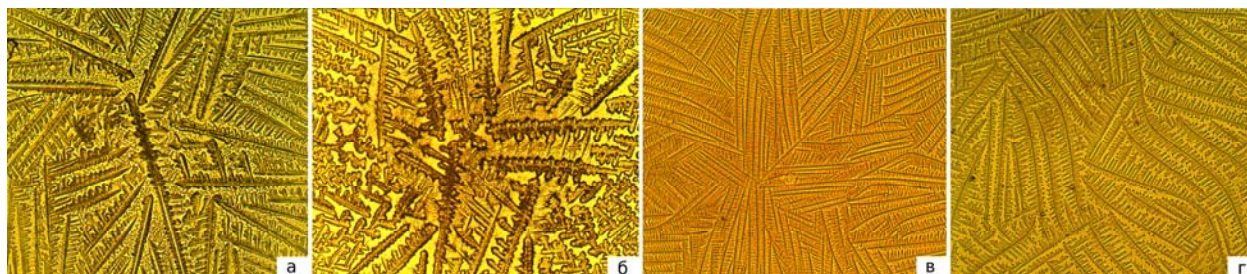


Рис. 1. Характер кристаллов центральной зоны фаций ротовой жидкости в норме (а), при ХГКГ (первый тип-б, второй тип-в), при ХГП (г) (ув.164).

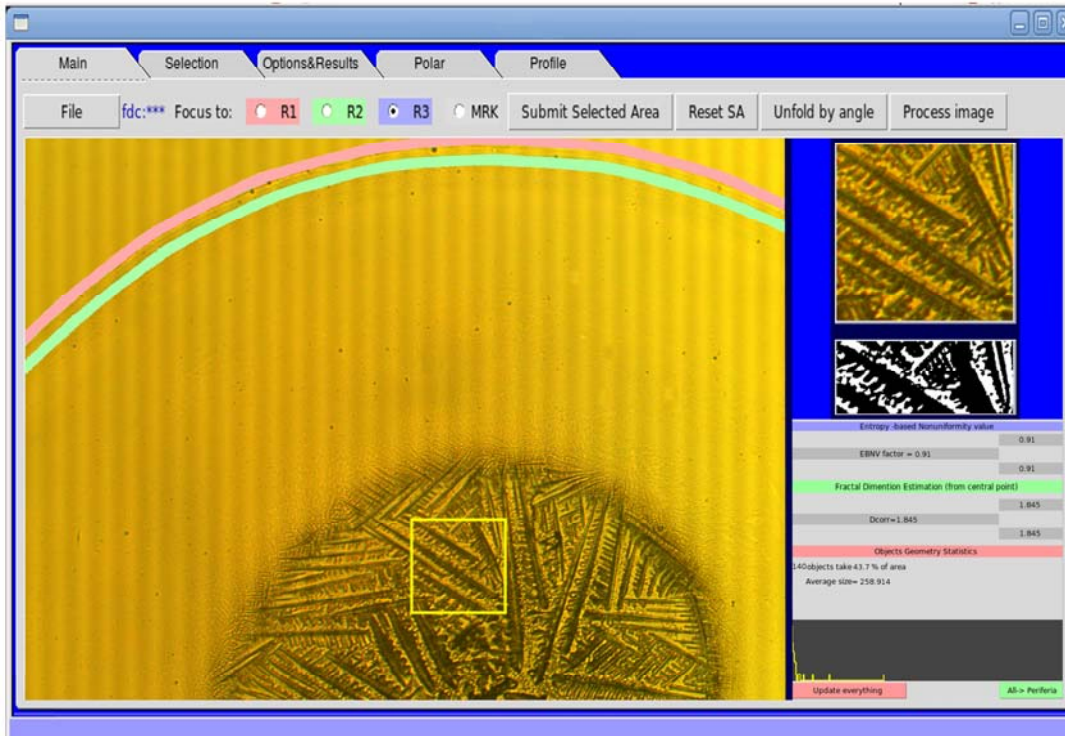


Рис.2. Фрагмент фации ротовой жидкости при нормальном состоянии тканей пародонта в интерфейсе используемой программы (ув.32).

