

## Иммунологические фенотипы непереносимости стоматологических материалов

И.Ю. Карпук

УО «Витебский государственный медицинский университет»

### Immunological phenotypes of intolerance of dental materials

I.U. Karpuk

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

#### Аннотация

Целью работы явилось исследование иммунного статуса и выделение иммунологических фенотипов у пациентов с непереносимостью стоматологических материалов (НСМ).

Проведено обследование 91 пациент в возрасте от 46 до 65 лет, с жалобами на НСМ.

В результате исследования Т-клеточного звена системы иммунитета у пациентов с непереносимостью стоматологических материалов, но без выявленной гиперчувствительности к их компонентам, обнаружены следующие закономерности: статистически достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение уровней CD3+ Т-общих ( $47,9 \pm 3,7$  при норме в контрольной группе –  $66,2 \pm 4,5$ ) и CD4+ Т-хелперов ( $30,6 \pm 2,8$  при норме доноров  $38,2 \pm 3,2$ ). Отмечено достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение ИРИ ( $1,49 \pm 0,32$  при норме доноров  $1,76 \pm 0,36$ ).

У пациентов с жалобами на непереносимость стоматологических материалов и выявленной гиперчувствительностью, по результатам аппликационных проб и реакции аллергениндуцированного повреждения лейкоцитов иммунный статус характеризовался достоверным ( $p < 0,05$ ) повышением количества лимфоцитов, несущих маркеры CD25+ на 36,2% по сравнению с таковыми в контрольной группе ( $p < 0,05$ ). Установлено увеличение ИРИ ( $2,33 \pm 0,54$ ) по сравнению с контрольной группой ( $1,76 \pm 0,36$ ) ( $p < 0,05$ ), в основном за счет повышенного уровня CD4+ Т-хелперов и относительного снижения содержания CD8+ Т-лимфоцитов до  $18,3 \pm 3,6\%$  (у пациентов контрольной группы –  $21,7 \pm 3,09\%$ ). В этой группе выявлено снижение уровня IgA ( $p < 0,05$ ) в сыворотке крови до  $1,36 \pm 0,12$  г/л и в ротовой жидкости до  $0,042 \pm 0,0023$  г/л, в контрольной группе –  $2,57 \pm 0,06$  г/л и  $0,11 \pm 0,04$  г/л соответственно.

Установлена пониженная активность нейтрофильных гранулоцитов спонтанного ( $8,4 \pm 3,5\%$ ) и индуцированного ( $41,4 \pm 5,3\%$ ) НСТ-теста у пациентов с НСМ без гиперчувствительности к дентальным сплавам, что достоверно ( $p < 0,05$ ) различалось с аналогичными показателями пациентов с НСМ и выявленной гиперчувствительностью к компонентам дентальных сплавов.

#### Summary

The purpose of work was the research of the immune status and allocation of immunologic phenotypes at patients with the intolerance of stomatologic materials (ISM).

Examination 91 patients aged from 46 up to 65 years, with complaints to ISM is conducted.

As a result of a research of the T-cellular link of system of immunity at patients with an intolerance of stomatologic materials, but without the taped hypersensitivity to their components, taped the following patterns: statistically reliable ( $p < 0,05$ ) depression of the CD3+ levels of the T-general ( $47,9 \pm 3,7$  at norm in control group –  $66,2 \pm 4,5$ ) and CD4+ of T-helpers ( $30,6 \pm 2,8$  at norm of donors  $38,2 \pm 3,2$ ). It is noted reliable ( $p < 0,05$ ) depression of IRI ( $1,49 \pm 0,32$  at norm of donors  $1,76 \pm 0,36$ ).

At patients with complaints to an intolerance of stomatologic materials and the taped hypersensitivity, by results of application assays and reaction of allergenindutsirovanny damage of leucocytes the immune status was characterized reliable ( $p < 0,05$ ) by rising of quantity of the lymphocytes carrying CD25+ markers for 36,2% in comparison with those in control group ( $p < 0,05$ ). The augmentation of IRI ( $2,33 \pm 0,54$ ) in comparison with control group ( $1,76 \pm 0,36$ ) ( $p < 0,05$ ), generally at the expense of the increased CD4+ level of T-helpers and relative depression the maintenance of CD8+ of T lymphocytes to  $18,3 \pm 3,6\%$  is established (patients of control group have  $21,7 \pm 3,09\%$ ). At that group depression of the IgA level ( $p < 0,05$ ) in blood serum to  $1,36 \pm 0,12$  g/l and in oral liquid to  $0,042 \pm 0,0023$  g/l is taped, and patients of control group have  $2,57 \pm 0,06$  g/l and  $0,11 \pm 0,04$  g/l respectively.

