

УДК611.311.2-018.7.005

*В.И. Цыганков*

## **МНОГОСЛОЙНЫЙ ПЛОСКИЙ ЭПИТЕЛИЙ ДЕСНЫ КАК ОБЪЕКТ МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ**

Дальневосточный государственный медицинский университет (г. Хабаровск)

*Ключевые слова: многослойный плоский эпителий, ядрышковые организаторы, классификация.*

Описательный характер морфологических исследований не во всех случаях достаточен для углубленного анализа сущности явлений, обобщений изучаемых процессов, оценки наблюдаемых изменений. В этой связи традиционные методы регистрации морфологических изменений, оставаясь базовыми, должны дополняться количественным анализом. Выявление ведущих диагностических признаков, меняющейся их величины и частоты проявления, динамического характера связей между ними — основная задача количественной морфологии [1]. Анализ изображений различных микроскопических объектов с помощью компьютерных программ положил начало компьютерной морфометрии, позволяющей проводить количественное изучение морфологии клеток и тканей с применением многомерной статистики, теории вероятности и информатики. Одним из наиболее перспективных направлений в морфометрическом анализе в настоящее время является многопараметрическое описание объектов, выделение с помощью процедур факторного анализа главных компонент и математическое моделирование на основе дискриминантного анализа [1-3]. В этой связи следует обратить внимание на то, что многослойный плоский эпителий, как совокупность клеток различной степени дифференцировки, различающихся между собой не только функциональными особенностями, но и метрическими признаками, является весьма удобным объектом для системного морфометрического анализа с последующим математическим моделированием.

Ранее на основе компьютерной морфометрии препаратов, окрашенных для выявления ядрышковых организаторов 50% раствором азотнокислого серебра и последующего статистического анализа, было продемонстрировано, что нормальный многослойный плоский неороговевающий эпителий слизистой оболочки десны является высокоупорядоченной системой с высоким запасом структурной устойчивости и выраженными морфометрическими признаками стратификации. При различных же формах хронических гингивитов (катаральном, гипертрофическом и атрофическом) наряду с изменением визуальной картины отмечается и закономерное изменение значений

морфометрических показателей. С помощью процедур многофакторного и дискриминантного анализа с точностью до 95,7% удалось различить неизменный многослойный плоский эпителий, а также эпителий слизистой оболочки десны при хронических катаральном, гипертрофическом и атрофическом гингивитах [5]. Однако последующая работа показала определенные недостатки предложенной классификации, что и вызвало необходимость ее пересмотра. Представляется, что новая классификация должна основываться на следующих базовых положениях:

- 1) должна производиться оценка исключительно многослойного плоского эпителия как объекта морфометрического исследования;
- 2) морфометрическая классификация не обязана быть жестко связана с клинико-морфологическими вариантами гингивитов;
- 3) морфометрическая классификация многослойного плоского эпителия должна быть увязана с базовыми патогистологическими критериями: норма, гиперплазия, гипоплазия.

Работа выполнена на базе измерений ядерно-ядрышкового аппарата 3673 эпителиоцитов биоптатов слизистой оболочки десны 23 человек. Препараты фиксировали в 10% нейтральном формалине и заливали в парафин по стандартной методике. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином и 50% раствором  $\text{AgNO}_3$  для выявления ядрышковых организаторов [4].

Измерения проводили на срезах, окрашенных 50% раствором  $\text{AgNO}_3$  с помощью анализатора изображений «Мекос-Ц» при 40-кратном увеличении объектива. В каждом слое измеряли не менее 50 ядер. Ядра неороговевающего слоя не анализировали, что было обусловлено нестабильностью их окрашивания. Анализ изображений по программе «Мекос» заключался в сегментации ядер и ядрышек и их измерениях (свыше 20 показателей). Полученные данные переносились в программу Statistica 5.0, где и проводилась окончательная обработка, включая процедуры описательной статистики, многофакторного, корреляционного и дискриминантного анализов. На основании описательной статистики по формулам Шенона определяли информационные показатели:  $H^*$  — максимальную энтропию,  $H$  — структурную энтропию,  $h$  — относительную энтропию и  $R$  — коэффициент избыточности [1, 3].

