

ОДЕССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

**ЛАЗЕРНАЯ КОРРЕЛЯЦИОННАЯ  
СПЕКТРОСКОПИЯ  
РОТОГЛОТОЧНЫХ СМЫВОВ  
В СТОМАТОЛОГИИ И  
ОТОРИНОЛАРИНГОЛОГИИ**

Методические рекомендации

ОДЕССА – 2001

УДК 616.316-008.8-073.584:616.327:615.849.19  
ББК 55.696.8-4+56.612-4+56.825-4

Лазерная корреляционная спектроскопия ротоглоточных смывов в стоматологии и оториноларингологии: Методические рекомендации / Сост.: Ю. И. Бажора, Л. О. Носкин, Л. Д. Чулак, К. М. Косенко, С. П. Пашолок, М. Ф. Киселев, Г. Д. Комаров – Одесса: Одес. гос. мед. ун-т, 2001. – 40 с.

Для врачей, научных сотрудников, лаборантов и студентов.

Составители:

**Бажора Юрий Иванович** – зав. кафедрой клинической иммунологии, генетики и медицинской биологии ОГМУ, д-р мед. наук, профессор

**Носкин Леонид Алексеевич** – ведущий научн. сотр. отдела молекулярной и радиационной биофизики С.-Петербургского НИИ ядерной физики им. акад. АН СССР Б. П. Константинова Российской академии наук, д-р биол. наук, профессор

**Чулак Леонид Дмитриевич** – зав. кафедрой ортопедической стоматологии ОГМУ, д-р мед. наук, профессор

**Косенко Константин Николаевич** – Главный специалист-стоматолог МЗ Украины, директор Одесского НИИ стоматологии АМН Украины, зав. кафедрой терапевтической стоматологии ОГМУ, д-р мед. наук, профессор

**Пашолок Сергей Петрович** – аспирант кафедры клинической иммунологии, генетики и медицинской биологии ОГМУ

**Киселев Михаил Федорович** – старший научный сотрудник Федерального Управления медико-биологических и экспериментальных проблем МЗ Российской Федерации

**Комаров Георгий Дмитриевич** – старший научный сотрудник Государственного санитарно-эпидемиологического надзора Юго-Восточного Административного Округа г. Москвы

Рецензенты:

**Мардашко Алексей Алексеевич** – зав. кафедрой медицинской химии ОГМУ, д-р мед. наук, профессор

**Викулин Иван Михайлович** – зав. кафедрой физико-оптической связи Украинской государственной академии связи им. А. С. Попова, д-р физ.-мат. наук, профессор, академик Международной академии информатизации ООН, Заслуженный изобретатель Украины, Лауреат Государственной премии СССР

*Рекомендовано к изданию Ученым Советом  
Одесского государственного медицинского университета*

*Протокол № 6 от 15.03.2001 г.*

## ВВЕДЕНИЕ

Исследование субфракционного макромолекулярного системного и местного гомеостаза разнообразных биологических жидкостей приобретает все возрастающее значение с целью диагностики физиологического и патологического состояний макроорганизма [1-5].

Современные лабораторные методы идентифицируют полностью растворенные или взвешенные в биологической жидкости ее составные частицы, ориентируясь на химическую структуру и/или антигенные свойства частиц. С этой целью в клинико-лабораторной практике рекомендованы к использованию количественные методы, которые используют электрофоретическую, седиментационную, хроматографическую, ультрафильтрационную, аффинсорбционную и т. п. технику. Вне зависимости от указанных технических приемов, во всех этих подходах определяется весовое и/или объемное соотношение отдельных макромолекулярных ингредиентов. Тем не менее, не решена проблема технической сложности многих из этих методов диагностики, продолжительности самого процесса анализа, необходимости использования значительных объемов биологической жидкости, разделение ее на отдельные компоненты, когда, несомненно, игнорируется природа интимных межмолекулярных взаимодействий, которые отвечают за наличие именно биологически активных компонентов нативной биологической среды. Последнее обстоятельство является существенным при организации и проведении массовых мониторинговых и скрининговых исследований.

Характер физиологических и, в особенности, патологических (в том числе – предпатологических) состояний довольно часто коррелирует не столько со специфичностью сдвигов в концентрации отдельных ингредиентов биологической жидкости, сколько с измененной функцией этих составных, то есть с измененным характером межмолекулярных взаимодействий. Соотносясь с подобной общенаучной точкой зрения, можно утверждать, что методы, способные идентифицировать именно характер субфракционного состава в образцах нативных биологических жидкостей, будут оказывать

содействие повышению информативности при диагностике валео- и саногенетических состояний эффекторных систем организма. Среди существующих аналогов подобных методов следует указать на осмометрические, кондуктометрические, потенциометрические и нефелометрические методы, определяющие многопараметровые нарушения в образцах биологических жидкостей, максимально приближенных к состоянию нативных, но это преимущество нивелируется тем обстоятельством, что результаты исследований всегда представляются в интегрированном виде, то есть без строгого приближения к определенным биологическим составляющим. Проиллюстрировать эту информационную неравнозначность можно на примере нефелометрических методов, когда повышение нефелометрических параметров одновременно может означать как дополнительный вклад сильнорассеивающих субстанций, так и заметное снижение концентрации слабо рассеивающих биологических составляющих или разнонаправленное изменение степени агрегации разнообразных над- и супермолекулярных комплексов.

Отсюда становится очевидным, что диагностическая ценность преднозологической диагностики заметно выросла, если бы изменения в светорассеивающей активности возможно было бы дифференцировать относительно конкретных, причем строго определенных, ингредиентов нативной биологической жидкости [6-10].

Современные методы клинико-лабораторной диагностики патологических процессов, мониторинг эффективности лечения, критерии прогнозов и т.п. строятся на определении целого комплекса многочисленных параметров системного и (или) местного секреторного гомеостаза, которые включают значительное количество показателей водно-солевого обмена, кислотно-щелочного равновесия, уровней белкового, глико-, липопротеинового и углеводного метаболизма, активности ферментов, энзимоактивных комплексов, компонентов гуморального звена иммунной системы и т.п. Тем не менее,

традиционные способы индикации, хорошо обеспечивая качественное определение и количественное измерение некоторого, строго ограниченного числа параметров, требуют набора многих сложных устройств, ценного оснащения и весьма дефицитных и дорогостоящих реактивов. Кроме того, общепринятые экспериментальные и клинические методики исследования, как правило, требуют выполнения препаративных процедур (например, обязательный для них этап фракционирования), вследствие которых нарушаются или даже полностью разрушаются реально существующие в нативном биологическом субстрате межмолекулярные взаимодействия.

Патологический процесс, влияя на гомеостатические показатели, всегда изменяет соотношения между реально существующими в нативной среде биологически активными ингредиентами. Любая биологическая нативная среда характеризуется относительным постоянством биохимических составляющих, тем не менее, типические патофизиологические процессы, которые всегда развиваются при разнообразных патологических состояниях, приводят к значительному нарушению гомеостатических показателей как на системном, так и на местном уровнях, с неминуемым изменением составных водно-солевого обмена и кислотно-щелочного равновесия, содержания кристаллоидов и активности ферментов, концентрации белков и биологически-важного соотношения [белковые фракции / липо- и гликопротеиды], накоплением (или же, наоборот, разрушением) реально существующих иммунных комплексов (в том числе – циркулирующих), продуктов деградации и целлюлярно-токсических веществ, которые являются практически полностью отсутствующими, или присутствующими в минимальных концентрациях, в биологической жидкости практически здоровых людей. Почти все эти компоненты, растворенные или нет, характеризуются определенными гидродинамическими радиусами  $R_h$  (нм), которые в строго определенном диапазоне размеров (от 1,0 до 10000,0 нм) регистрируются с помощью метода экспрессной лазерной

корреляционной спектроскопии. Принципиальная возможность структурно-функционального анализа макромолекулярных составляющих биологических жидкостей, которая предоставляется методом ЛКС-метрии, ряд безоговорочных технических преимуществ и т.п., являются важными в биолого-медицинских исследованиях.

Целью методических рекомендаций является ознакомление широкого круга научных сотрудников, практических врачей стоматологического и оториноларингологического профилей, врачей-лаборантов и студентов медицинских ВУЗов с унифицированной технологией забора, длительного хранения, измерения и первичной обработки биологических образцов ротоглоточных смывов (РГС) в соответствии со строго определенными задачами научно-исследовательского поиска.

Методические рекомендации разработаны и внедрены в практическое здравоохранение и учебный процесс коллективом авторов – научных сотрудников Одесского государственного медицинского университета МЗ Украины в творческом сотрудничестве со специалистами Отдела молекулярной и радиационной биофизики НИИ ядерной физики им. акад. АН СССР Б. П. Константинова Российской академии наук (Российская Федерация, Ленинградская обл., г. Гатчина), Одесского НИИ стоматологии АМН Украины, Федерального Управления медико-биологических и экспериментальных проблем МЗ Российской Федерации и Государственного санитарно-эпидемиологического надзора, в соответствии с выполнением госбюджетных научно-исследовательских работ, которые финансируются ДКНТ и МЗ Украины (№№ государственной регистрации 0199U039622, 0194U019980, 0196U001839, 0199U000262) и выполняются в рамках научно-технической программы МЗ Украины 01.01 - «Сохранение генофонда населения Украины».

