

УДК 616.314-001.4-084-08

І.М. Ткаченко

КРИСТАЛОГРАФІЧНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ РОТОВОЇ РІДИНИ В КОМПЛЕКСНОМУ ОБСТЕЖЕННІ СТОМАТОЛОГІЧНИХ ПАЦІЄНТІВ

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія»

Основну мінералізуючу функцію в порожнині рота виконує слина, що в більшості випадків спрямоване на підтримання фізіологічної рівноваги процесів ре- та демінералізації емалі зубів і постійного складу її поверхневого шару після різного роду шкідливих впливів.

У наукових дослідженнях і практичній медицині значна увага приділяється лабораторним методам дослідження, що полегшує встановлення діагнозу і проведення диференційованої діагностики. Мінералізуючий потенціал слини можна оцінювати за характером її мікрокристалізації.

Як відомо, біологічні речовини при висушуванні кристалізуються, це стосується і ротової рідини. У різних патологічних станах у організмі особливості кристалізації змінюються, тому саліварні критерії відбивають не тільки місцеві, а й загальні реакції організму. При дегідратації ротової рідини структуроутворення твердої фази відбувається з урахуванням специфічних взаємозв'язків структурних компонентів (крім фізичних законів і зовнішніх умов), що дозволяє їх аналізувати.

Мета нашого дослідження – вивчення особливостей мікрокристалізації ротової рідини в пацієнтів із різною стоматологічною патологією.

Матеріали та методи дослідження

Принцип методу полягає в здатності кристалоутворювальної речовини при висушуванні утворювати кристали різних форм і різної орієнтації в просторі.

Забір змішаної слини об'ємом 0,2-0,3 мл здійснювали з дна порожнини рота за допомогою стерильної піпетки. На предметне скло, попередньо оброблене спиртом, наносили не менше 3 крапель слини. Висушування відбувалося при кімнатній температурі самостійно. Висушені предметні стекла пакували в контейнери і направляли в лабораторію на дослідження.

Структуру кристалограм оцінювали макроскопічно - кількість центрів кристалізації та характер малюнку, а також мікроскопічно - структуру і зміну кристалів [1].

Структуру зразків слини вивчали за допомогою оптичного мікроскопа «Leica DLMS-LS» (Німеччина) з фотоапаратом «Nikon DM v.581-80». Зйомку проводили за допомогою лампи розжарювання в режимі білого світла. Замір експозиції - матричний, дозвіл - XGT (1024 X 768). Захоплення зображення проводили за допомогою відеоплати «FlyVideo'98 Capture Driver v. 1.0.0.0». Отримане зображення передавалося на екран монітора. Спочатку при малому збільшенні сканували всю

поверхню висушеної краплі, а потім при великому збільшенні досліджували окремі ділянки поверхні з різною морфологією. Вибрані ділянки кристалограми записували у вигляді графічного файлу на комп'ютері. Файли зберігалися як растрове зображення з роздільною здатністю RGB 24 bit у форматі BMP.

Результати та їх обговорення

В ході дослідження ми намагалися розкрити механізми формування певної структури краплі білка ротової рідини при дегідратації, ґрунтуючись на доступних нам працях [2-6]. Можливість застосування цього методу в медичних дослідженнях обґрунтували В.Н. Шабалін і С.Н. Шадохіна, які дали основні характеристики морфологічних структур біологічної рідини (переважно крові) в нормі та при патології [7,8].

Авторами методу виокремлено особливості структуризації біологічної рідини в практично здорових людей, що характеризуються наявністю центральної, периферичної і перехідної зон. При дегідратації БР утворюється сфероїдна фазія (висушена крапля БР), основними структурними елементами якої є тріщини (радіальні та поперечні), сектори та конкреції. При патологічних станах спостерігається порушення симетричності малюнку фазії, а також утворення додаткових структур - бляшок, зморшок, листовидних утворів, «килимів Серпінського», різних анізотропних морфотипів та ін. [7-9].

Із застосуванням «нативної кристалографії» зроблено спробу створення експертних ознак сухої фази слини з наступним перекладом і обробкою кристалограм у графічних редакторах [10]. Представлені морфологічні ознаки (довжина, ширина і форма кристалів, кут і асиметрія розгалуження та ін.) характеризують за статтю, частотою, зустрічальністю в нормі та при патології [11,12].

За результатами проведених досліджень створено банк даних типових структур твердої фази ротової рідини, що дозволило класифікувати мікротипи за біохімічним складом.

