

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА КРИСТАЛЛОГЕННЫХ СВОЙСТВ СЛЮНЫ ЧЕЛОВЕКА

А.К. Мартусевич^{1,3}, О.И. Шубина², С.Ю. Краснова¹,

¹ФГБОУ ВО «Грибовский исследовательский медицинский университет», г. Н. Новгород.

²ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет», ³Ассоциация российских озонотерапевтов, г. Н. Новгород

Мартусевич Андрей Кимович – e-mail: cryst-mart@yandex.ru

Дата поступления
23.01.2018

Цель исследования: уточнение возможностей визуального количественного исследования и спектрометрического анализа кристаллоскопических и тезиграфических образцов ротовой жидкости человека. **Материал и методы.** Изучали собственную и инициированную кристаллизацию ротовой жидкости 95 практически здоровых взрослых людей без стоматологической патологии (возраст 24–27 лет). Кристаллоскопические и тезиграфические фации оценивали по визуаметрическим и спектрометрическим показателям. В качестве базисного вещества в тезиграфическом тесте применяли 0,9% раствор хлорида натрия. **Результаты.** На основании исследования собственного и инициированного кристаллообразования ротовой жидкости практически здоровых взрослых людей были установлены количественные визуаметрические и спектрометрические нормативы. Впервые для верификации результатов предложено сочетание визуальных и аппаратных методов оценки дегидратации биосреды. Полученные нормативы могут быть использованы для дальнейших исследований стоматологического или иного профиля, в которых методом является изучение кристаллизации ротовой жидкости.

Ключевые слова: слюна, кристаллизация, кристаллогенные свойства, биокристалломика.

The purpose of the study was clarification of the possibilities of visual quantitative study of crystalloscopic and teziographic facias of oral fluid of the person and their spectrometric analysis. **Material and methods.** We studied own and initiated crystallization of the oral liquid of 95 healthy adults without dental pathology (age 24–27 years). crystalloscopic and teziographic facias was evaluated by visuametric and spectrometric parameters. In teziographic test 0.9% sodium chloride solution was used as the basic substance. **Results.** On the basis of study of own and initiated the crystallogenesis of the oral fluid of healthy adults we stated quantitative visuametric and spectrometric patterns. For the first time we proposed combination of visuametric and instrumental methods in assessment of dehydration biological fluid to verify its results. The obtained norms can be used for further crystalloscopic researches in gastroenterology, stomatology etc.

Key words: saliva, crystallization, crystallogenetic properties, biocrystalloamics.

Введение

Саливадиагностика – сравнительно новая область медицинской науки, базирующаяся на информативности использования слюны (ротовой жидкости) в целях оценки состояния организма в целом и/или его отдельных органов и систем [1, 2]. Многими исследователями данной биосреды (гормонов, ферментов, метаболитов, ионов и т. д.), а также широкого спектра ее физико-химических свойств имеет большое теоретическое и практическое значение как для стоматологии, так и для других направлений медицины (гастроэнтерологии, гепатологии, эндокринологии, неврологии, медицинской энзимологии и т. д.) [2–6].

В последнее время возрастает интерес медицинской общности к ротовой жидкости как материалу для биокристаллоскопического исследования, рассматриваемого в качестве интегрального теста, дающего обобщенную информацию о составе и свойствах данной биожидкости [2, 3, 5–11]. Однако необходимо заметить, что большинство посвященных этому направлению работ стоматологов и представителей других специальностей методически базируется на качественном анализе и визуальном сравнении высушенных образцов [6, 10, 12–14], тогда как количественные критерии оценки результатов биокристаллоскопии, в том числе применение компьютерной обработки изображений фаций, и способы физико-химической верификации (в частности, рентгеноструктурный анализ образцов) получаемых результатов используются лишь небольшим числом исследователей [2, 9, 15].

Поэтому **целью настоящей работы** явилось уточнение возможностей визуального количественного исследования и спектрометрического анализа кристаллоскопических и тезиграфических образцов ротовой жидкости человека.