На основании визуального анализа гистологические препараты были разделены на три группы:

1. Нормопластический эпителий, для которого характерны четкая стратификация, наличие в шиповатом слое 10-20 слоев крупных клеток неправильной формы и в зернистом — 4-6 слоев;
2. Гиперпластический эпителий, характеризующийся увеличением числа базальных клеток и фигур митоза в них, утолщением шиповатого слоя;
3. Гипопластический эпителий с равномерным истончением всех слоев.

Для распознавания с помощью процедур дискриминантного анализа использовались следующие показатели:

- 1) число ядрышек, площадь ядер, площадь ядрышек и ядрышково-ядерное отношение в базальном слое;
- 2) число ядрышек, площадь ядер и площадь ядрышек в шиповатом слое;
- 3) число ядрышек, площадь ядер и площадь ядрышек в зернистом слое.

Многофакторным анализом было выявлено, что эти показатели перекрывали 68,83% дисперсии всех морфометрических признаков. Показатель корректной классификации на основе дискриминантного анализа составил 100% (рис. 1). Анализ средних величин морфометрических показателей свидетельствовал о том, что в гиперпластическом эпителии они, как правило, были выше, чем в других, а в гипопластическом эпителии они, как правило, были существенно меньше (табл. 1).

Информационный анализ показал (табл. 2), что нормопластический эпителий по числу ядрышек и их суммарной площади является детерминированной системой с высоким запасом структурной устойчивости (величины коэффициентов избыточности превышали 30%), а по площади ядер — квази-(частично) детерминирован (величины коэффициентов избыточности

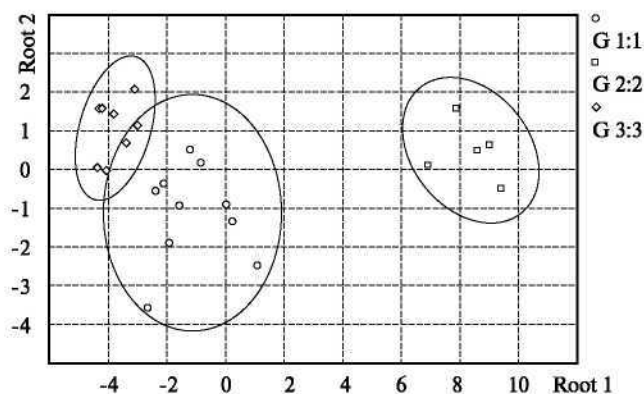


Рис. 1. Графическое изображение группировки результатов методом дискриминантного анализа.

G 1:1 - нормопластический эпителий; G 2:2 - гиперпластический эпителий; G 3:3 - гипопластический эпителий; Root 1, 2- оси канонических переменных.

лежали в диапазоне 10-30%). Гиперпластический тип эпителиа детерминирован по числу ядрышек и квази-детерминирован по их суммарной площади. По площади ядер гиперпластический эпителий является вероятностной структурой (коэффициент избыточности менее 10%). Возможно, это свидетельство того, что гиперплазия в определенной степени является неустойчивым состоянием, и для нее характерен переход в иное качество. Гипопластический эпителий является

Таблица 1

Морфометрические параметры ( $M \pm m$ ) ядерно-ядрышкового аппарата различных морфотипов многослойного плоского эпителия

Слой эпителия	Показатель	Морфотип эпителия		
		нормопластический	гиперпластический	гипопластический
Базальный	Число ядрышек	1,39±0,05	2,06±0,15	1,35±0,07
	Площадь ядер (мкм <sup>2</sup> )	30,56±2,51	47,96±2,43	32,31±2,12
	Площадь ядрышек (мкм <sup>2</sup> )	4,27±0,22	6,79±0,35	3,86±0,18
	Ядрышково-ядерное отношение	0,14±0,01	0,14±0,01	0,13±0,01
Шиповатый	Число ядрышек	1,46±0,11	1,78±0,13	1,42±0,10
	Площадь ядер (мкм <sup>2</sup> )	49,89±2,28	67,15±4,10	38,75±2,18
	Площадь ядрышек (мкм <sup>2</sup> )	6,77±0,38	9,41±0,90	4,49±0,17
Зернистый	Число ядрышек	1,31±0,08	1,46±0,10	1,18±0,04
	Площадь ядер (мкм <sup>2</sup> )	41,25±2,92	61,23±6,00	33,62±2,17
	Площадь ядрышек (мкм <sup>2</sup> )	4,16±0,32	6,65±0,97	2,84±0,22