З аналізу морфології дослідних зразків можна говорити про те, що нами виділені кілька типів, з яких будується структура зразків:

- включення (рис.1), один або кілька кристаликів розміром 0,5-2 мкм (а);
- кристали (рис.2), більше десяти розміром більше 5 мкм (b);
- дендритні або у вигляді «ялинки» (рис.3), структура (с);

- голчасті (рис.4), структура (d);
- нитки (рис.5), які можуть утворювати «ажурні», стільникові структури (е).

На всіх малюнках відстань між великими штрихами відповідає 10 мкм.

Однак слід зазначити, що в більшості своїй різні ділянки в межах одного зразка мають не один, а кілька з вищеперерахованих типів структури.

Слід також указати на невелику щільність заповнення структурними елементами площі зразків (у окремих випадках перевищує 60%). Згадані вище структури складаються з кристалітів, і цьому є два пояснення або докази.

1. На рисунку 4 видно, що структури b і c складаються з дрібних включень величиною, яка по порядку збігається зі структурою типу a.

2. Зйомка структури типу a при нахилі для деяких включень дозволяє говорити про огранювання, а це достеменно ознака того, що маємо справу з кристалічною структурою.

Зазначимо і той факт, що ділянки, де спостерігаються тільки структури a і b типів, розташовані найчастіше на краю зразка, що робить оцінку про частки і концентрації даної структури сильно завищеною. У різних місцях краю зразка товщина (щільність) дуже змінюється. Тому кількісну оцінку слід проводити досить обережно у зв'язку з великою похибкою.

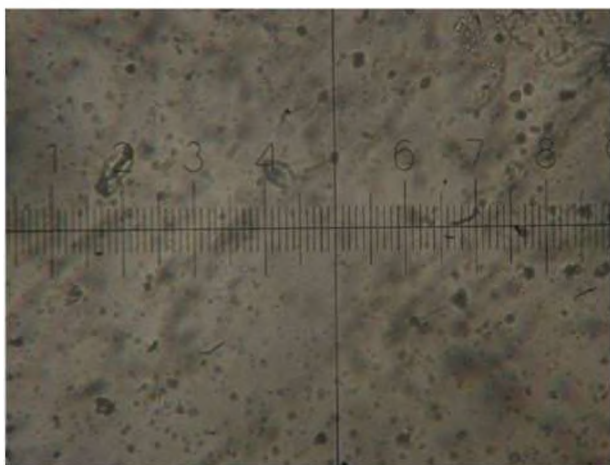


Рис.1. Висушена слюна з включеннями одного або кількох кристалітів розміром 0,5-2 мкм (тип «а»)



Рис.2. Висушена слюна з включеннями кристалітів більше десяти розміром більше 5 мкм (тип «b»)



Рис.3. Висушена слюна з дендритними або у вигляді «ялинок» кристалами (тип «с»)



Рис.4. Висушена слюна з голчастими структурами кристалів (тип «d»)

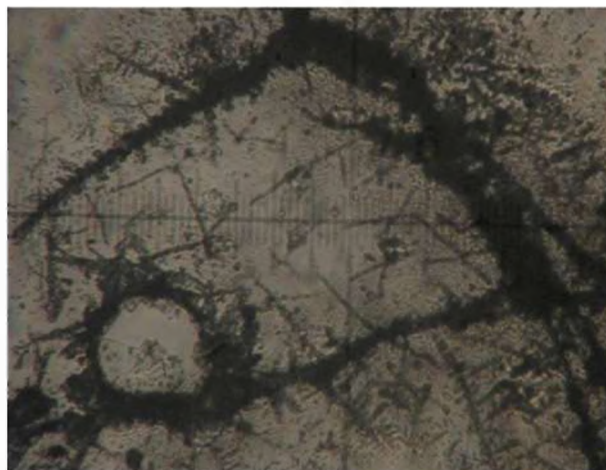


Рис.5. Висушена слюна з кристалами у вигляді ниток, які можуть утворювати «ажурні», стільникові структури (тип «е»)

Зазначені методи вивчення морфологічних особливостей твердої фази БР із різним успіхом застосовуються в найрізноманітніших галузях медицини і зокрема стоматології.

Порожнина рота безпосередньо пов'язана зі шлунково-кишковим трактом, тому зміни в ньому будуть безпосередньо пов'язані зі зміною мікрокристалізації ротової рідини, що треба враховувати при встановленні діагнозу.