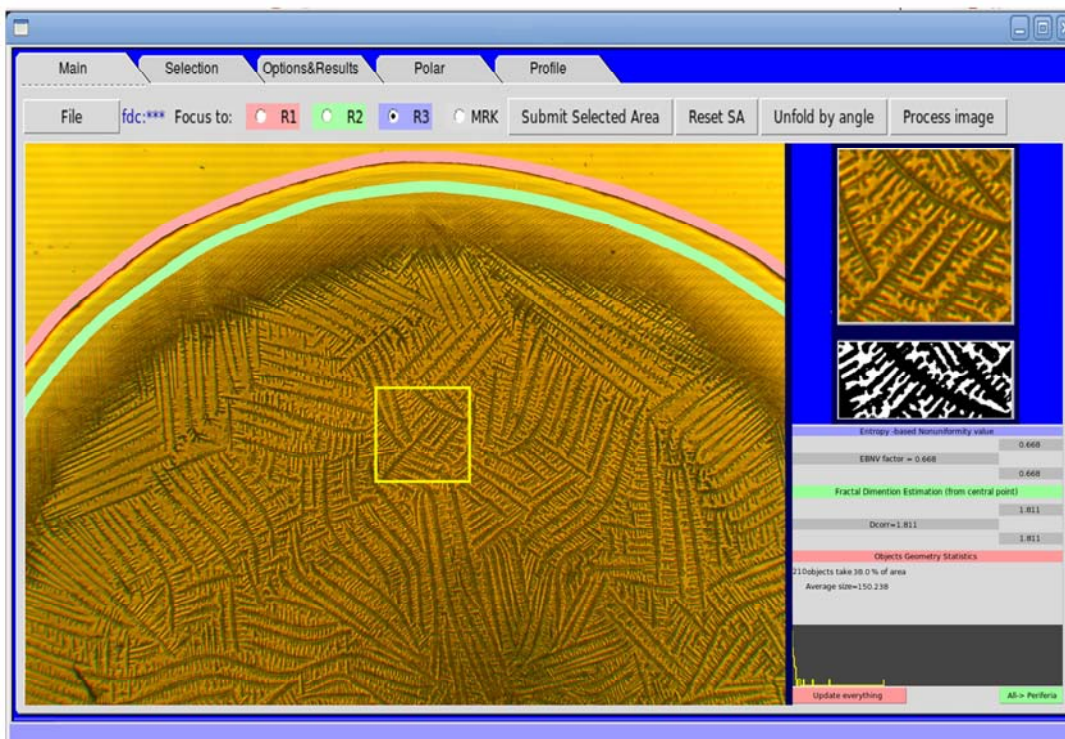


Рис. 3. Фрагмент фации ротовой жидкости второго типа при ХГКГ в интерфейсе используемой программы (ув.32).