Таблица 2

Информационные показатели различных морфотипов многослойного плоского эпителия слизистой оболочки десны

Морфотип эпителия	Показатель	N	N <sub>max</sub>	N <sub>относ.</sub>	Коэффициент избыточности, %
Нормопластический	Число ядрышек	3,459	3,658	0,580	42,0
	Площадь ядер	2,547	3,000	0,850	15,0
	Площадь ядрышек	1,244	2,585	0,480	52,0
Гиперпластический	Число ядрышек	1,644	2,585	0,640	36,0
	Площадь ядер	2,547	3,000	0,950	5,0
	Площадь ядрышек	1,690	2,322	0,730	27,0
Гипопластический	Число ядрышек	1,031	2,000	0,520	48,0
	Площадь ядер	2,547	3,000	0,740	26,0
	Площадь ядрышек	0,828	2,000	0,430	57,0

Таблица 3

Коррелятивные взаимоотношения в различных морфотипах многослойного плоского эпителия, рассчитанные по значениям критерия Пирсона

Морфотип эпителия	Число клеток	Число выявленных связей*			Сумма величин связей*			Средняя величина связи*		
		всего	из них		абс.	из них		абс.	из них	
			+	-		+	-		+	-
Нормопластический	1667	77	68	9	32,585	30,460	-2,125	0,423	0,448	-0,236
Гиперпластический	695	76	67	9	31,565	29,740	-1,825	0,415	0,443	-0,203
Гипопластический	1311	%	81	15	32,030	29,250	-2,785	0,334	0,361	-0,186

\* Статистически достоверных связей ( $p < 0,05$ ).

детерминированной системой по числу ядрышек и их суммарной площади, а по площади ядер — квазидетерминирован.

Корреляционный анализ по 14 параметрам показал, что в гипопластическом эпителии число всех (положительных и отрицательных) связей больше, чем в двух других (81 против 67-68). Причем возрастало число как положительных, так и отрицательных связей. Суммарные же их величины весьма близки друг к другу (за исключением суммарной величины отрицательных связей гипопластического эпителия). Средние же величины связей, рассчитанные отдельно, как по абсолютным значениям критерия Пирсона, так и с учетом знака «±» этой связи, в нормопластическом и гиперпластическом эпителиях оказались весьма близки друг к другу. В гипопластическом эпителии они были ниже аналогичных величин нормо- и гиперпластического эпителиев (табл. 3).

Для сравнительной оценки динамики суммарной площади ядрышек эпителиоцитов базального слоя использовали квартильный подход. Для 543 клеток нормопластического эпителия при среднем значении в  $4,25 \text{ мкм}^2$  нижняя граница квартиля составляла 2,83, а верхняя —  $5,36 \text{ мкм}^2$ . Для 226 клеток гиперпластического эпителия эти величины составили 6,66 и  $4,08-8,53 \text{ мкм}^2$ , и для 474 клеток гипопластического эпителия — 3,88 и  $2,50-4,90 \text{ мкм}^2$  соответственно.