The lowered activity of neutrocytes by results of spontaneous ( $8,4 \pm 3,5\%$ ) and induced ( $41,4 \pm 5,3\%$ ) is established to test NST at patients with ISM without hypersensitivity to dental alloys that authentically ( $p < 0,05$ ) differed with similar indicators of patients with ISM and the taped hypersensitivity to components of dental alloys.

Indicators of the increased metabolic activity of neutrophils at patients with complaints to NSM and the taped hypersensitivity to dental alloys and their components defined in the NST-test correlated with: levels IgA of stomatic liquid ( $r = -0,55$ ;  $p < 0,05$ ); quantity of dentoprosthetic units ( $r = 0,72$ ;  $p < 0,05$ ); terms of

Показатели повышенной метаболической активности нейтрофилов в НСТ-тесте у пациентов с жалобами на НСМ и с выявленной гиперчувствительностью к дентальным сплавам и их компонентам коррелировали с уровнем IgA в ротовой жидкости ( $r=-0,55$ ;  $p<0,05$ ); количеством зубопротезных единиц ( $r=0,72$ ;  $p<0,05$ ); сроками пользования зубопротезными конструкциями ( $r=0,47$ ;  $p<0,05$ ). Полученные нами данные показывают наличие двух иммунологических фенотипов НСМ: один с гиперчувствительностью к ним, второй с ее отсутствием. При обоих фенотипах выявлены признаки дефицита местного и общего иммунитета, которые различались при этих фенотипах.

### **Ключевые слова**

Стоматологические материалы, гиперчувствительность, иммунодефицит

### **Введение**

В последние десятилетия количество пациентов с непереносимостью стоматологических материалов (НСМ) повышается параллельно с увеличением заболеваемости аллергическими болезнями среди населения во всем мире [1].

Ионы металлов не являются полноценными аллергенами, но при взаимодействии с белками, превращаются в полноценные антигены [2]. Наиболее частым механизмом аллергических реакций на компоненты металлических изделий являются реакции IV типа, протекающие обычно по типу контактных дерматитов. Однако имеются указания на возможность формирования реакций I, II и III типов [3-5].

Все лейкоциты (гранулоциты, моноциты, лимфоциты), а также тромбоциты и клетки эндотелия имеют Fc-рецепторы, которые связывают антитела [6]. При отсутствии антител любых изотипов (IgM, IgA, IgG, IgE) в сыворотке крови не исключено, что в этот момент они имеются на лейкоцитах. Есть методы определения IgE на лейкоцитах по выбросу гистамина, миелопероксидазы. Поэтому необходимо учитывать многообразие механизмов действия катионов металлов на систему иммунитета [7, 8].

Иммунный статус пациентов с проявлениями неблагоприятного воздействия компонентов дентальных сплавов характеризуется наличием количественных и функциональных отклонений [9].

В связи с противоречивостью данных, касающихся иммунологических нарушений при непереносимости стоматологических материалов НСМ, актуальным представляется исследование маркерного состава лимфоцитов и показателей местного реагирования, что позволит оценить функциональные сдвиги в системе иммунитета, их специфичность, у пациентов с НСМ.

use of dentoprosthetic designs ( $r=0,47$ ;  $p<0,05$ ).

The data obtained by us show two immunologic phenotypes of ISM: one with a hypersensitivity to them, the second with its absence. At both phenotypes signs of deficiency of local and general immunity which differed at these phenotypes are taped.

### **Keywords**

Dental materials, hypersensitivity, immunodeficiency

Патогенетические механизмы развития НСМ, требуют детального изучения роли системы иммунитета (СИ) в развитии НСМ.

*Цель работы:* исследовать иммунный статус и выделить иммунологические фенотипы у пациентов с непереносимостью стоматологических материалов.

### **Материалы и методы исследования**

Клиническая характеристика и принципы деления на группы пациентов с НСМ

Проведено обследование 91 пациент в возрасте от 46 до 65 лет, из них, направленные в клинику кафедр общей стоматологии с курсом ортопедической стоматологии клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК УО «ВГМУ» с жалобами на НСМ. Все пациенты устанавливали наличие причинно-следственной связи между возникновением симптомов непереносимости зубопротезного материала и фактом контакта с ним. После постановки аппликационных проб (АП) и реакции алергениндуцированного повреждения лейкоцитов (РАПЛ) пациенты были разделены на 2 группы.