# 1. МЕСТНЫЙ ГОМЕОСТАЗ РОТОГЛОТОЧНЫХ СМЫВОВ КАК ОБЪЕКТИВНОЕ ОТОБРАЖЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК ПОЛОСТИ РОТОГЛОТКИ

Благодаря сложным анатомо-функциональным особенностям, слизистые оболочки верхних дыхательных путей (ВДП), пищеварительного тракта, конъюнктивы глаза, мочеполовой системы выполняют защитную (барьерную) функцию. Все слизистые оболочки имеют единый план общего строения и состоят из таких компонентов [3]: 1) эпителиального покрова, 2) базальной мембраны и 3) собственной оболочки (*Lamina propria*).

Слизистая оболочка ВДП имеет присущие лишь ей гистологические особенности; так, в носовой полости и носоглотке эпителий многорядный цилиндрический, в ротовой полости и ротоглотке – многослойный плоский. Слизистая оболочка имеет тесный интимный контакт с большими лимфоидными миндалинами и скоплением лимфоидных фолликулов Пирогова – Вальдейера. По современным представлениям, слизистая оболочка ВДП формирует несколько линий защиты: 1) собственный секрет слизистой оболочки, 2) эпителиальные клетки и 3) *Lamina propria*.

Первая линия иммунологической защиты представляет собой довольно сложную специфическую биологическую среду, в которой выделяют два взаимосвязанных комплекса: факторы неспецифического иммунитета и комплекс иммунных факторов. К факторам неспецифического иммунитета относят лизоцим, интерферон, лактоферрин, ингибиторы, лизосомальные ферменты, секреторные протеазы, систему комплемента и т.п., хотя на самом деле этих факторов значительно больше.

Лизоцим – фермент, его действие направлено на лизис микроорганизмов и связано с активацией литической способности комплекса “SIgA-комплемент”. Научно доказано также его выраженное иммуномодулирующее действие. Интерферон – один из основных факторов защиты против вирусов – возбудителей инфекционных заболеваний дыхательных путей.

Агрессия вирусов предоставляет значительный толчок к образованию как местных, так и системных интерферонов. Интерферон имеет также и иммуномодулирующие свойства; его препараты повышают фагоцитарную активность, опосредуют действие естественных киллеров (NK-клеток), экспрессию генов главного комплекса гистосовместимости (генов HLA-системы). Лактоферрин – фермент, который содержит ионы железа, обладает способностью к конкурированию с микроорганизмами за присоединение ионов  $Fe^{2+}$ , тем самым создавая неблагоприятные условия для жизнедеятельности микробов. Ингибиторы – неспецифичные факторы защиты от возбудителей острых респираторных вирусных инфекций. Так, неспецифичные нейтрализующие ингибиторы в значительной степени снижают показатели заболеваемости гриппом, о чем свидетельствует четкая иммунологическая корреляция в динамике развития ОРВИ. Лизосомальные ферменты и секреторные протеазы – ферменты, которые способны к расщеплению практически любых биологических макромолекул и их субструктур на отдельные компоненты. Защитное действие этих энзимов направлено на деградацию уничтоженных микроорганизмов до антигенных детерминант и на еще более мелкие молекулы. Система комплемента — важный компонент неспецифичной иммунологической защиты. Последовательная активация компонентов системы комплемента ( $C_1 \dots C_n$  и т.п.) приводит к образованию комплекса “Комплемент – антиген-антитело бактерии”, лизису последних, пораженных вирусами клеток, и инактивации эндотоксинов. Система комплемента принимает также непосредственное участие в нейтрализации вирусов, усилении хемотаксиса полиморфно-ядерных лейкоцитов, макрофагов, эозинофилов и т.п. В местном секрете слизистой оболочки ВДП выявлен новый фактор неспецифичной иммунологической защиты, который подобен так называемому С-реактивному белку сыворотки крови.

Специфическими факторами иммунологической защиты слизистой оболочки респираторного тракта являются



иммуноглобулины разнообразных классов, которые продуцируются плазматическими клетками. Особо важную роль играет секреторный компонент иммуноглобулина класса А, окончательное формирование макромолекулы которого происходит в цитоплазме эпителиоцитов по схеме: “SCj-цепь – Ig”. Формирование SIgA является отличительной особенностью лишь местного секреторного иммунитета слизистых оболочек, прежде всего, ВДП. Строение макромолекулы иммуноглобулина класса А обеспечивает ее относительную устойчивость к повреждающему действию собственных протеолитических аутоферментов, а также энзимов бактериальных клеток и т.п., к которым секреторный компонент Ig весьма чувствителен.

Вторую линию иммунологической защиты составляют эпителиальные клетки, функциональная роль которых разнообразна: это, во-первых, механическая защита (а именно: мерцание и слущивание эпителия), во-вторых, фагоцитоз антигенных макромолекул, вирусов, бактерий и т.п. с образованием фагосом и фаголизосом. Тем не менее, специфический эпителиальный барьер не является абсолютным по следующим причинам: во-первых, в фаголизосомах не происходит киллинг микроорганизмов, так как первые лишены бактерицидных ферментативных систем, во-вторых, целостность эпителиального покрова нарушается при разнообразных патофизиологических процессах.

Микроорганизмы, антигенные молекулы и т.п. способны проникать сквозь неабсолютный эпителиальный барьер, в том числе и многослойный плоский. В особенности следует отметить “входные ворота” для инфекционных агентов в участке крипт небных и, возможно, некоторых других миндалин, эпителий которых содержит большое количество лимфоидных клеток. Электронно-микроскопические исследования указывают на принципиальную возможность образования в эпителиальном слое своеобразных специализированных структур – непрерывных внутриэпителиальных “ходов”, которые способны к рецепции антигенов.

Экспериментально установлен факт способности растворенного антигена к проникновению через лакунарный эпителий в зону, ограниченную трансэпителиальной миграцией лимфоидных клеток.

Третьей линией иммунологической защиты слизистой оболочки ВДП выступает *Lamina propria*, в которой также различают два комплекса факторов: неспецифичный и специфический, однако, в значительной степени отличающихся от подобных секреторных факторов. К комплексу неспецифичных факторов относят межклеточное вещество, фибриллы, медиаторы нервных окончаний и т.п. Последний факт свидетельствует о чрезвычайно развитой иннервации слизистой оболочки ВДП, из-за чего возникает принципиальная возможность повреждения микроокружения лимфоидных клеток в зависимости от центральноуровневых влияний. В *Lamina propria* в полной мере реализуют свои функциональные возможности (например, интеграция флогогенной реакции с реакциями гуморального иммунитета) макрофаги, полиморфно-ядерные лейкоциты, лаброциты и т.п., что осуществляется путем экстружии соответственно монокинов, медиаторов воспаления, гистамина и серотонина. Накоплено большое количество научных данных о наличии единой автономной системы местного иммунитета слизистых оболочек. Суть ее сводится к тому, что в ответ на антигенное раздражение создается межклеточная кооперация, формируется функционально-способная система "Клон В-лимфоцитов – предшественники SIgA". В-лимфоциты мигрируют гематогенно и лимфогенно к слизистым оболочкам ВДП и "оседают" в собственно *Lamina propria*, а в участке первичного контакта с антигеном дифференцируются в плазматциты.

Особую роль в формировании местного иммунитета ВДП играют миндалины, в особенности небные, выполняющие двоякую функцию: с одной стороны, они включаются в системные реакции иммунитета, а, с другой стороны, принимают активное участие в реакциях местного иммунитета [3, 4]. Небные миндалины способны, подобно другим лимфоидным образованиям глотки, к продукции интерферонов в ответ

на разнообразные повреждения, играя, таким образом, определенную роль в противовирусном иммунитете. Преобладает содержание В-лимфоцитов, то есть наблюдается иммунологическая картина, отличная от соотношения Т- и В-лимфоцитов в цельной крови. Кооперация ведущих звеньев иммунной системы приводит, в конечном итоге, к активной продукции иммуноглобулинов всех известных классов, соотношение между которыми такое: IgG – 61,0 %, IgA – 17,0 %, IgM – 12,0 %, IgE – 8,0 %, IgD – 2,0 %.

Функциональное состояние биологических составляющих местного секреторного гомеостаза полости рта и глотки в целом зависит и объективно отображает макромолекулярный гомеостаз целостного организма (табл. 1).

Местный секреторный иммунитет ВДП имеет несколько отличительных особенностей [3]. Первой особенностью является наличие постоянно вегетирующей сапрофитной микрофлоры, которая конкурирует с “нормальной” микрофлорой полостей носоглотки и рта, в первую очередь, за питательные вещества. Второй отличительной особенностью является то, что весь комплекс неспецифических и специфических факторов находится в тесном естественном интимном взаимодействии, которое направлено на нейтрализацию, опсонизацию и т.п. вирусов и бактериальных токсинов, лизис инфекционных агентов и их дальнейшую деградацию, расщепление антигенных макромолекул и т.п. Третьей отличительной особенностью считают препятствие прикреплению микроорганизмов к эпителиоцитам, без чего проникнуть через их механический барьер, в большинстве случаев, невозможно. В конце концов, четвертой отличительной особенностью является то, что все перечисленные факторы действуют в необычных условиях, а именно: рН полости рта, концентрации отдельных биологически активных веществ (БАВ), местная температура и т.п.