Материал и методы

Производили получение ротовой жидкости (РЖ) у 95 практически здоровых взрослых людей без стоматологической патологии (возраст 24–27 лет). Забор ротовой жидкости проводили в утренние часы (9–10 ч утра) в хорошо освещенном помещении. В течение трех часов перед исследованием испытуемые не выполняли значительных физических нагрузок и не находились в состоянии психоэмоционального напряжения. Перед сбором биосреды обследуемые в течение 5 минут тщательно прополаскивали рот бидистиллированной водой в количестве 100 мл. Затем собирали ротовую жидкость (количество – 1 мл) методом сплевывания в чистые сухие пробирки.

Далее приготавливали микропрепараты по методу тезиокристаллоскопии, сочетающему исследование собственной кристаллообразующей активности РЖ (классическая кристаллоскопия) и ее инициирующих свойств по отношению к одному базисному веществу (сравнительная тезиграфия) [16–18]. В качестве последнего в данной работе применялся 0,9% раствор хлорида натрия.

Оценка результатов кристаллоскопического и тезиграфического теста осуществлялась критериально, с использованием собственной системы параметров [18]. Она позволяет оценить общую кристаллизуемость (инициаторный потенциал –

в отношении тизиграфии) биосустрата, выраженность отдельных зон фации, степень деструкции кристаллических и аморфных элементов, равномерность их распределения по текстуре образца и др.

Данные визуальной морфометрии микропрепаратов высушенной РЖ дополнялись спектрометрическим исследованием кристаллоскопических и тизиграфических фаций, выполняемым на микроспектрофотометре PowerWave XS (США) при длинах волн 300, 350 и 400 нм. Для нивелирования влияния характеристик стекла на результаты спектрометрического исследования биокристаллов введена поправка на оптическую плотность самого материала (для кристаллоскопии) или контрольного образца базисного вещества, нанесенного на то же стекло (для тизиграфического теста).

Статистическую обработку полученных данных производили с помощью электронных таблиц Microsoft Excel 2007, а также с применением программы Primer of Biostatistics 4.03.

Результаты исследования

Анализ массива данных, полученных при визуальной морфометрии кристаллоскопических и тизиграфических фаций, а также спектрометрического исследования биокристаллов впервые позволил установить количественные тизокристаллоскопические «паттерны» дегидратации образцов РЖ по новой системе оценочных критериев.

В соответствии с этим алгоритмом производилось последовательное изучение характеристик собственной кристаллизации высушенного микропрепарата биосреды (таблица 1). Так, основным параметром, указывающим на количественную составляющую процесса, является кристаллизуемость (K_p), трактуемая нами как средняя плотность кристаллических образований в расчете на одно поле зрения. В норме уровень рассматриваемого показателя обнаруживается на высоких цифрах, т. к. РЖ является биосустратом с высокой кристаллогенной активностью [2, 6–9, 14, 17, 19].

Интегральным отображением качественных особенностей свободного кристаллогенеза РЖ, с наших позиций, является степень деструкции фации [3]. Отражая органоминеральный баланс биосреды, он обратно пропорционален степени нормализации последнего, в связи с чем у практически здоровых взрослых добровольцев уровень данного параметра выявлен на низких цифрах, приближающихся к нулю. Остальные оценочные показатели более точно характеризуют механизмы структурообразования РЖ при ее дегидратации. В их числе важно выделить критерий «выраженность краевой зоны», связанный с содержанием белка в изучаемой биосреде [6, 12].