Контрольную группу составили пациенты, сопоставимые по полу, возрасту, типу конструкций и количеству зубопротезных единиц, согласившиеся пройти обследования на наличие гиперчувствительности к зубопротезным материалам, перед плановой заменой ортопедических конструкций.

Пациенты направлялись к нам после прохождения лечения у врача-периодонтолога, которое не оказывало клинически значимого улучшения.

Симптомы НСМ в полости рта могут являться как признаками соматических заболеваний, так и заболеваний органов полости рта. От-

существование четко выраженных патогномоничных симптомов, характерных только для аллергии на зубопротезные материалы обусловило выбор критериев включения и исключения пациентов в опытные группы, выработанных для подтверждения гиперчувствительности, как причины в возникновении симптомов непереносимости (таблица 1).

В первую группу (группа 1) вошло 32 пациента, соответствующих критериям включения. Из них 7 мужчин и 25 женщин.

Пациенты данной группы были разделены на подгруппы, по результатам выявленной ранее сенсибилизации по АП и РАПЛ:

1 подгруппа – 14 пациента с выявленной сенсибилизацией к  $Ni_2^+$ ;

2 подгруппа – 10 пациентов с выявленной сенсибилизацией к  $Cr_3^+$ ;

3 подгруппа – 8 пациентов с выявленной сенсибилизацией к  $Co_2^+$ .

Во вторую группу (группа 2) вошло 28 пациентов (6 мужчин и 22 женщины) с жалобами на НСМ, но не выявленной гиперчувствительностью.

В контрольную группу вошло 29 пациентов (7 мужчин и 22 женщины) без жалоб на НСМ и без гиперчувствительности к ним.

Пациентам данной группы проводили оценку иммунного статуса.

Все пациенты, включенные в исследование, дали и собственноручно заполнили доброволь-

ное информированное согласие на участие в работе.

Сформированные группы сопоставимы по возрастной и половой категориям.

Перед тем как пациенты направлялись к нам, они проходили обследование и лечение у врача-периодонтолога, согласно клиническим протоколам МЗ РБ, для дифференциации заболеваний периодонта, вызванных воздействием бактерий зубного налета, и патологии, обусловленной неблагоприятным действием дентальных сплавов.

Уровень гигиены оценивали по упрощенному индексу гигиены полости рта ОНI-S, а выраженность воспалительного процесса - при помощи индекса GI (оценивали зубы симметричной локализации противоположной стороны челюсти).

В группе пациентов с выявленной гиперчувствительностью период от момента установки ортопедических конструкций до появления симптомов их непереносимости варьировал от нескольких суток до полугода. Все пациенты устанавливали взаимосвязь между протезированием зубов и развитием симптомов. В анамнезе у 28 (87,5%) пациентов отмечено наличие аллергического контактного дерматита в месте контакта с металлическими изделиями: в области шеи за ушами при ношении украшений, в области мочки уха (серьги), на запястье – при контакте с часами. Большинство больных, сенсибилизированных к металлам, страдали также дерматитом: высыпаниями и зудом кожи в око-

**Таблица 1. Критерии включения/исключения пациентов в исследование**

Критерии включения	Критерии исключения
Жалобы на непереносимость стоматологических материалов	Отсутствие жалоб на непереносимость стоматологических материалов
Отсутствие кандидоза в полости рта	Наличие кандидоза в полости рта
Пациенты, не принимающие регулярно стероидные и/или нестероидные препараты	Регулярный прием стероидных и/или нестероидных препаратов
Наличием одного типа причинной конструкции во рту пациента	Наличие двух и более разнородных сплавов во рту пациента
Пациенты, не принимающие антигистаминные препараты	Пациенты, принимающие антигистаминные препараты
Положительные результаты АП и РАПЛ к одному из ионов металлов	Отрицательные результаты АП и РАПЛ
Установление взаимосвязи между установкой ортопедической конструкции и возникновением патологического состояния СОПР (для пациентов второй группы – критерий исключения)	Отсутствие взаимосвязи между установкой ортопедической конструкции и возникновением патологического состояния СОПР (для пациентов второй группы – критерий включения)

лопучной области, вызванными контактом с металлическими пуговицами при ношении одежды.

Пациенты предъявляли жалобы на жжение, привкус металла, сухость СОПР, ощущение электрических разрядов.