Таблица I

Статистически усредненные гидродинамические радиусы  $R_h$  (нм) некоторых растворимых биологических объектов ротоглоточных смывов по данным электронной микроскопии и рентгеноструктурного анализа

Биологический объект	$R_h$ (нм)	Биологический объект	$R_h$ (нм)
$\alpha$ -компонент слюны	0,8	Рибосомная частица 50G	11,3
АМК аланин (Ала)	0,9	Рибосомная частица 70G	12,3
$\alpha$ -глобулин	1,4	Глобулин	13,7
Лактоглобулин-мономер	1,6	Вирус R <sub>17</sub>	14,0
Лизоцим слюны	2,0	IgM	16,5
Альбумин-мономер	2,1	Рибосома E. Coli	16,7
tPHK	2,4	Фагоцитарная частица УХ <sub>174mIn</sub>	19,0
$\alpha$ -химотрипсиноген	2,6	IgA слюны	20,0
Альбумин-димер	2,8	Гемоцианин фисуреллы	20,4
Лактоглобулин-димер	2,9	Полиовирус I-го типа	25,0
Коллаген-мономер	3,0	Вирион гепатита А	27,0
Гемоглобин НвА цельной крови	3,2	Липопротеиды (ЛП) низкой плотности	30,0
Фосфатидилхолин	3,4	Вирус типа T <sub>7</sub>	32,2
$\alpha$ -химотрипсин	3,5	Вирус типа РМ <sub>2</sub>	32,9
$\gamma$ -актин	3,6	Мицеллий молекулярный	35,0
Лактоглобулин-октамер	4,5	Вирусы Коксаки и ЕСНО	40,0
Альдотаза	5,4	Эластин	41,0
IgG	5,5	Вирион гепатита В (частица Дейна)	42,0
$\gamma$ -глобулин	5,6	Реовирус III-го типа	49,0
12S-глобулин	5,7	Вирус табачной мозаики	62,9
Каталаза слюны	5,9	Вирион РСВ	75,0
Альбумин	6,0	ДНП-, РНП- частицы	80,0
PHK-полимераза	6,9	ЛП высокой плотности	90,0
$\alpha$ -кристаллин слюны	9,6	ГП слизистой оболочки глотки овцы	90,1
Рибосомная частица 30G	9,7	ГП Тамма-Хорлсфалла	97,5
Фибриноген бычий сывороточный	9,8	Миозин поперечно-полосатых мышц языка	160,0
Фибриноген человеческий	11,0	Вирион герпесвируса	180,0

## 2. КРАТКАЯ БИОФИЗИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДА ЛАЗЕРНОЙ КОРРЕЛЯЦИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

В научной литературе последних лет появились работы, которые обобщают накопленный опыт применения в экспериментальной и практической медицине современного биофизического метода – лазерной корреляционной спектроскопии, основным преимуществом которого является исследование разнообразных биологических жидкостей без предшествующего фракционирования, в результате которого полностью утрачивается их нативное состояние и, в конце концов, игнорируются интимные межмолекулярные взаимосвязи [12-16].

К техническим преимуществам метода ЛКС-метрии, которые определяют его приоритетные эксплуатационные характеристики, в частности, относятся:

- использование малогабаритного оборудования;
- низкофоновое излучение лазера в биологически инертном диапазоне инфракрасного участка спектра;
- унифицированные исследовательские приемы для любых биологических жидкостей, которые обеспечивают комплексность биолого-медицинских исследований;
- малые объемы биологических образцов (0,4 — 0,5 мл), простота их подготовки к исследованию; возможность продолжительной консервации;
- современные методы компьютерной обработки данных, которые обеспечивают многопараметрную классификацию результатов с объективизацией диагностических подходов и повышением их информативности;
- время полного анализа одного биологического образца (с предоставлением исходных результатов) не превышает 5-6 мин, что обеспечивает высокую пропускную способность метода;
- спектрометры комплектуются стандартными маломощными блоками питания и общепринятыми средствами вычислительной техники, что разрешает эксплуатацию приборов в общих условиях

непрофильных лабораторий.

Свойства автокорреляционной функции предоставляют путь к многочисленным техническим решениям по исследованию корреляционных функций, если величиной, которая непосредственно измеряется, является не сам сигнал, а суперпозиция двух сигналов, причем параметры одного из них известны.

Наилучшим генератором опорных сигналов в настоящее время является лазер (“оптический квантовый генератор”), например, гелий-неоновый (типа “He-Ne-L”).

Благодаря таким важным свойствам, как индуцированность, монохроматичность, когерентность и т.п., луч лазера является управляемым, в нем можно сконцентрировать необходимое количество квантов энергии для индукции процесса генерации опорного сигнала. При графическом отображении спектра образуется ступенчатая диаграмма (“ЛК-гистограмма”), которая по принципу построения выглядит собственно как гистограмма любого статистического распределения, высота которой представляет собой величину элементарной дисперсии, или среднюю плотность мощности спектра.

В ЛКС-метрии почти всегда проводится математическая обработка экспериментальных данных, которая основана на теоретической связи между ожидаемым результатом и сложными свойствами объекта исследования. Поскольку данные каждого опыта содержат строго определенную погрешность, речь идет о статистической обработке полученных в “масштабе реального времени” результатов. Необходимость использования довольно сложных методов анализа спектра квазиупругого света – дань большой его информативности. Исследователя интересуют характеристики каждого такого процесса в отдельности, поэтому и возникает проблема разложения спектральной кривой на вносы разного происхождения.

Общеизвестная трудность при интерпретации ЛК-спектра состоит в полидисперсности рассеивателей, что (в той или иной

степени) всегда имеет место. Из-за того, что диапазон размеров составляющих гистограммы достаточно широк, функцию распределения частиц по их размерами изображают в логарифмическом масштабе; эта функция распределения частиц и является гистограммой, графически отображенной на сетке размеров, которая состоит из 32-х точек. Каждую гистограмму можно представить в виде 32-х размерного вектора. Данные о распределении частиц представляют собой 32 скоррелированных между собой числа. Это делает необходимым использование современной вычислительной техники и создание специальных классификационных программ, которые основываются на современных методах "теории групп". Если исследовать группу людей  $n$ -ной численности с клинически верифицированным диагнозом, то точки (соответствующие индивидуальные гистограммы) будут группироваться в соответствующем участке 32-мерного пространства.

Гидродинамический радиус (нм) разнообразных макромолекул РГС можно точно определить с помощью современных методов — электронной микроскопии, рентгеноструктурного анализа, гель-фильтрационной хроматографии, линейного и вертикального электрофореза, флуоресцентного зондирования и т.п. ЛКС-метрия РГС значительно превосходит другие известные способы определения размеров биологических объектов как по концентрационной чувствительности, так и по общей информативности (табл. 2).

Успешное внедрение метода экспрессной ЛКС-метрии в клиническую медицину связано с предоставлением беспрецедентной принципиальной возможности максимально точной и независимой биологической интерпретации самой природы субфракционного состава разнообразных биологических жидкостей, которые исследуются в нативном состоянии без предшествующего, разрушающего эти биологически активные ингредиенты, фракционирования.

ЛКС используется для независимой многопараметровой

Таблица 2

Сравнение концентрационной чувствительности методов определения размеров биологических объектов

Параметры	диапазон размеров частиц, которые измеряются (нм)	определяемая точность (%)	время однократного исследования	необходимость проведения калибровки	сохранение информации об объекте
Аналитическая хроматография	более чем $10^2$	5	десятьки минут	да	не всегда
Электронная микроскопия	менее чем 1	5	часы	да	нет
Вискозиметрия	$10 - 10^4$	10	минуты	да	да
Диффузометрия	$10 - 10^2$	5-10	десятьки минут	нет	да
Седиментация	$10 - 10^2$	5	часы	нет	не всегда
Индикатриксное светорассеивание	менее чем 10	10	десятьки минут	нет	да
Малоугловое рассеяние X-лучей	$1 - 10^2$	1	часы	нет	да
Рассеяние тепловых нейтронов	1-10	1	несколько суток	нет	не всегда
Квазиупругое светорассеивание	10 - 10000	1	десятьки минут	нет	да
Лазерная корреляционная спектроскопия	1 - 10000	1	5-6 минут	нет	да

диагностики разнообразных патологических процессов, мониторинговых исследований эффективности фармакотерапии, критериев выздоровления и дальнейших прогнозов как в экспериментальной, так и, конечно, в клинической медицине.

Примеры индивидуальных гистограмм больных с клинически верифицированными диагнозами, которые объективно характеризуют отклонения в макромолекулярном гомеостазе ротоглоточных смывов, представлены на рисунках 1-7.



### 3. ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ МЕТОДА ЛАЗЕРНОЙ КОРРЕЛЯЦИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

В зависимости от этиопатогенеза заболевания, в субфракционном составе биологической жидкости происходят скоррелированные между собой сдвиги. Они отображают степень выраженности функциональных нарушений в системах тканевого метаболизма и гуморального иммунитета. Формирование подобных функциональных нарушений связано, прежде всего, с фундаментальными патофизиологическими механизмами развития в макроорганизме конкретного патологического процесса, который возникает не только вследствие этиопатогенетической природы заболевания, но и зависит от степени взаимодействия с саногенетическими механизмами, которые препятствуют (или замедляют) его развитие. По степени выраженности и направленности отклонений от установленной “нормы” можно количественно определить уровень иммунокомпетентных сдвигов – от начальной степени выраженности сенсibilизации до выраженной аутоиммунной реакции, по выраженности и направленности последней – уровень катаболических сдвигов (от начальных в глико- и липопротеидных комплексах до низкомолекулярной дезагрегации биосубстратов, сопровождающих нарушение дезинтоксикационных функций и нарастание дегенеративно-дистрофических процессов в тканях). Отклонения в высоко- и низкомолекулярных субфракциях биологической жидкости, которые фиксируются одновременно, свидетельствуют о более сложном механизме развития данного симптомокомплекса, который отвечает синергическому соединению аллергических, интоксикационных и дегенеративно-дистрофических нарушений и сдвигами со стороны развития иммунокомпетентных реакций.