Изучение инициаторного потенциала РЖ практически здоровых людей позволило установить его умеренную выраженность (по количественному параметру – основному тизиграфическому коэффициенту Q) (таблица 2). Этот факт верифицирован повышенной в 1,87 раза ($p < 0,01$) плотностью кристаллических структур в образце, представляющем собой аликвотную смесь РЖ и базисного вещества (1 : 1) по сравнению с контрольным образцом базисного соединения. Баланс «органические/минеральные вещества» в биосустрате практически здоровых лиц был умеренно смещен в сторону компонентов органического строения, на что указывает значение коэффициента поясности P , рассчитываемого как отношение диаметров максимального и мини-

мального поясов кристаллизации [16, 17]. В пользу оптимального уровня рассматриваемого баланса свидетельствует также достаточно низкая степень деструкции фаций у обследуемых взрослых.

Вторым этапом анализа кристаллоскопических и тизиграфических фаций являлось их спектрометрическое исследование (таблица 3). При изучении оптической плотности образцов на длинах волн 300 и 350 нм обнаружены статистически значимые различия для биокристаллов при свободной и инициированной кристаллизации РЖ ($p < 0,05$), что косвенно указывает на различный химический состав элементов кристаллоскопической и тизиграфической фации. Исследование уровня оптической плотности препаратов в близком к видимому диапазону спектра (400 нм) позволило обнаружить его приближение к нулю как в отношении

ТАБЛИЦА 1.
Кристаллоскопический «паттерн» ротовой жидкости практически здоровых взрослых людей

Параметр	Значение ($M \pm \sigma$)
Основной тизиграфический коэффициент (Q)	2,31±0,24
Коэффициент поясности (P)	2,16±0,18
Кристалличность (K)	Налипание
Степень деструкции фации (СДФ)	0,39±0,16
Равномерность распределения элементов в препарате (R)	4,05±0,36
Выраженность ячеистости (C)	1,27±0,14
Выраженность краевой зоны (Kz)	2,17±0,31
Четкость отдельных зон фации (Z)	1,78±0,24
Отчетливость текстуры образца (T)	2,17±0,18

ТАБЛИЦА 2.
Тизиграфический «паттерн» ротовой жидкости практически здоровых взрослых людей

Параметр	Значение ($M \pm \sigma$)
Основной тизиграфический коэффициент (Q)	1,87±0,21
Коэффициент поясности (P)	2,24±0,28
Кристалличность (K)	2,16±0,30
Степень деструкции фации (СДФ)	0,64±0,19
Равномерность распределения элементов в препарате (R)	3,96±0,41
Выраженность ячеистости (C)	1,58±0,24
Выраженность краевой зоны (Kz)	2,20±0,25
Четкость отдельных зон фации (Z)	1,86±0,21
Отчетливость текстуры образца (T)	2,09±0,17

Примечание: базисное вещество – 0,9% раствор хлорида натрия.

ТАБЛИЦА 3.
Оптическая плотность биокристаллов ротовой жидкости у практически здоровых взрослых

Длина волны, нм	Значение оптической плотности, усл. ед. ($M \pm \sigma$)	
	Кристаллоскопическая фация	Тизиграфическая фация
300	0,595±0,102	0,381±0,054*
350	0,084±0,014	0,117±0,012*
400	0,049±0,011	0,048±0,009

Примечание: базисное вещество в тизиграфическом тесте – 0,9% раствор хлорида натрия; статистическая значимость различий оптической плотности кристаллов кристаллограммы и тизиграммы при конкретной длине волны $p < 0,05$.

собственного, так и инициированного кристаллогенеза РЖ и нивелирование различий между ними ($p > 0,05$).

В целом полученные на достаточном материале количественные сведения о собственной кристаллогенной и инициирующей способности РЖ у практически здоровых взрослых людей можно использовать как референтные интервалы для широкого круга задач кристаллосаливадиагностики.

Выводы

1. Впервые установлены количественные параметры визуальной оценки кристаллизации РЖ и их уровень у практически здоровых взрослых людей.

2. Спектрометрия биокристаллов представляет интерес как новый способ экспресс-верификации результатов визуальной морфометрии тизеокристаллоскопических фаций.