У всех пациентов данной группы в ходе клинического обследования в были отмечены клиническими симптомами: гингивит, стоматит и хейлит, локализованный в области протезов. Контактный стоматит в виде гиперемии и умеренно выраженного отека наблюдался в области проекции дуги бюгельного протеза на верхней челюсти.

При оценки степени воспаления десны установлено, что до мотивации и проведения профессиональной гигиены полости рта у пациентов средний показатель составил 2,6, у контрольной группы 1,4. После коррекции гигиены полости рта - 2,4 и 0,7 соответственно. Связь интенсивности воспалительного процесса десны в участках с металлическими коронками с влиянием бактериального налета не установлена. Полученные данные показывают, отсутствие влияния бактериального налета в области ортопедических зубных конструкций на степень воспалительного процесса в десны.

В группе пациентов с жалобами на НСМ, но без выявленной гиперчувствительности к сплавам и их компонентам период от момента установки ортопедических конструкций до появления симптомов их непереносимости варьировал от нескольких месяцев до 5 лет. При этом 20 (66,7%) пациентов не устанавливали четкой взаимосвязи между протезированием зубов и началом возникновением симптомов, а связывали их с изношенностью конструкций.

У 14 (46,67%) пациентов отмечены только субъективные симптомы, а у 16 (53,33%) пациентов диагностированы объективные симптомы в полости рта.

Пациенты предъявляли жалобы на жжение в полости рта привкус металла, сухость полости рта, ощущение электрических разрядов.

Разновидности ортопедических конструкций представлены в таблице 2.

Материалом для исследования являлась РЖ, гепаринизированная кровь и сыворотка крови больных и лиц контрольной группы.

### Методы исследования

Определение субпопуляционного состава лимфоцитов (CD3, CD4, CD8, CD21, CD25) с помощью моноклональных антител (МКАТ). Диагностикумы приготавливались по оригинальной комбинированной методике: эритроциты быка обрабатывались антителами против иммуноглобулинов мыши, после чего на них сорбировали МКАТ. Полученные стабильные диагностикумы использовали в прямой реакции розеткообразования с лимфосуспensionей. В мазках подсчитывали процент клеток, прочно связавших не менее 3 эритроцитов [10].

Количественное определение и IgA, IgM, IgG в ротовой жидкости (РЖ) и IgE в сыворотке крови проводилось с помощью наборов реагентов для иммуноферментного определения производства «Вектор-Бест» (Новосибирск, Российская Федерация):

Количественное определение иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG в сыворотке крови оценивалось методом турбодиметрии на автоматическом биохимическом анализаторе BS-300.

Постановка НСТ-теста осуществлялась в понтанном (без антигена) и в индуцированном (с добавлением в пробу специфического антигена) варианте. В качестве индуктора использована живая взвесь стафилококков [10].

Статистическая обработка данных проведена в STATISTICA 10.0.

### Определение гиперчувствительности к стоматологическим материалам

Катионы металлов при взаимодействии с белками, нуклеиновыми кислотами, углеводами превращаются в полноценные антигены. Такие антигены захватываются антигенпрезентирующей

**Таблица 2. Характеристика ортопедических конструкций у исследуемых пациентов**

Вид ортопедической конструкции	1 группа (n=32)	2 группа (n=30)	Контрольная группа (n=29)
Штамповано-паяные с NiTi напылением	17(53,13%)	19 (63,3%)	16 (55,2%)
Штамповано-паяные без NiTi напыления	7 (21,9%)	5 (16,67%)	6 (20,6%)
Цельнолитые	6 (18,75%)	4 (13,33%)	5 (17,2%)
Бюгельный протез	2 (6,25%)	2 (3,66%)	2 (6,88%)
Металлокерамические с «гирляндой»	1 (3,12%)		

щими клетками (клетки Лангерганса, моноциты и макрофаги). В результате внутриклеточной переработки комплексных антигенов пептиды, фиксирующие ионы металлов, связываются с молекулами распознавания II класса (HLA молекулы II класса). Образованный комплекс экспонируется на мембране антигенпрезентирующих клеток для последующей презентации CD4+ Т-лимфоцитам. Презентация чужеродного антигена осуществляется в паракортикальных зонах (Т-зонах) региональных лимфатических узлов. Процесс занимает от нескольких часов до нескольких суток. Результатом этих взаимодействий являются морфологические и метаболические изменения в лимфоцитах с последующей продукцией различных цитокинов, модулирующих ход и выраженность формирующейся локальной реакции. Обычно эти взаимодействия приводят к клональной пролиферации эффекторных Т- лимфоцитов (CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов), формированию кратковременной (недели) и долговременной (годы) Т-клеточной памяти, которые и ответственны за развитие аллергической реакции при повторном контакте организма с антигеном [6, 8].