С целью диагностики разнообразных патологических процессов и стадии их начальной выраженности было предложено использование статистической программы “Диагностический

семиотический классификационный анализ”, которая базируется на априорном утверждении, что при развитии любого заболевания встречаются довольно схожие симптомокомплексы; степень выраженности и характер этого объединения заметно варьируют. Известно, что при многих заболеваниях, которые строго отличаются по этиопатогенезу, встречаются подобные симптомокомплексы. Так, сенсбилизация макроорганизма (с соответствующими отклонениями в гуморальном звене иммунной системы) может сопровождать не только интоксикационные и инфекционные заболевания, но и определенные стадии и нозологические формы новообразований, легочных и ротоглоточных патологических процессов, заболеваний желудочно-кишечного тракта и т.п. Нарушения в глико- и липопротеиновом метаболизме обнаруживаются при атеросклеротических, гормональных и печеночных патологических процессах. Дегенеративно-дистрофические отклонения формируются в случае развития аутоиммунных заболеваний, нейродистрофических процессов и т.п.

В основу предложенной программы классификационного анализа положена биологическая интерпретация данных, которые получены при изучении конкретно верифицированных заболеваний. Констатация того или иного верифицированного симптомокомплекса может дать относительное предсказание относительно частоты встречаемости определенных типов патологических состояний. С другой стороны, практически все патологические процессы, которые строго определены по этиологии, довольно полисимптоматичны.

Результаты статистической обработки любого ЛКС-исследования РГС представлены в виде “Таблицы диагностического семиотического классификационного анализа” (табл. 3). В основу построения “Таблицы...” положен принцип регистрации тех симптомокомплексов, которые наиболее часто встречаются среди контингента лиц разнообразных референтных групп (аллергизация, интоксикация, дегенеративно-дистрофические, аутоиммунные, катаболические, смешанные процессы и т.п.). Основное внимание

Таблица 3

Биологическая интерпретация результатов метода ЛКС-метрии образцов ротоглоточных смывов ("Диагностический семиотический классификатор")

К. д.	Г. с.	Патофизиологическая интерпретация валеологического статуса	Степень выраженности
1	0	"Норма"	
2	1.1	Аллергизация	Начальная
3	1.2		Умеренная
4	1.3		Выраженная
5	2.1	Интоксикация	Начальная
6	2.2		Умеренная
7	2.3		Выраженная
8	3.1	Дегенеративно-дистрофические процессы	Начальная
9	3.2		Умеренная
10	3.3		Выраженная
11	4.1	Аутоиммунные процессы	Начальная
12	4.2		Умеренная
13	4.3		Выраженная
14	5.1	Катаболические процессы	Начальная
15	5.2		Умеренная
16	5.3		Выраженная
17	6.1	Аллергизация на фоне интоксикации (1 + 2)	Начальная
18	6.2		Умеренная
19	6.3		Выраженная
20	7.1	Аллергизация на фоне аутоиммунитета (1 + 4)	Начальная
21	7.2		Умеренная
22	7.3		Выраженная
23	8	Атипичный (недифференцированный) ЛК-спектр	

уделено толкованию варианта "норма" (к. д. 1, г. с. 0), так как от научно грамотного формирования этого варианта будет целиком зависеть интерпретация всех других симптомокомплексов (где к. д. - кластер дифференцировки).

Первичная информация ЛКС-исследования, получаемая после проведения процедуры регуляризации, подается в виде индивидуальной или внутригрупповой усредненной гистограммы,

которая имеет пять информационно-дискретных зон (ИДЗ): зона 1 – от 0 до 10 нм, зона 2 – от 11 до 36 нм, зона 3 – от 37 до 95 нм, зона 4 – от 96 до 264 нм и, наконец, зона 5 – более чем 264 нм. В дальнейшем, при использовании программы статистической обработки, определяется суммарное значение (в %) светорассеивающей активности любой из указанных ИДЗ. С симптомокомплексами разной патофизиологической направленности связаны разнообразные отклонения в спектральных характеристиках. Процедура математического усреднения полученных гистограмм нативных биологических образцов РГС всегда происходит в “масштабе реального времени”, то есть сразу же после получения индивидуальных ЛК-спектров, что полностью отвечает требованиям экспресс-диагностики.

В границах флуктуаций статистических показателей, которые характеризуют вклад субфракционных составляющих ИДЗ от 1,0 до 264,0 и более нм при проведении более тщательной градации по ряду независимых признаков удается зарегистрировать статистически отличимые спектральные сдвиги. Направленность отклонений, которые регистрируются методом ЛКС-метрии, связана с изменениями симптомокомплексов, представленных в табл. 4. Диагностическое значение биофизической информации, получаемой вследствие проведения ЛКС-метрии, проиллюстрируем на примере усредненной внутригрупповой гистограммы ротоглоточных смывов, которые исследованы в однородной группе ( $n = 18$  чел.) практически здоровых лиц – студентов-волонтеров в возрасте 18-19 лет осенью, во второй половине рабочего дня. Усредненная гистограмма получается при “наложении” всего количества зарегистрированных индивидуальных ЛК-спектров путем использования специальной компьютерной программы многомерного статистического классификационного анализа (рис. 1).

Гистограмма любой нативной биологической жидкости имеет, как отмечалось выше, пять ИДЗ, то есть пять полей для проведения статистической операции кодирования по целиком независимым один от другого признакам. Конкретный пример процентного

Таблица 4

Направление сдвигов в ЛКС-метрии при разнообразных  
предпатологических и патологических симптомокомплексах

Полное название симптомокомплекса	Направленность сдвигов в спектральных характеристиках
Аллергизация	Увеличение процента частиц, которые относятся к 4-ой и 5-ой (незначительно) ИДЗ
Интоксикация	Увеличение процентного вклада частиц, которые относятся к 1-ой и 3-ой (умеренное) ИДЗ
Дегенеративно-дистрофические процессы	Увеличение процента частиц, которые относятся к 1-ой ИДЗ
Аутоиммунитет	Увеличение процента частиц, которые относятся к 5-ой ИДЗ
Катаболизм (большой частью по гликолипопротеиновому типу)	Увеличение процента частиц, которые относятся к 3-ей и 2-ой (незначительно) ИДЗ
Аллергизация на фоне интоксикации	Увеличение процента частиц, которые относятся к 4-ой и 2-ой ИДЗ
Аутоиммунные сдвиги на фоне интоксикации	Увеличение процента частиц, которые относятся к 5-ой и 2-ой ИДЗ
Аллергизация на фоне дегенеративно-дистрофических процессов	Увеличение процента частиц, которые относятся к 5-ой и 1-ой ИДЗ

светораспределения в ЛК-спектре (гистограмме) по подобным ИДЗ представлен в табл. 5.

Таким образом, светораспределение, которое условно определено в качестве “нормального”, характеризуется аналогичным или близким к таковому статистически усредненным соотношением между ИДЗ как 2,0:1,0:1,6:3,0:3,3 с обязательным указанием погрешности математического анализа и введением

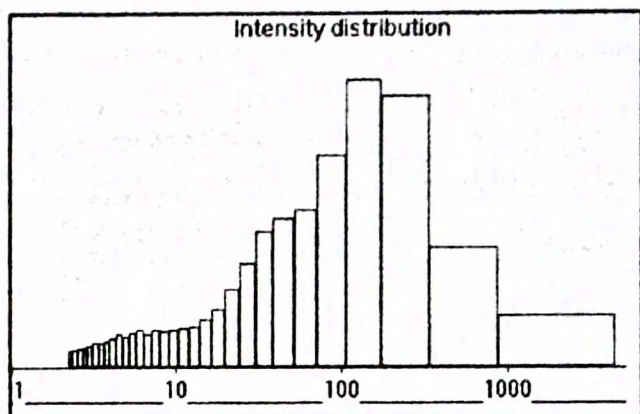


Рис. 1. Статистически усредненная внутригрупповая гистограмма практически здоровых лиц ( $n = 18$  чел.), полученная осенью, во второй половине рабочего дня ("нормальное" светораспределение).

параметра  $[\pm D]$ , который отвечает общеизвестной ошибке средней взвешенной величины  $[\pm m]$ .

Таблица 5

Соотношение между дискретно-динамическими зонами по данным лазерной корреляционной спектроскопии ротоглоточных смывов, проведенной осенью во второй половине рабочего дня среди практически здоровых лиц ( $n = 18$  чел.)

Доля субфракционных составляющих в "нормологическом" ЛК-спектре (%)				
2 – 10 нм	11 – 36 нм	37 – 95 нм	96 – 264 нм	> 264 нм
18,29	9,18	15,30	26,77	30,46

#### 4. МЕТОДИКА СБОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ РОТОГЛОТОЧНЫХ СМЫВОВ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ЛКС-МЕТРИИ

В качестве объекта исследования выбраны РГС как биологическая жидкость, которая объективно отображает реально существующее состояние местного секреторного гомеостаза слизистых оболочек полости ротоглотки.