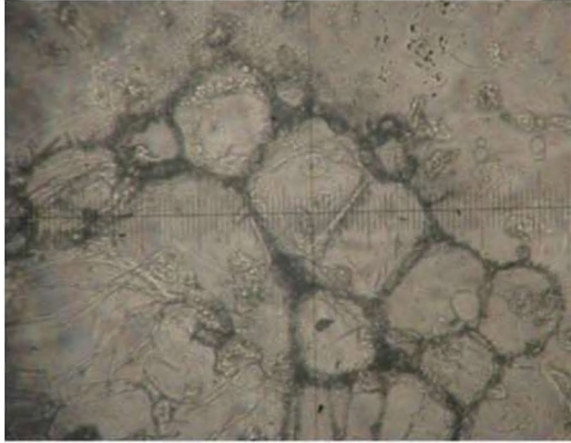
За допомогою кристалографічного методу дослі-

дження ротової рідини ми намагалися виділити незалежну або комбіновану структуру мікрокристалізації, характерну для пацієнтів, які не мають стоматологічної патології та змін із боку внутрішніх органів.

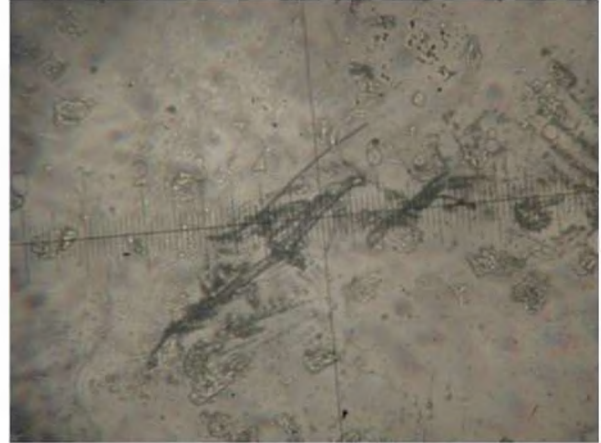
При статистичній обробці результатів у пацієнтів контрольної групи виявлено досить значну в

порівнянні з іншими структурами частку структури «е», яка складала $0,92 \pm 0,29\%$.

На рис. 6 наводимо фотографію незалежної структури «е» висушеної ротової рідини пацієнта контрольної групи.



А



В

Рис. 6. Фотографія незалежної структури «е» висушеної ротової рідини пацієнта В..22 р. (контрольна група). карта обстеження № 24. примірник дослідження №49: А – незалежна структура «е» у вигляді ажурних, «стілникових» структур; В – незалежна структура «е» у вигляді ниток

Незалежна структура «с» зустрічалася набагато рідше і становила $0,17 \pm 0,39\%$ загалу. Змішані структури також зустрічалися в невеликій кількості випадків. Структура «с+а» в цій групі складала $0,17 \pm 0,39\%$, а структура «а+в» – $0,25 \pm 0,45\%$.

Оцінюючи масові частки структури «е», яка переважно зустрічалася в контрольній групі, можемо зауважити, що масова частка її була більшою і складала $2311,67 \pm 1600$, що в площі зразка займало $66,33 \pm 40,76\%$.

На рисунках 7 і 8 наведено структури «с» і «а+в», які виявили в пацієнтів контрольної групи.



Рис. 7. Фотографія незалежної структури «с» висушеної ротової рідини пацієнта В.. 32 р. (контрольна група). карта обстеження № 18. примірник дослідження № 38



Рис. 8. Фотографія незалежної структури «а+в» висушеної ротової рідини пацієнта Л., 32 р. (контрольна група). карта обстеження № 17. примірник дослідження №45

Підсумовуючи отримані нами результати, можемо стверджувати, що в умовах норми і патології людський організм працює як одне ціле. Зміна окремих компонентів у системі обов'язково призведе до ускладнення або порушення в системі загалом. Отже, вивчення особливостей кристалізації дасть можливість визначити типи мікрокристалізації при різних типах стоматологічної патології.

Література

1. Шатохина С.Н. Морфология биологических жидкостей организма человека / С.Н. Шатохина, В.Н. Шабалин. - М.: Наука, 2001. - 361 с.
2. Гольбрайх Е. О. формировании узора трещин в свободно высыхающей пленке водного раствора белка / Е. Гольбрайх, Е.Г. Рапис, С.С.Моисеев // Журнал технической физики. - 2003. - Т. 73, № 10. - С. 116-121.