#### Аппликационное накожное тестирование с растворами солей металлов

Всем участникам исследования в двух группах осуществлялась постановка аппликационного накожного тестирования с растворами солей металлов в различных концентрациях на вазелиновой основе, с использованием в качестве аппликатора лейкопластыря «Унипласт Фиксирующий» 5x500 см. Результаты постановки АП оценивались через 3, 24 и 48 часов. Использованы следующие соли NiCl<sub>2</sub> (3%), CrCl<sub>3</sub> (3%), CoCl<sub>2</sub> (1%), CuCl<sub>2</sub> (0,5%). Обновление диагностических растворов проводили не реже чем через 2-3 недели.

С целью исключения ложноположительных реакций при оценке кожных проб, которые возникают при расчесывании кожи в области последних, пластырь с аллергеном наклеивался в область спины по правой и левой лопаточным линиям.

В качестве отрицательного контроля использовался чистый медицинский вазелин.

Интерпретация результатов кожного тестирования проводилась согласно общепринятой методике [10].

Исследование одобрено этическим комитетом Витебской областной клинической больницы.

#### Определение сенсibilизации лейкоцитов с использованием реакции алергениндуцированного повреждения лейкоцитов (РАПЛ) [6, 10]

В качестве аллергенов использовали растворы солей металлов. Оптимальная концентрация аллергенов для РАПЛ была определена с лейкоцитами 20 пациентов с аллергией на металлы и 20 здоровых лиц без аллергии. Установлено, что 0,01% растворы NiCl<sub>2</sub>, CrCl<sub>3</sub>, 0,005% раствор CoCl<sub>2</sub> и 0,001% раствор CuCl<sub>2</sub> не вызывают неспецифического повреждения лейкоцитов в реакции алергениндуцированного повреждения лейкоцитов.

Поэтому как аллергены использовали растворы солей металлов в физиологическом растворе хлорида натрия в вышеуказанных концентрациях.

Для исследования брали из вены 10 мл крови в пробирку, в которую добавляли 20 ед/мл гепарина. Использовали суспензию неразделенных лейкоцитов, полученных из плазмы крови после её отстаивания 30-40 мин. Лейкоциты отмывали от плазмы крови раствором хлорида натрия и готовили их суспензию в концентрации  $2 \times 10^6$  в 1 мл.

0,25-0,05 мл суспензии лейкоцитов смешивали с равным объемом различных концентраций испытуемых аллергенов-растворов солей металлов, к одной пробе (контроль) аллерген не добавляли. Смеси лейкоцитов с аллергенами инкубировали при 37°C в течение 30 мин. Все пробы дублировали. После инкубации смесь центрифугировали при 1000 об/мин 5 мин, надосадочную жидкость сливают, добавляют 2 капли 0,1% раствора трипанового синего, ресуспендировали и подсчитывали в камере Горяева процент окрашенных лейкоцитов.

Цитотоксический индекс (ЦИ) рассчитывали по формуле 1:

$$(a-b): a \times 100\% \quad (1)$$

где:

a – процент окрашенных клеток в опыте после инкубации с аллергеном;

b – то же, но в опыте без аллергена.

*Интерпретация результатов.* Цитотоксические индексы больше 0,15 или присутствие более 15% поврежденных клеток в опыте по сравнению с контролем, указывают на наличие сенсibilизации лейкоцитов к испытуемому аллергену, т.е. на его аллергическую этиологическую роль в данном заболевании.

## Результаты исследования

Характеристика лимфоцитов пациентов с жалобами на НСМ, но без выявленной гиперчувствительности к дентальным сплавам и их компонентам

В группе пациентов с жалобами на НСМ, но без выявленной гиперчувствительности средние значения большинства иммунологических показателей имели отличия от нормы: 3 и более – у 32% пациентов, 2-3 показателя – у 44% пациентов, один показатель – у 17% пациентов. Лишь у 7% пациентов по иммунограмме ни один параметр не имел существенных отличий от нормы.

У пациентов данной группы было выявлено статистически достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение уровней CD3+ Т-общих и CD4+ Т-хелперов по сравнению с их уровнем у здоровых доноров. При этом содержание CD3+ лимфоцитов было снижено на 27,8% ( $p < 0,05$ ), а CD4+ Т-хелперов на 15,5% ( $p < 0,05$ ) (таблица 3).