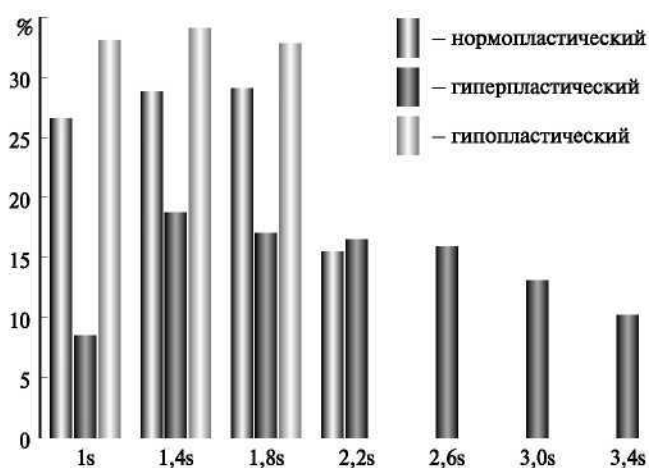


Рис. 2. Гистограмма суммарной площади ядрышек базального слоя в эпителиях слизистой оболочки десны. По оси ординат - доля ядрышек в процентах, по оси абсцисс - условная площадь ядрышек.

Как видно, нижние границы квартилей ( $2,83$  и  $2,50 \text{ мкм}^2$ ) у нормопластического и гипопластического эпителиев практически совпадали. Поэтому они и были выбраны как точки отсчета для последующего анализа. Метрические параметры площадей ядрышек были преобразованы в условные единицы (средние значения интервала площади относились к среднему значению наименьшего интервала, общего для нормо- и гипопластического эпителиев). Подобная процедура была применена и в отношении гиперпластического эпителия. В этом случае дополнительно использовались частотные характеристики двух интервалов, не дотягивающих до нижней границы квартиля этого эпителия.

На основе частотных характеристик каждого интервала были выстроены гистограммы, из которых видно качественное своеобразие распределения площади ядрышек для каждого из типов эпителия. Так, у нормопластического эпителия доля ядрышек, имеющих «диплоидную» площадь, составила более 50%. У гиперпластического эпителия эти значения значительно выше, причем существенную долю в них составляли «гипердиплоидные» ядрышки. В гипопластическом эпителии доля «диплоидных» ядрышек оказалась наименьшей. Следует также отметить, что значительная часть этих ядрышек в этом случае не дотягивала до  $2,0s$  и оставалась на уровне  $1,8s$  (рис. 2).

Для понимания вышеописанной динамики необходимо иметь в виду, что количество аргирофильных белков, которые выявляются при серебрении и которые ассоциированы с рибосомальной ДНК, значительно варьирует в пределах клеточного цикла. Так, содержание нуклеолина минимально в фазе G1, а после вступления в фазу S оно возрастало в 1,6 раза, что приводило к увеличению геометрических параметров ядрышка [7]. Другие авторы описывали удвоение размеров ядрышка между периодами G1 и G2, при этом их число увеличивалось на 47% [6].

Таким образом, на основании визуального и дискриминантного анализа удалось распознать три состояния многослойного плоского эпителия слизистой оболочки десны: нормопластическое, гиперпластическое и гипопластическое. С помощью описательной статистики показаны отличия величин морфометрических признаков в различных морфотипах эпителия. Информационный и корреляционный анализ также выявили определенные отличия

гипер- и гипопластического эпителиев, что в определенной мере отражало изменения внутритканевого гомеостаза.

Данная классификация может найти применение в практике научно-исследовательских работ. При расширении базы данных в 3-4 раза она может претерпеть трансформацию. Предполагается, что кроме трех основных морфотипов должны быть выделены еще промежуточные: между нормопластическим и гиперпластическим, между нормопластическим и гипопластическим и т.д. Причем выделение этих промежуточных морфотипов уже нельзя будет совместить или подменить визуальным анализом. Их выделение будет возможно только в рамках компьютерной классификации.

В заключение выражаю благодарность проф. Г.И. Оскольскому и к.м.н. А.В. Юркевичу за помощь в наборе биопсийного материала.

#### Литература

1. Автандилов Г.Г. *Медицинская морфометрия: Руководство*. — М.: Медицина, 1990.
2. Автандилов Г.Г. // *Архив патологии*. — 1993. — № 2. С. 4-7.
3. Лентюк А.С., Леонтьев Л.А., Сыкало А.И. *Информационный анализ в морфологических исследованиях*. — Минск: Наука и техника, 1981.
4. Мамаев Н.Н., Бебия Н.М., Мамаева С.Е. и др. //

*Бюлл. эксперим. биологии и медицины*. — 1985. — № 4. — С. 477-478.