Вопросы относительно оснащения и реактивов, которые необходимы для ЛКС-метрии РГС, подготовки инструментов и материалов к работе, методики проведения измерений, биофизического толкования первичной информации и т.п. детально изложены в работе [16].

Что касается унифицированной методики сбора биологических образцов РГС для проведения ЛКС-метрии, то в клинической практике она имеет характерные особенности.

В дальнейшем приводятся последовательные этапы взятия биологической жидкости РГС:

- Прополоскать полость рта и глотки свежеприготовленной дистиллированной водой комнатной температуры на протяжении 35-40 с. Дистиллированную воду исследуемому лицу давать из пластикового стаканчика одноразового применения.
- Дать больному 10-15 мл стерильного 0,9 %-ного физиологического раствора.
- Прополоскать полость глотки и рта на протяжении 35-40 сек.
- Смыв поместить в пробирку типа "Эппендорф".
- Центрифугировать на протяжении 10 мин. при 3000 об/мин при комнатной температуре.
- Отобрать в стерильную пластиковую пробирку 1,0-1,5 мл надосадочной жидкости смыва.
- Заморозить в морозильной камере при температуре - (24-30)°С.
- Пробирку с осадком дезинфицировать.
- Перед непосредственным измерением разморозить в термостате при температуре (36,7-37,0) °С на протяжении 30 мин.

одномоментно не более десяти образцов смывов.

- Центрифугировать на протяжении 15 мин. при 5000 об/мин при комнатной температуре.
- Поместить 0,4-0,5 мл надосадочной жидкости биологического образца РГС в кювету спектрометра типа ЛКС-03м для проведения непосредственного измерения.
- Перевести ручку ослабления опорного пучка света в положение, которое отвечает минимальному току ФЕП (“ФЕП<sub>мин</sub>”).
- Включить блок питания ФЕП и предусилителя.
- Подключить к току источник питания лазера.
- Время прогрева спектрометра к началу измерения составляет не менее 30±5 мин.
- Провести ЛКС-метрию. Дезинфицировать использованные эппендорфы.
- Получить индивидуальные ЛК-спектры.
- Сформулировать окончательный «ЛКС-диагноз».

## 5. ЛАЗЕРНАЯ КОРРЕЛЯЦИОННАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ РОТОГЛОТОЧНЫХ СМЫВОВ В СТОМАТОЛОГИИ

С целью реализации задач исследования было выделено четыре группы больных: А – с пародонтитом (n = 12 чел.); Б – с пародонтозом (n = 12 чел.); В – с протезным (воспалительно-кандидозным) стоматитом (n = 14 чел.) и Г – протезным (аллергическим) стоматитом (n = 10 чел.). ЛКС-метрию РГС проводили до и после комплексного лечения; таким образом, общее число зарегистрированных ЛК-спектров составило 96.

К группе А отнесены больные воспалительной патологией периодонта, альвеолы и десен, которые вызваны неспецифическими возбудителями. Основными клиническими признаками этого “комплексного” заболевания были симптоматический гингивит, альвеолярное гноевыделение, развитие патологического десневого кармана глубиной более 2,0 мм, прогрессирующая атрофия



альвеолярного отростка челюсти, появление патологического выдвигания зубов-антагонистов, рост грануляционной ткани с постепенным замещением ею связочного аппарата зуба, образование зубного камня с дальнейшей атрофией пластинки альвеолы, а также патологическая подвижность и выпадение (в конечном итоге) зуба и т.п. Больные группы Б, в отличие от больных группы А, имели вместо гиперемии и отека десен их побледнение, оголенную шейку зуба как следствие атрофии десневого края; атрофия альвеолярного отростка была вызвана образованием патологических десневых карманов и альвеолярным гноевыделением она не сопровождалась. Больные группы В предъявляли жалобы на осложнения после разнообразных ортопедических вмешательств; в организме этих больных постоянно присутствовал очаг хронической одонтогенной сенсибилизации (аутоаллергизационный процесс). Больным группы Г (с протезным аллергическим стоматитом) был проведен общий анализ крови, который обнаружил следующее: абсолютное количество лейкоцитов  $(1,0 - 1,2) \cdot 10^9 / \text{л}$ ; скорость оседания эритроцитов (30,0 - 45,0) мм/ч.

Всем больным было назначено общее (направленное на повышение реактивности макроорганизма, насыщение водорастворимыми витаминами С и Р, нормализацию метаболических процессов и нервно-психического состояния, репаративных процессов и т.п.) и местное (направленное на нормализацию анатомо-физиологического состояния пародонта). Отдельное место в комплексном лечении пародонтитов занимала вакуум-терапия по проф. В. И. Кулаженко, которая рассчитана на стимуляцию местной гемодинамики, физиотерапевтическим методам (пальцевой и гидромассаж десен, электрофорез 1,0%-ного раствора новокаина) и т.п. Подчеркнем направленность лечения по методу профессора В. И. Кулаженко на нормализацию патофизиологических отклонений, непременно возникающих у больных с воспалительными или деструктивными процессами в полости рта. Так, в результате образования в деснах небольших

гематом при использовании незначительного отрицательного давления, разрушения части патологически измененных капилляров и т.п. возникают новые несклерозированные сосуды микроциркуляторного русла с дальнейшим существенным улучшением местного кровообращения. Кроме того, рассасывание даже подобных, небольших по размеру, гематом непременно приводит к повышению общей активности метаболических процессов в десне, что оказывает влияние на восстановление физиологических трофических процессов в комплексе тканей пародонта.

У больных группы А клиническая картина до лечения была однородной: в полости рта обнаруживалось большое количество зубного камня, мягкого зубного налета, выраженная гиперемия и отечность десен, в отдельных случаях (у 5,0 % больных) – тотальное воспаление десен с вовлечением в патологический процесс переходной складки, а также цианоз десневых карманов и наличие патологических пародонтальных карманов и т.п., при пальпации — выделений из них. У всех обследованных была выявлена патологическая подвижность зубов – от I до даже III степени включительно, кровоточивость десен, в некоторых случаях – оголение шейки зуба до 1/3 его корня. Результаты панорамной рентгенографии обнаружили у 20,0 % больных наличие начального остеопороза, деструкции верхушки кортикальной пластинки, у 35,0 % больных – усиление петлеобразования губчатой кости, исчезновение верхушки перегородки зуба, расширение периодонтальной щели и т.п.; деструкция костной ткани у 10,0 % больных достигала половины длины корня зуба, что отвечает IV степени резорбции костной ткани. При анализе ЛК-спектров, которые были измерены до лечения, у 60,0 % больных была обнаружена умеренная (г. с. 2.2) и выраженная (г. с. 2.3) стадии интоксикации, после лечения – перераспределение к начальной стадии интоксикации (г. з. 2.1). Клинически у этих лиц отмечена некоторая стабилизация патологического процесса: объективно десна светло-розового цвета, не отекшая, не кровоточит, патологические десневые карманы

отсутствуют, десна плотно прилегает к шейкам зубов.

У больных группы Б клиническая картина до лечения была такой: признаки воспаления отсутствуют, десна плотная, анемичная, межзубные сосочки атрофированы у 10,0 % больных, патологические десневые карманы отсутствуют, шейки зубов оголены на различном протяжении, зубы стойкие даже при значительном оголении корней; отмечено наличие кариозных поражений твердых тканей зуба (поровну зарегистрированы эрозия, клиновидный дефект, снижение высоты альвеолярного отростка до 1/2 корня зуба). На основании ЛКС-метрии РГС у 52,0 % больных зарегистрированы умеренные (г. с. 3.2) и выраженные (г. с. 3.3) дегенеративно-дистрофические отклонения, у остальных 48,0 % больных – выраженные интоксикационные симптомокомплексы (г. с. 2.3); последнее обстоятельство было подтверждено клинически (признаки флогогенной реакции, подвижность зубов, кровоточивость десен и т.п.). После проведенного комплексного лечения валеологическая ситуация, по данным метода ЛКС-метрии РГС, значительно улучшилась, что доказывает значительное перераспределение симптомокомплексов к начальным стадиям дегенеративно-дистрофических отклонений (г. с. 3.1).

У больных группы В клиническая картина до проведенного комплексного лечения имела признаки:

- а) токсико-химического протезного стоматита;
- б) токсико-аллергического протезного стоматита;
- в) микробного протезного стоматита.

В первом случае отмечалось поражение, ограниченное краями протеза, пациенты предъявляли жалобы на ощущение жжения и иногда возникающую кровоточивость десен. Во втором случае – сухость слизистой оболочки, ее бледность, на протезном ложе отмечались точечные кровоизлияния, пациенты предъявляли жалобы на чувство сильного жжения, парестезию, сухости в полости рта. В третьем случае – гиперемия слизистой оболочки десен, ее отечность, сухость под съёмным протезом; пациенты предъявляли жалобы на наличие неприятного запаха из полости

рта, в особенности после приема кислой пищи. Соскоб со слизистой оболочки полости рта подтвердил наличие грибковой (преимущественно *Candida albicans*) флоры. При анализе полученных гистограмм у лиц первой и второй подгрупп преобладали так называемые смешанные симптомокомплексы (г. с. 6.2 и 6.3), третьей подгруппы – выраженная интоксикация (г. с. 2.3) и начальные аутоиммунные отклонения (г. с. 4.1). Этим пациентам были изготовлены новые современные протезы из бесцветной пластмассы со строгим соблюдением производственной технологии и нанесением на уже готовые протезы биологически инертного фторопластового покрытия. После наложения новоизготовленных протезов зарегистрированы изменения и в ЛК-спектрах: в 77,0 % случаях зарегистрирован вариант “норма”, в других 23,0 % случаях у пациентов преобладали начальные стадии аллергизации (г. с. 1.1).