3. Количественная кристалло-саливадиагностика имеет широкие исследовательские и клинико-диагностические перспективы в стоматологии и других дисциплинах медико-биологического профиля.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коротько Г.Ф. Секреция слюнных желез и элементы саливадиагностики. М. 2006. 132 с.
Korotko G.F. Sekretya slyunnykh zhelez i elementy salivadiagnostiki. M. 2006. 132 s.
2. Денисов А.Б. Микрокристаллизация слюны: новые методические подходы. Стоматология. 2007. Т. 86. № 5. С. 20-23.
Denisov A.B. Mikrokristallizatsiya slyuny: novye metodicheskie podkhody. Stomatologiya. 2007. T. 86. № 5. S. 20-23.
3. Артишевский А.А., Гайфуллина В., Мальковец О.Г. Кристаллизация агрегатов слюны в разные фазы овариально-менструального цикла. Современная стоматология. 2006. № 4. С. 74-77.
Artishevskiy A.A., Gaifullina V., Malkovets O.G. Kristallizatsiya agregatov slyuny v raznye fazy ovarial'no-menstrual'nogo tsikla. Sovremennaya stomatologiya. 2006. № 4. S. 74-77.
4. Гаврилова О.А. Количественная характеристика физико-химических свойств ротовой жидкости у дошкольников. Стоматология. 2004. Т. 83. № 2. С. 54-56.
Gavrilova O.A. Kolichestvennaya kharakteristika fiziko-khimicheskikh svoystv rotovoy zhidkosti u doshkol'nykh. Stomatologiya. 2004. T. 83. № 2. S. 54-56.
5. Ларина М.В. Зависимость типа микрокристаллизации ротовой жидкости от темперамента больного. Учебно-методическое пособие. Уфа. 2005.
Larina M.V. Zavisimost' tipa mikrokristallizatsii rotovoy zhidkosti ot temperamenta bol'nogo. Uchebno-metodicheskoe posobie. Ufa. 2005.
6. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Морфология биологических жидкостей человека. М. 2001.
Shabalin V.N., Shatokhina S.N. Morfologiya biologicheskikh zhidkostey cheloveka. M. 2001.
7. Алексеева О.П., Воробьев А.В. Кристаллография слюны – новый неинвазивный метод диагностики *H. pylori*. Нижегородский медицинский журнал. 2003. № 2. С. 73-78.
Alexeeva O.P., Vorobyov A.V. Kristallografiya slyuny – novyy neinvazivnyy metod diagnostiki H. pylori. Nizhegorodskiy meditsinskiy zhurnal. 2003. № 2. S. 73-78.
8. Антропова И.П., Габинский Я.Л. Кристаллизация биожидакости в закрытой ячейке на примере слюны. Клиническая лабораторная диагностика. 1997. № 8. С. 36-38.
Antropova I.P., Gabinskiy Ya.L. Kristallizatsiya biozhidkosti v zakrytoy yacheyke na primere slyuny. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. 1997. № 8. S. 36-38.
9. Денисов А.Б. Алгоритм оценки кристаллических фигур, полученных при высушивании смешанной слюны. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2004. Т. 136. № 7. С. 37-40.
Denisov A.B. Algoritm otsenki kristallicheskikh figur, poluchennykh pri vysushivaniy smeshannoy slyuny. Biulleten eksperimentalnoi biologii i meditsiny. 2004. T. 136. № 7. S. 37-40.
10. Чудакова И.О. Микрокристаллизация ротовой жидкости у лиц 15-25 лет с различной интенсивностью кариеса и ее изменения при акупунктурном воздействии. Здравоохранение. 2000. № 1. С. 17-19.
Chudakova I.O. Mikrokristallizatsiya rotovoy zhidkosti u lits 15-25 let s razlichnoy intensivnost'yu kariеса i ee izmeneniya pri akupunktur'nom vozdeystvii. Zdravoohranenie. 2000. № 1. S. 17-19.