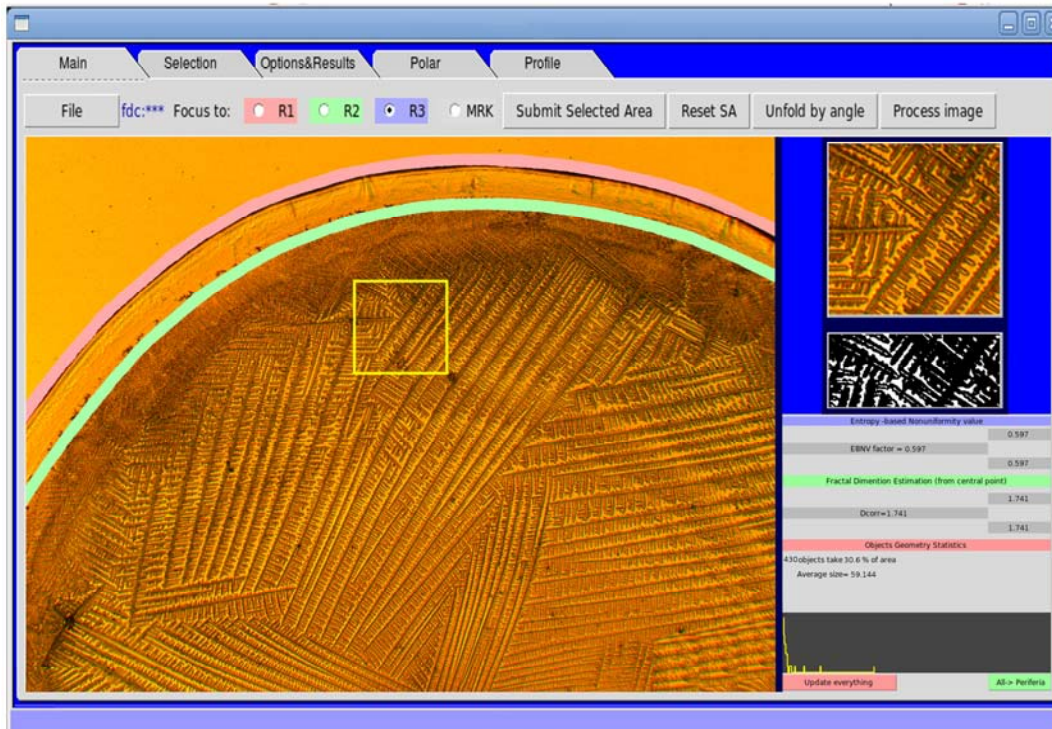


Рис. 4. Фрагмент фации ротовой жидкости при ХГП в интерфейсе используемой программы (ув.32).

Выводы. Согласно результатам исследования, специфические изменения характера кристаллических структур наблюдались в фациях ротовой жидкости при появлении и утяжелении воспалительно-деструктивного процесса в тканях пародонта. Изменение количественных показателей компьютерной обработки непосредственно связано и происходило на фоне качественных изменений кристаллографической картины, определяемых физико-химическими свойствами анализируемых жидкостей.

В фациях ротовой жидкости относительная площадь периферической зоны возрастала от нормы до ХГП, возможно, за счет увеличения белкового компонента ротовой жидкости. Развитие патологии было связано с появлением различных «маркеров» в бесструктурной в норме периферической зоне. Это давало возможность проводить количественную обработку указанной зоны. При компьютерном анализе типичного фрагмента происходило увеличение всех характеристик при переходе ХГКГ в ХГП.

В центральной зоне фаций в норме и при патологии сохранялась общая картина с кристаллическими структурами преимущественно дендритного характера, имеющими основной ствол и различный характер ветвления и форму отростков. Изменения касались прежде всего морфологии отдельных элементов кристаллов. Такие структуры различной формы могли сочетаться в центральной зоне одной фации между собой и с кристаллами, характерными только для нормы, что затрудняло качественный анализ нормы и различной степени тяжести воспалительных заболеваний пародонта.

Компьютерная обработка центральной зоны фаций ротовой жидкости отражала общий характер изменений структуры при патологии, связанный с большей насыщенностью элементами меньшего размера. Поэтому число объектов белого цвета при воспалительных заболеваниях пародонта увеличивалось, а их размер и процент занимаемой площади снижались. Поскольку при патологии часто встречались кристаллы с искривлениями основного ствола и отростков, полочками структуры и хаотичным направлением, коэффициент неоднородности поля яркости, характеризующий степень упорядоченности элементов, снижались по направлению утяжеления патологии. Фрактальная размерность имела наибольшие значения при нормальном состоянии тканей пародонта.