У больных группы Г клиническая картина до лечения была такой: значительный отек языка, нитевидные сосочки языка атрофированы, грибовидные сосочки языка резко выражены и определяются в виде красных пятнышек, слизистая оболочка полости рта гиперемирована, отекая, на металлических протезах отмечены образования островковых пленок в местах спаек. Больные предъявляли жалобы на наличие характерного металлического привкуса в полости рта, чувство жжения, выделение большого количества редкой слюны, иногда (в 10,0 % случаев) – онемение и покалывание в слизистой оболочке десен (то есть имелись клинические признаки парестезии). Проведенный анализ гистограмм обнаружил следующее: в 80,0 % случаев отмечается выраженная интоксикация (г. с. 2.3), в других 20,0 % случаев – г. с. 6.2, то есть зарегистрированы так называемые смешанные симптомокомплексы (аллергизация на фоне интоксикации, умеренная стадия). У всех больных в полости рта находились паянные мостовидные протезы с декоративным покрытием, которое изготовлено на основе сплавов хрома и нитрита

титана. Новые протезы были изготовлены цельнолитым способом из серебряно-палладиевого сплава. Через две недели была проведена повторная ЛКС-метрия РГС, вследствие анализа которой выявлено, что в 73,0 % случаев зарегистрирован вариант «норма», в других 27,0 % случаев — начальные интоксикационные отклонения (г.с. 2.1).

## **6. ЛАЗЕРНАЯ КОРРЕЛЯЦИОННАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ РОТОГЛОТОЧНЫХ СМЫВОВ В ОТОРИНОЛАРИНГОЛОГИИ**

В макромолекулярном составе местного секреторного гомеостаза слизистых оболочек больных разнообразными формами заболеваний полости глотки соответственно стадийности патологического процесса по степени выраженности и направленности отклонений от строго установленной “нормы” в отношении лиц “контрольной группы” можно количественно определить уровень метаболических отклонений — от начальной степени выраженности до развитой аллергической и (или) аутоиммунной реакции, по выраженности и направленности последней — уровень катаболических сдвигов (от начальных в липо- и гликопротеидных комплексах до низкомолекулярной дезагрегации биологических субстратов, которые сопровождают нарушение дезинтоксикационных функций и нарастание дегенеративно-дистрофических процессов в местных тканях макроорганизма). Отклонения в высоко- и низкомолекулярных субфракциях РГС, которые фиксируются одновременно в экспрессном режиме, свидетельствуют о сложном механизме развития смешанного симптомокомплекса, который отвечает объединению аллергических, интоксикационных и дегенеративно-дистрофических нарушений и значительными сдвигами со стороны иммунологических реакций в гуморальном звене иммунной системы.

ЛКС-метрию РГС было выполнено 20 больным с клинически верифицированным диагнозом “Хронический тонзиллит, компенсированная форма; хронический фарингит” в

стадиях обострения и ремиссии и 20 больным с клинически верифицированным диагнозом “Хронический тонзиллит, декомпенсированная форма (рецидивы ангины, паратонзиллит, ревматизм); хронический фарингит” также в стадиях обострения и ремиссии; соответственно зарегистрировано 80 индивидуальных ЛК-спектров. Развернутый диагноз формулировался с обязательным указанием клинического варианта хронического фарингита (гипертрофический, гранулематозный, суб- и атрофический).

Больные хроническим тонзиллитом предъявляли жалобы на частую ангину (более двух раз в календарном году); безангинной формы хронического тонзиллита выявлено не было. Общее состояние больных страдало незначительно. При объективном обследовании выявлено: пульс лабильный, глухость сердечных тонов, в гемограммах 60,0 % больных – лейкопения с относительным лимфоцитозом, в моче – незначительно выраженная протеинурия (+ и ++). Фарингоскопично – незначительно выраженная гиперемия слизистой оболочки миндалин, небных дужек и т.п. Размеры миндалин, которые оценены визуально, разные – у 2/3 больных они были увеличенными, у 1/3 — атрофированными, даже скрытыми за небными дужками, миндалины и передняя небная дужка были рубцово спаяны, в криптах миндалин имелся жидкий гной, казеозные пробки и т.п. У всех больных выявлены положительные признаки Гизе, Преображенского, Зака, которые возникли вследствие значительного нарушения гемо- и лимфоциркуляции в зоне патологического процесса и раздражения краев небных дужек гнойным выделением из крипт, цепочный валик Корицкого (проявление хронического регионарного лимфаденита и лимфангоита).

Следствием классификационной обработки индивидуальных гистограмм стало установление факта отсутствия в группе больных компенсированной формой хронического тонзиллита и хроническим фарингитом, которые находятся в стадии обострения патологического процесса, ЛК-спектров, которые аналогичны “нормологическим”. У больных, у которых выявлены

патологические процессы соответственно начальной, умеренной и выраженной степени, определены следующие симптомокомплексы: аллергия (0 - 5,0 % - 0), интоксикация (15,0 % - 20,0 % - 5,0 %), дегенеративно-дистрофическое отклонения (5,0 % - 10,0 % - 0), аутоиммунитет (5,0 % - 10,0 % - 15,0 %), катаболизм (-), смешанные (-) и атипичные (10,0 %) ЛК-спектры.

Вследствие проведенной фармако- и физиотерапии (курсовое пятиразовое промывание крипт миндалин 0,1 %-ным раствором левамизола, местно – 5,0 % раствор альбуцида и 10,0 % спиртово-масляный раствор прополиса, больным с хроническим суб- и атрофичным фарингитом – дополнительно облучение задней стенки горла низкоэнергетическим гелий-неоновым лазером, электрофорез 2,0 % раствора новокаина в виде воротника по Щербаку и т.п., больным с гипертрофическим хроническим фарингитом – дополнительно криодеструктивное вмешательство) ситуация в макромолекулярном составе местного секреторного гомеостаза значительно улучшилась. Так, уровень индивидуальных гистограмм, подобных “нормологическим”, составил 55,0 % (в стадии обострения, напомним, - 0). Соответственно начальной, умеренной и выраженной степени в стадии ремиссии выявлены такие симптомокомплексы: аллергия (-), интоксикация (15,0 % — 10,0 % - 0), дегенеративно-дистрофические процессы (10,0 % - 0-0), аутоиммунитет (5,0 % - 0-0), катаболизм (5,0 % - 0-0), смешанные (-) и атипичные (-) ЛК-спектры. Например, уменьшение встречаемости интоксикационных отклонений свидетельствует о санации очага флогогенной реакции.

Таким образом, стадия ремиссии, по данным ЛКС-метрии РГС, у больных компенсированной формой хронического тонзиллита и хронического фарингита характеризуется выраженным улучшением валеологического состояния макромолекулярных ингредиентов местного секреторного гомеостаза слизистых оболочек полости глотки, о чем наглядно свидетельствуют и индивидуальные ЛКС-диагнозы (табл. 6).

Классификационный анализ результирующих гистограмм, проведенный в группе больных декомпенсированной формой хронического тонзиллита (осложненной повторными ангинами, паратонзиллитом, ревматизмом и т.п.), обнаружил следующее: в стадии обострения преобладают выраженные стадии аутоиммунных и смешанных (аллергизация на фоне аутоиммунных отклонений) симптомокомплексов.

Следствием проведенного лечения (кроме вышеописанного, дополнительно – санация очагов хронической воспалительной инфекции в соседних участках и стимулирующая терапия – алое по 1,0 мл ежедневно в течение месяца) стало заметное улучшение валеологической ситуации. Так, число “нормологических” ЛК-спектров составило 45,0 % (в стадии обострения - 0), среди других симптомокомплексов зарегистрированы начальные стадии интоксикации – в 25,0 %, аутоиммунитета – в 20,0 %, катаболизма и смешанных (аллергизация на фоне аутоиммунных отклонений) симптомокомплексов – соответственно по 5,0 % наблюдений.

Соотношение клинических вариантов хронического фарингита выглядело таким образом: гипертрофический – 45,0 %, грануляционный – 35,0 %, суб- и атрофический – 20,0 %. Объективно в первом случае у всех больных выявлена гиперемия, утолщение и покрытие островками густой слизи слизистой оболочки горла, во втором случае – заметно увеличенные, гиперемированные и отекающие лимфаденоидные образования круглой (что большей частью преобладало) и удлиненной формы, в третьем случае слизистая оболочка горла резко утончена, через нее просвечивается сеть кровеносных сосудов преимущественно системы микроциркуляции, поверхность горла покрытых тонким слоем прозрачных, засохших выделений, имеет так называемый “лаковый блеск”; парестезию горла фарингоскопично выявлено не было.

Интересно отметить, что у больных с клинически верифицированным диагнозом “Хронический фарингит, гипертрофический вариант” преобладают, по данным ЛКС-метрии РГС, умеренные и выраженные стадии аутоиммунных отклонений,



Таблица 6  
ЛКС-метрия ротоглоточных смывов у лиц с клинически верифицированной патологией  
полости глотки в стадиях обострения и ремиссии (n = 40 чел.)