3. Сазонов А.М. Кристаллографический метод исследования в медицине / А.М. Сазонов, Л.А. Мороз, Д.Б.Каликштейн // Советская медицина. - 1985. - № 6. - С. 27-33.
4. Стурова Т.М. Особенности кристаллизации слюны при заболеваниях органов пищеварения / Т.М. Стурова : автореф. дис. ... канд. мед. наук.- М., 2003.- 20 с.
5. Тарасевич Ю.Ю. Механизмы и модели дегидратационной самоорганизации биологических жидкостей // Успехи физической науки. - 2004. - Т. 174, № 7. - С. 779-790.
6. Харченко С.В. Кристаллическая структура ротовой жидкости, природа и свойства / С.В.Харченко, Г.А.Корнеева, А.А. Ветров // Известия АН СССР. Серия «Биология». - 1988. - № 3. - С. 450-455.
7. Шабалин В.Н. Аутогенные ритмы и самоорганизация биологических жидкостей / С.Н. Шатохина, В.Н. Шабалин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1996. - № 10. - С. 364-371.
8. Шабалин В.Н. Морфология биологических жидкостей в клинической лабораторной диагностике / С.Н. Шатохина, В.Н. Шабалин // Клиническая лабораторная диагностика. - 2002. - № 3. - С. 25-32.
9. Ченцова О.Б. Кристаллографический метод исследования слезной жидкости в диагностике некоторых заболеваний глаз / О.Б.Ченцова, О.И.Прошина, Л.И. Маркушева // Вестник офтальмологии. - 1990. - Т. 106, № 2. - С. 44-47.
10. Барер Г.М. Вариабельность кристаллических агрегатов ротовой жидкости в норме / Г.М. Барер, А.Б.Денисов, Т.М. Стурова // Российский стоматологический журнал. - 2003. - № 1. - С. 33—35.
11. Громова И.П. Кристаллоскопический способ изучения сыворотки крови в токсиколого-гигиеническом эксперименте методом «открытая капля» // Гигиена и санитария.- 2005. - № 1. - С. 66-69.
12. Тарасевич Ю.Ю. Механизмы и модели дегидратационной самоорганизации биологических жидкостей // Успехи физической науки. - 2004. - Т. 174, № 7. - С. 779-790.

**Стаття надійшла
12.09.2014 р.**

Резюме

Исследованы особенности микрокристаллизации ротовой жидкости у пациентов с повышенной стертойостью зубов на основе кристаллографического анализа. Получено пять основных видов ориентации кристаллов при высушивании ротовой жидкости, что в дальнейшем можно использовать для адекватной диагностики и выбора профилактических мероприятий при различной стоматологической патологии.

Ключевые слова: минерализация слюны, кристаллообразование, типы микрокристаллизации ротовой жидкости.

Резюме

Досліджено особливості мікрокристалізації ротової рідини в пацієнтів із підвищеною стертістю зубів на основі кристаллографічного аналізу. Отримано п'ять основних видів орієнтації кристалів при висушуванні ротової рідини, що надалі можна використовувати для адекватної діагностики та вибору профілактичних заходів при різній стоматологічній патології.

Ключові слова: мінералізація слини, кристалоутворення, типи кристалоутворення ротової рідини.

UDK 616.314-001.4-084-08

CRYSTALLOGRAPHIC METHODS IN ORAL FLUID COMPLEX EXAMINATION OF DENTAL PATIENTS

I.M. Tkachenko

High state educational establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy"

Summary

The main mineralization function in the mouth takes saliva, which in most cases are aimed at maintaining physiological balance, reformatting processes, demineralization of tooth enamel and permanent compound of the surface layer after various kinds of negative influences.

In scientific research and medical practice, considerable attention is given to facilitate the differential diagnosis of the laboratory methods. Mineralization potential of saliva may assess the nature of microcrystalization.

In various pathological conditions in the body, crystallization feature of the saliva reflects not only local, but also common reactions. When dehydration of the oral fluid, structure formation occurs with the specific interactions of structural components (except physical laws and environmental conditions), it allows them to be analyzed.

The principle of the method is the ability of a substance to crystallize on drying to form crystals of different shapes and different orientations in space.

Assessment of crystallogram performed macroscopically - the number of crystallization centers and nature of drawing and microscopically - structure and changing crystals.

In the study, we tried to reveal the mechanisms of protein structure in the drops of oral fluid dehydration.

With the use of "native Crystallography" attempt to create expert evidence saliva dry phase followed by translation and processing crystallogram in image editors.

The result of our studies is database of typical structures of solid oral liquid phase, which will allow us to classify the micro types on biochemistry.

From the analysis of the morphology of prototypes can say that we have identified several types of which the structure of the samples:

- the inclusion of one or more crystals, the size of 0.5-2 microns (a)
- crystals over a decade, larger than 5 microns (b)
- dendritic or as a "tree" structure (c)
- needle structure (d)
- threads that can make "delicate" cellular structure (e)

These methods for studying morphological features solid phase biological fluids with varying success used in various fields of medicine, including dentistry.

The oral cavity directly related to the gastrointestinal tract, so changes in it will be directly related to changes in microcrystalization of the oral fluid that should be considered when establishing the diagnosis. Summarizing our results, we can say that the human body works as a unit. Changing individual components in the system must lead to complications or irregularities in the system as a whole. So exploring features of crystal formation will allow us to define types of the microcrystalization in different types of dental pathology.

Key words: salinity saliva, crystal formation, types of oral liquid crystal formation.