Таким образом, анализ общей организации фаций ротовой жидкости позволяет точно охарактеризовать состояние тканей пародонта в норме и при различной степени тяжести воспалительных заболеваний. Использование компьютерной обработки изображений может применяться для объективной количественной оценки полученных результатов, которая не зависит от качественного описания, сохраняет определенную

динамику изменений характеристик и позволяет проводить статистическую обработку. Данные особенности организации фаций ротовой жидкости могут иметь значение для уточнения диагноза, дифференциальной диагностики различной степени тяжести воспалительных заболеваний пародонта и контроля за результатами лечения.

Литература

1. Воложин, А.И. Оценка состояния пародонта по химическому составу сред полости рта / А.И. Воложин, Е.С. Филатова, Ю.А. Петрович, В.К. Ильин, О.Л. Фомина // *Стоматология*. – 2000. – №1. – С. 13–16.
2. Григорьев, И.В. Роль биохимического исследования слюны в диагностике заболеваний / И.В. Григорьев, А.А. Чиркин // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 1998. – №6. – С.18–20.
3. Денисов, А.Б. Алгоритм оценки кристаллических фигур, полученных при высушивании смешанной слюны / А.Б. Денисов // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2004. – Т. 138. – №7. – С.37–40.
4. Денисов, А.В. Кристаллические агрегаты ротовой жидкости у больных с патологией желудочно-кишечного тракта / А.В. Денисов, Г.М. Барер, Т.М. Стурова, И.В. Маев // *Российский стоматологический журнал*. – 2003. – №2. – С. 27–29.
5. Денисов, А.В. Использование кристаллогенных свойств слюны для ранней диагностики рака предстательной железы / А.В. Денисов, Д.Ю. Пушкарь, С.А. Денисов // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2006. – Т. 142. – №8. – С. 208–211.
6. Камакин, Н.Ф. Характеристика теziокристаллоскопического портрета биологических жидкостей организма человека в норме и при патологии / Н.Ф. Камакин, А.К. Мартусевич // *Вестник новых медицинских технологий*. – 2003. – Т. 10. – № 4. – С. 57–59.
7. Кидалов, В.Н. Постоянство непостоянного в теziограммах препаратов крови (к стандартизации исследований кристаллизации биологических жидкостей) / В.Н. Кидалов, А.А. Хадарцев, Ш.М. Багаутдинов, А.В. Четкин // *Вестник новых медицинских технологий*. – 2008. – Т. VI. – №4. – С.7–13.
8. Максимов, С.А. Морфология твердой фазы биологических жидкостей как метод диагностики в медицине / С.А. Максимов // *Бюллетень сибирской медицины*. – 2007. – № 4. – С. 80–85.
9. Разумова, С.Н. Диагностические и прогностические критерии стоматологической патологии по морфологической картине ротовой жидкости у пациентов различных возрастных групп: автореферат диссертации доктора медицинских наук / С.Н. Разумова. – М. – 2007. – 45с.
10. Селифанова, Е.И. Кристаллизация компонентов ротовой жидкости у больных сахарным диабетом 1-го типа / Е.И. Селифанова, С.Ю. Иванов, А.М. Мкртумян, А.Б. Денисов, М.В. Чачиашвили // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2005. – Т. 139. – №1. – С. 22–24.
11. Шабалин, В.Н. Морфология биологических жидкостей человека / В.Н. Шабалин, С.Н. Шатохина. – М.: «Хризостом», 2001. – 303с.
12. Шаповалова, О.Г. Диагностическая и лечебная тактика при отсутствии стойкой ремиссии у больных с заболеваниями пародонта: автореферат диссертации кандидата медицинских наук / О.Г. Шаповалова. – Самара. – 2010. – 24с.
13. Шатохина, С.Н. Диагностическое значение кристаллических структур биологических жидкостей в клинике внутренних болезней: автореферат диссертации доктора медицинских наук / С.Н. Шатохина. – М. – 1995. – 40с.
14. Шатохина, С.Н. Морфологическая картина ротовой жидкости: диагностические возможности / С.Н. Шатохина, С.Н. Разумова, В.Н. Шабалин // *Стоматология*. – 2006. – №4. – С. 14–17.