№ п/п	Код фамилии, инициалы и шифр пациента	Полный клинический диагноз	ЛКС-диагноз	
			Стадия обострения	Стадия ремиссии
<b>Группа I. Больные компенсированными формами заболеваний ротоглотки + ...</b>				
1	У-а М. А., 1.1.1/2	-	2.3	2.2
2	Б-г О. В., 1.2.1/2	Б	8.1	2.2
3	Ф-в О. С., 1.3.1/2	А	4.1	5.1
4	П-о С. В., 1.4.1/2	А	4.3	0
5	П-й О. П., 1.5.1/2	-	2.1 (рис. 4)	0
6	С-а Н. В., 1.6.1/2	-	2.2	0
7	К-р А. В., 1.7.1/2	В	4.3	0
8	Т-в С. О., 1.8.1/2	-	7.2	0
9	Я-й Л. К., 1.9.1/2	А	3.2	3.1
10	К-а Э. Я., 1.10.1/2	-	2.2	2.1
11	З-в Д. И., 1.11.1/2	-	4.2	0
12	Л-й В. Ю., 1.12.1/2	-	3.1	0
13	К-о Л. И., 1.13.1/2	Б	3.2	3.1
14	Т-в Г. П., 1.14.1/2	-	2.2	2.1
15	Я-й Ф. С., 1.15.1/2	-	2.1	0
16	Ш-р А. И., 1.16.1/2	В	4.2	4.1
17	С-а Е. В., 1.17.1/2	-	1.2 (рис. 3)	0 (рис. 2)
18	Д-в П. И., 1.18.1/2	А	4.3	0
19	В-в Е. И., 1.19.1/2	-	2.1	0
20	Л-в С. Б., 1.20.1/2	-	2.2	2.1
<b>Группа II. Больные декомпенсированными формами заболеваний ротоглотки + ...</b>				
21	Т-к А. И., 2.1.1/2	-	7.3	2.1
22	И-а Н. О., 2.2.1/2	-	4.3 (рис. 5)	0
23	Г-я Н. И., 2.3.1/2	Б	7.3	7.2
24	Д-о В. Ф., 2.4.1/2	А	4.2	5.2 (рис. 6)
25	П-а О. В., 2.5.1/2	Б	4.3	2.1
26	К-в А. О., 2.6.1/2	Б	4.3	2.1
27	М-к Г. О., 2.7.1/2	В	7.3	0
28	Р-в В. И., 2.8.1/2	А	4.2	0
29	П-в Ф. Д., 2.9.1/2	В	7.3 (рис. 7)	0
30	Р-ч С. И., 2.10.1/2	-	2.1	0
31	К-о И. С., 2.11.1/2	-	2.1	0
32	И-в И. О., 2.12.1/2	В	4.2	0
33	Г-й О. С., 2.13.1/2	А	8.1	2.1
34	Ф-н Г. С., 2.14.1/2	В	4.3	4.2
35	М-в Г. Ф., 2.15.1/2	А	2.3	0
36	У-й Г. Ф., 2.16.1/2	В	8.1	4.2
37	Б-в В. Ф., 2.17.1/2	-	2.2	2.1
38	К-о В. С., 2.18.1/2	В	4.3	4.2
39	Г-к Я. Г., 2.19.1/2	-	2.1	0
40	М-а О. Г., 2.20.1/2	В	4.3	4.1

Примечание. 1. К графе "Клинический диагноз" (№ 3) отнесены клинические варианты хронического фарингита: А – гипертрофический, Б – суб- и атрофический, В – грануляционный.

2. В графах "ЛКС-диагноз" (№№ 4 и 5) представлены номера групп сиспления (г. с.), которые расшифровываются согласно диагностическому семиотическому классификационному анализу.

“Хронический фарингит, грануляционный вариант” – умеренные и выраженные стадии аутоиммунных отклонений, а также смешанные (аллергизация на фоне аутоиммунных отклонений), “Хронический фарингит, суб- и атрофичный вариант” – умеренная стадия дегенеративно-дистрофических отклонений и так называемые атипичные (недифференцированные) ЛК-спектры. Значительное преобладание среди других аутоиммунных симптомокомплексов позволило сделать предположение относительно сенсбилизирующего влияния антигенов бета-гемолитического стрептококка группы А, который имеет генетически обусловленные выраженную патогенность и незаурядные аллергизирующие свойства. Регистрация дегенеративно-дистрофических отклонений обусловлена тем, что небные миндалины имеют много нервных окончаний, которые под влиянием хронического воспаления подвергаются иногда необратимому перерождению. Установление ЛКС-диагноза “Атипичный (недифференцированный) ЛК-спектр” свидетельствует не столько о “диагностическом несовершенстве” предложенного классификационного анализа, сколько о чрезвычайно сложном, патогенетически-обусловленном механизме развития конкретного патологического процесса у лиц со строго верифицированным клиническим диагнозом.

Индивидуальные гистограммы больных представлены на рис. 2-7.

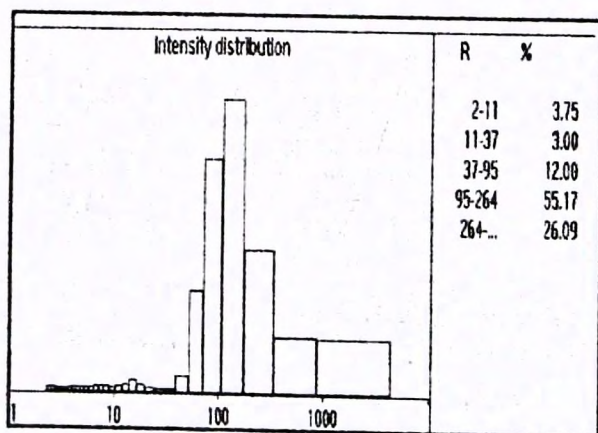


Рис. 2. Гистограмма, условно характеризующая “нормальное” (т. с. 0) светораспределение биологического образца ротоглоточного смыва. Больная С-ая Е. В., шифр 1.17.1/2-2, функциональное состояние макромолекулярного гомеостаза после лечения.

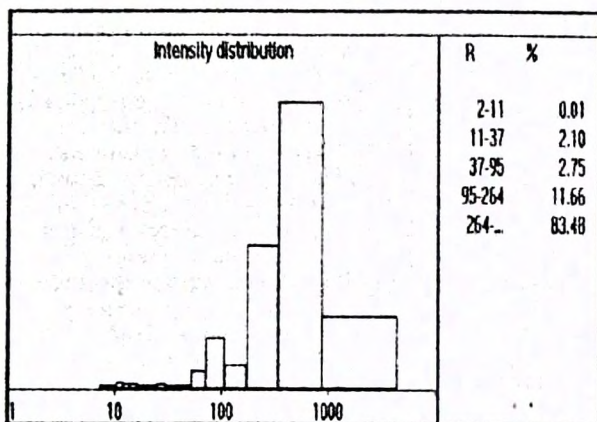


Рис. 3. ЛКС-диагноз:  
Аллергизация, умеренная  
степень выраженности  
(г. с. 1.2). Та же больная, шифр  
1.17.1/2-1 (хронический  
тонзиллит, компенсированная  
форма; функциональное  
состояние макромолекулярного  
гомеостаза до лечения).

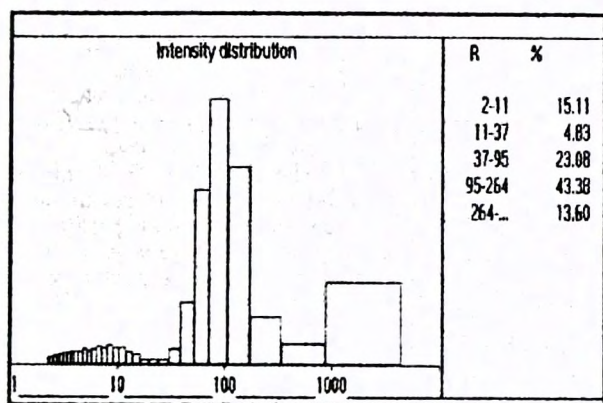


Рис. 4. ЛКС-диагноз:  
Интоксикация, начальная степень  
выраженности  
(г. с. 2.1). Больной П-й О. П., шифр  
1.5.1/2-1 (хронический тонзиллит,  
компенсированная форма; до  
лечения).

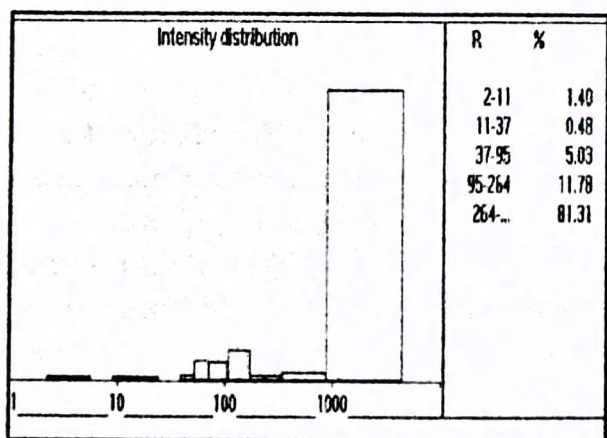


Рис. 5. ЛКС-диагноз:  
Аутоиммунитет, выраженная  
степень (г. з. 4.3).  
Больная И-ая Н. О., шифр  
2.2.1/2-1 (хронический  
тонзиллит, декомпенсированная  
форма; до лечения).