5. Оскольский Г.И., Цыганков В.И., Юркевич А.В. и др. // *Тихоокеанский медицинский журнал*. — 2000. — № 4. — С. 104.

6. De Angelis P.M., Stokke T., Clausen O.P. // *Mol. Pathol.* — 1997. — Vol. 50, No. 4. — P. 201-208.

7. Sirri V, Roussel P, Hernandez-Verdun D. // *Micron*. — 2000. — Vol. 31, No. 2. — P. 121-126.

Поступила в редакцию 20.09.03.

#### STRATIFIED FLAT EPITHELIUM OF GUM MUCOUS MEMBRANE AS A SUBJECT OF MORPHOMETRIC STUDY

V.I. Tsygankov

Far-Eastern State Medical University (Khabarovsk)

*Summary* — In earlier researches based on computer morphometry of the specimens stained to find out nucleolar organizers using multivariate and discriminant analyses the author succeeded to within 95.7% in discerning the stratified flat epithelium of unaltered gingival mucous membrane under chronic catarrhal, hypertrophic and atrophic gingivitis. This notwithstanding, the following analysis showed some shortcomings of this classification and necessitated drawing up a new one. Based on the visual analysis and computer classification of measuring data base of 23 patients, the author proposes morphometric classification that includes three groups of the stratified flat epithelium: normoplastic, hyperplastic, and hypoplastic ones. Coefficient of correctness of this classification, using discriminant analysis, amounts to 100%.

*Pacific Medical Journal*, 2004, No. 3, p. 24-27.

УДК 616.712-007.24-053.2-089.844

Н.Г. Жила, Ю.В. Боляев

### ОПЕРАЦИЯ КАК СПОСОБ ЭСТЕТИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ВОРОНКООБРАЗНОЙ ДЕФОРМАЦИИ ГРУДНОЙ КЛЕТКИ У ДЕТЕЙ

Дальневосточный государственный медицинский университет (г. Хабаровск)

*Ключевые слова:* воронкообразная грудь, торакопластика, дети.

Г.А. Баиров и А.А. Фокин [1] отмечали, что деформации грудной клетки носят самый разнообразный характер, однако подавляющая часть из них (около 95%) приходится на воронкообразную и килевидную грудь. Как утверждали R.C. Shamberger и K.J. Welch [8], воронкообразная деформация грудной клетки встречается наиболее часто. По данным G. Willital [9], ВДГК составляет 91% врожденных деформаций грудной клетки, которые встречаются примерно у одного на 100 детей.

Как утверждали Ю.Ф. Исаков и др. [4], наиболее сложным и окончательно не решенным является вопрос о показаниях к хирургическому лечению воронкообразной деформации грудной клетки. Авторы счи-

тали, что операция, безусловно, показана при выраженной деформации, сочетающейся со значительными функциональными (сердечно-легочными) нарушениями. При отсутствии жалоб и функциональных изменений или при умеренных расстройствах на первый план выступает косметический дефект.

При определении показаний к торакопластике В.К. Урмонас и Н.И. Кондрашин [7] придавали большое значение желанию самого больного и его родственников. По их мнению, специфических противопоказаний к торакопластике нет. В 1984 г. Н.И. Кондрашин убедительно высказался за то, что больным с воронкообразной деформацией грудной клетки II-III степени при наличии даже минимальных жалоб и функциональных нарушений должно проводиться только хирургическое лечение [5]. Консервативному лечению и ежегодному наблюдению подлежат дети со слабовыраженной деформацией (I степени).

В.А. Тимошенко указывал, что деформации грудной клетки, в том числе воронкообразная, — это врожденные патологические состояния, вызывающие значительные сдвиги в психике больного, обрекающие его на социальную изоляцию [6].

В наших наблюдениях во всех случаях причиной обращения за хирургической помощью 43 детей с воронкообразной деформацией грудной клетки были жалобы на косметический дефект (физическую