11. De Aza P.N., Luklinska Z.B., Anseau M.R. et al. Bioactivity of pseudowollastonite in human saliva. J. Dent. 1999. Vol. 27. № 2. P. 107-113.
12. Барер Г.М., Денисов А.Б. Кристаллографический метод изучения слюны. М.: ФГОУ «ВУНМЦ Росздрава», 2008. 240 с.
Barer G.M., Denisov A.B. Kristallograficheskiy metod izucheniya slyuny. M.: FGOU «VUNMC Roszdrava», 2008. 240 s.
13. Барер Г.М., Денисов А.Б., Стурова Т.М. Вариабельность кристаллических агрегатов ротовой жидкости в норме. Российский стоматологический журнал. 2003. № 1. С. 33-35.
Barer G.M., Denisov A.B., Stukova T.M. Variabel'nost' kristallicheskikh agregatov rotovoy zhidkosti v norme. Rossiiskiy stomatologicheskii zhurnal. 2003. № 1. S. 33-35.
14. Михалева И.Н., Ревокатова И.П., Барер Г.М., Денисов А.Б. Кристаллизация ротовой жидкости при различных условиях. Проблемы нейростоматологии и стоматологии. 1998. № 1. С. 4-6.
Mikhaleva I.N., Revokatova I.P., Barer G.M., Denisov A.B. Kristallizatsiya rotovoy zhidkosti pri razlichnykh usloviyakh. Problemy neirostomatologii i stomatologii. 1998. № 1. S. 4-6.
15. Мубаракова Л.Н. Возможности использования методов спектрального анализа в сравнительном аспекте комплексного лечения осложненного течения переломов нижней челюсти. Российский стоматологический журнал. 2008. № 5. С. 38-41.
Mubarakova L.N. Vozmozhnosti ispol'zovaniya metodov spektral'nogo analiza v sravnitel'nom aspekte kompleksnogo lecheniya oslozhnennogo techeniya perelomov nizhney chelyusti. Rossiiskiy stomatologicheskii zhurnal. 2008. № 5. S. 38-41.
16. Воробьев А.В., Мартусевич А.К., Перетыгин С.П. Кристаллогенез биологических жидкостей и субстратов в оценке состояния организма. Н. Новгород. 2008. 384 с.
Vorobyov A.V., Martusevich A.K., Peretyagin S.P. Kristallogenez biologicheskikh zhidkostey i substratov v otsenke sostoyaniya organizma. N. Novgorod. 2008. 384 s.
17. Гуляева С.Ф., Мартусевич А.К., Кошкин А.Н., Помаскина Т.В. К проблеме саливадиагностики заболеваний желудочно-кишечного тракта: математические аспекты. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2004. № 1. С. 42.
Guliaeva S.F., Martusevich A.K., Koshkin A.N., Pomaskina T.V. K probleme salivadiagnostiki zabolevaniy zheludochno-kishechnogo trakta: matematicheskie aspekty. Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya. 2004. № 1. S. 42.
18. Мартусевич А.К., Камакин Н.Ф. Унифицированный алгоритм исследования свободного и инициированного кристаллогенеза биологических жидкостей. Клиническая лабораторная диагностика. 2007. № 6. С. 21-24.
Martusevich A.K., Kamakin N.F. Unifitsirovannyy algoritm issledovaniya svobodnogo i initiirovannogo kristallogeneza biologicheskikh zhidkostey. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. 2007. № 6. S. 21-24.
19. Болгов С.В., Лошкарев В.П., Коротких Н.Г., Пашков А.Н. Влияние факторов внешней среды на кристаллизацию ротовой жидкости. Стоматология. 2002. Т. 81. № 4. С. 13-16.
Bolgov S.V., Loshkarev V.P., Korotkikh N.G., Pashkov A.N. Vliyanie faktorov vneshney sredy na kristallizatsiyu rotovoy zhidkosti. Stomatologiya. 2002. T. 81. № 4. S. 13-16.