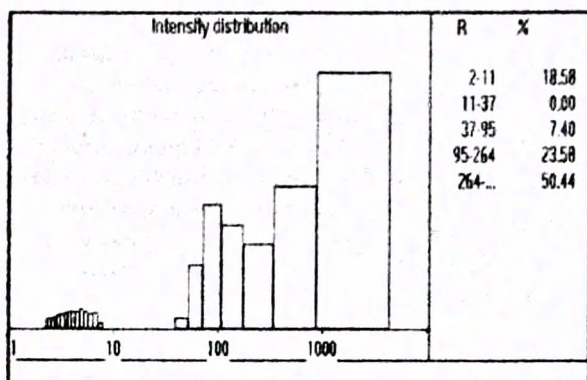


Рис. 6. ЛКС-диагноз:  
 Катаболизм, умеренная степень  
 выраженности (г. с. 5.2).  
 Больной Д-о В.Ф., шифр 2.4.1/  
 2-2 (первичный диагноз:  
 хронический тонзиллит,  
 декомпенсированная форма;  
 хронический фарингит,  
 гипертрофический вариант;  
 после лечения).  
 До лечения зарегистрирована  
 г. с. 4.2 – аутоиммунитет,  
 умеренная степень  
 выраженности.

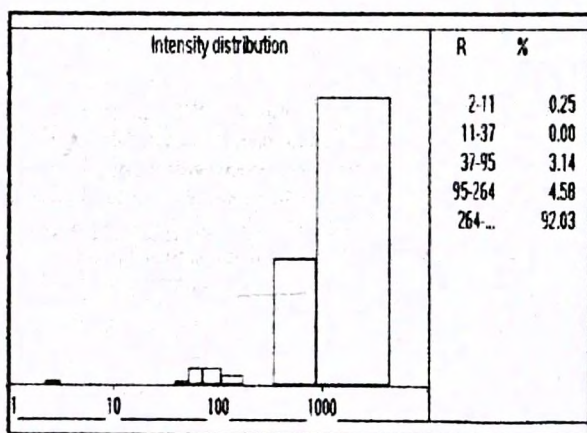


Рис. 7. ЛКС-диагноз:  
 Аллергизация на фоне  
 аутоиммунитета,  
 выраженная степень  
 (г. с. 7.3) – смешанный  
 симптомокомплекс.  
 Больной П-в Ф. Д., шифр  
 2.9.1/2-1 (хронический тонзиллит,  
 декомпенсированная форма;  
 хронический фарингит,  
 грануляционный вариант; до  
 лечения).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В методических рекомендациях внедрен накопленный за несколько лет опыт специалистов разнообразных медико-биологических специальностей (клиницистов-стоматологов и оториноларингологов, патофизиологов, биологов) по теоретической разработке, патофизиологическому обоснованию и применению в практическом здравоохранении биофизического метода – лазерной корреляционной спектроскопии.

Без стройной системы теоретических знаний специалистами любого профиля физико-оптических основ клинической биофизической диагностики невозможно надеяться на успешное внедрение метода ЛКС в современную медицину. Детальная, кое в чем детализированная аргументация объективных, патофизиологически обоснованных отклонений, которые происходят в макромолекулярном составе биологических образцов ротоглоточных смывов, необходима для понимания даже неподготовленным читателем тех априорных предположений, которые были высказаны авторами при формировании условной “нормы”. Что касается использования ЛКС-метрии в практической медицине, то подобная работа является приоритетной, так как существующие в литературе научные работы обобщают накопленный опыт применения клинической биофизической диагностики в хирургии, педиатрии, акушерстве и гинекологии, инфекционных болезнях, урологии, офтальмологии и т.п., где в качестве объекта исследования (и нередко – единственного) используется плазма/сыворотка крови, влагалищные смывы, ликвор, моча, слезная жидкость и т.п.

Авторы методических рекомендаций провели сопоставление результатов ЛКС-метрии РГС с объективными данными общеклинического и дополнительных (общий анализ крови и мочи, рентгенологическое и т.п.) методов обследования. Подобная комплексная диагностика с включением в нее метода ЛКС-метрии нативных биологических образцов РГС, значительно не расширяя существующий в настоящее время арсенал диагностических

подходов, предоставляет клиницистам качественно новый, методологически разработанный мощный методический инструмент относительно диагностики и прогнозирования тяжести функционального состояния макромолекулярного гомеостаза ротоглоточных смывов как “метаболически-гуморального зеркала” физиологической, предпатологической и собственно патологической “деятельности” местного секреторного уровня гомеостаза, которые легко собирать и подготавливать к непосредственному исследованию, а также наблюдения за клинической и фармакологической эффективностью проводимого лечения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Данилевский М.Ф., Несин О.Ф., Рахний Ж.И.* Заболевания слизистой оболочки полости рта. – К.: Здоровье, 1998. – 408 с., стр. 67-78.
2. *Заболотный Д.И., Митин Ю.В., Драгомирецкий В.Д.* Оториноларингология. – К.: Здоровье, 1999. – 368 с., стр. 248-294.
3. *Бажора Ю.И.* Местный иммунитет верхних дыхательных путей и возможности его оценки в клинической лаборатории (Обзор литературы) // Лабораторное дело. – 1988. – №8. – С. 45-49.
4. *Драгомирецкий В.Д., Бажора Ю.И., Заживилов А.Г.* Комплексный подход к изучению местного иммунитета слизистой оболочки верхних дыхательных путей // Сборник научных трудов VII съезда оториноларингологов УССР. – Киев, 1989. – С. 302.
5. *Иммунный статус в полости рта: Методические рекомендации* // Т.Г. Робустова, К.А. Лебедев, И.Д. Понякина и др. – М.: изд-во ММСИ, 1990. – 28 с.
6. *Трунов А.Н., Трунова Л.А.* Методология оценки иммунного статуса // Международный журнал иммунореабилитации. – 1997. – №6. – С. 80-84.
7. *Ковальчук Л.В., Чередеев А.Н.* Актуальные проблемы оценки иммунного статуса человека на современном этапе // Иммунология. – 1990. – №5. – С. 4-7.
8. *Лебедев К.А., Понякина И.Д.* Сдвиги иммунограммы у людей с нормальной антиинфекционной защитой // Физиология человека. – 1990. – Т.16, №6. – С. 127-136.
9. *Дубилей П.В., Уразаева З.В., Халитов Х.С.* Барьерная функция легких и обеспечение гомеостаза // Казань: изд-во КГУ, 1987. – 192 с.
10. *Джапаров А.Г., Рузыбакиев Р.М.* Сезонная динамика иммунного статуса в больных хроническим бронхитом и профессиональными заболеваниями легких // Иммунология. – 1996. – №2. – С. 53-55.
11. *Возможности методов, восстанавливающих функцию распределения частиц по размерам, в вирусологии и иммунологии* // С.М. Балабонов, А.Ф. Блюгер, Р.К. Елигулашвили, В.А. Носкин. – Л.: изд-во ЛНИИЯФ. – Препринт №1330, 1987. – 23 с. (Препр. / РАН ЛНИИЯФ).
12. *Определение субфракционного состава биологических жидкостей с помощью лазерной корреляционной спектроскопии: Методические рекомендации* // В.А. Эммануэль, Ю.И. Мусийчук, Л.А. Носкин, В.А. Носкин, А.Р. Клейнер. – С.-Петербург: изд-во СПбГМУ, 1997. – 14 с.
13. *Классификация результатов исследования плазмы крови с помощью лазерной корреляционной спектроскопии на основе семиотики предклинических и клинических состояний* / К.С. Терновой, Г.Н. Крыжановский, Ю.И. Мусийчук и др. // Украинский биохимический журнал. – 1998. – Т.70, №2. – С. 53-64.
14. *Демтредер В.А.* Лазерная корреляционная спектроскопия: Основные принципы и техника эксперимента. – М.: Наука, 1985. – 608 с.
15. *Носкин В.А.* Спектрометр лазерный корреляционный медицинский типа ЛКС-03м. — Л.: ЛНИИЯФ-“Интокс”, 1997. — 12 с.
16. *Лазерна кореляційна спектроскопія ротоглоткових змивів: Методичні рекомендації* // Ю.І. Бажора, В.Й. Кресюн, С.П. Пашолок, Л.О. Носкін, О.О. Кирилук. — Одеса: Одес. держ. мед. ун-т, 2001. — 24 с.

# СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ _____	3
1. МЕСТНЫЙ ГОМЕОСТАЗ РОТОГЛОТОЧНЫХ СМЫВОВ КАК ОБЪЕКТИВНОЕ ОТОБРАЖЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК ПОЛОСТИ РОТОГЛОТКИ _____	7
2. КРАТКАЯ БИОФИЗИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДА ЛАЗЕРНОЙ КОРРЕЛЯЦИОННОЙ СПЕКТРО- СКОПИИ _____	13
3. ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ МЕТОДА ЛАЗЕРНОЙ КОРРЕЛЯЦИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ _____	17
4. МЕТОДИКА СБОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ РОТОГЛОТОЧНЫХ СМЫВОВ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ЛКС-МЕТРИИ _____	23
5. ЛАЗЕРНАЯ КОРРЕЛЯЦИОННАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ РОТОГЛОТОЧНЫХ СМЫВОВ В СТОМАТОЛОГИИ _____	24
6. ЛАЗЕРНАЯ КОРРЕЛЯЦИОННАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ РОТОГЛОТОЧНЫХ СМЫВОВ В ОТОРИНОЛАРИНГОЛОГИИ _____	29
ЗАКЛЮЧЕНИЕ _____	37
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ _____	39