Нарушение соотношения субпопуляций CD4+ Т-хелперов и CD8+ Т-лимфоцитов вело к снижению иммунорегуляторного индекса (ИРИ) по сравнению с ИРИ контрольной группы ( $p < 0,05$ ), в основном за счет дефицита CD4+ Т-хелперов. При этом содержание CD8+ Т-лимфоцитов, относящихся к цитотоксической популяции, не отличалось от среднего уровня здоровых доноров.

Характеристика лимфоцитов пациентов с жалобами на НСМ с выявленной гиперчувствительностью к дентальным сплавам и их компонентам

У пациентов данной группы отмечена тенденция к снижению уровней CD8+ Т-супрессоров (18,3±3,6) по сравнению с их уровнем у здоровых доноров (21,7±3,09). При этом содержание CD25+ лимфоцитов было выше чем у пациентов контрольной группы на 36,2% ( $p < 0,05$ ), что могло

быть вызвано гиперчувствительностью к дентальным сплавам (таблица 3).

В ходе анализа полученных данных установлено увеличение ИРИ (2,33±0,54) по сравнению с контрольной группой (1,76±0,36) ( $p < 0,05$ ), в основном за счет повышенного уровня CD4+ Т-хелперов и относительного снижения содержания CD8+ Т-лимфоцитов до 18,3±3,6 (у пациентов контрольной группы – 21,7±3,09).

Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови и ротовой жидкости у пациентов исследуемых групп

Концентрации иммуноглобулинов в РЖ на порядок меньше чем в сыворотке крови (IgA и IgG приблизительно в 300 раз, а IgM – в 30), что затрудняет количественное определение и увеличивает погрешность [11].

Было установлено, что изменение концентраций иммуноглобулинов разных классов происходит как на системном, так и на локальном уровне, причем как в сторону повышения, так и в сторону понижения за исключением IgM.

Уровни иммуноглобулинов у пациентов с жалобами на НСМ, но без выявленной гиперчувствительности к дентальным сплавам и их компонентам

У пациентов с жалобами на НСМ выявлено понижение уровня IgA ( $p < 0,05$ ) в сыворотке крови до 1,36±0,12 г/л и в РЖ до 0,042±0,0023 г/л при его концентрации в у пациентов контрольной группы – 2,57±0,06 г/л и 0,11±0,01 г/л соответственно (таблица 4). Уровень IgG также был понижен ( $p < 0,05$ ) по сравнению с пациентами контрольной группы ( $p < 0,05$ ), и составил в сыворотке крови – 8,17±1,56 г/л, в РЖ – 0,037±0,011 г/л. По содержанию IgM и IgE статистически достоверной разницы не было обнаружено, хотя при этом было выявлено, что у 13,5% пациентов

**Таблица 3. Характеристика лимфоцитарного звена системы иммунитета у пациентов с жалобами и без жалоб на НСМ (M±m)**

Показатели	Контрольная группа	НЗМ без гиперчувствительности	НЗМ с выявленной гиперчувствительностью
CD3 (%)	66,2±4,5	47,9±3,7 *	68,3±2,1
CD4 (%)	38,2±3,2	30,6±2,8 *	42,6±2,8
CD8 (%)	21,7±3,09	20,5±2,91	18,3±3,6
CD25 (%)	15,5±3,6	17,8±2,8	24,3±2,8*
CD21 (%)	20,55±3,1	17,6±1,1 *	19,3±1,9
ИРИ	1,76±0,36	1,49±0,32 *	2,33±0,54*

\* $p < 0,05$  – по сравнению с контрольной группой

уровень IgG был ниже по сравнению пациентами контрольной группы. Причем у части пациентов был выявлен выраженный иммунодефицит иммуноглобулинов в РЖ, с полным отсутствием IgA у 18 обследуемых (26,8%), IgG – у 15 (22,3%), а у 8 (18,9%) пациентов – с одновременным отсутствием IgA, IgG. Это указывало на наличие у них иммунодефицита, который служит фоном развития гиперестезии слизистой оболочки полости рта (СОПР).

#### Уровни иммуноглобулинов у пациентов с жалобами на НСМ при выявленной гиперчувствительности к дентальным сплавам и их компонентам

Результаты иммунологического исследования сыворотки крови и РЖ показали, что у обследуемых больных имеются существенные сдвиги в местном иммунитете (таблица 4).

В среднем по группе отмечено статистически достоверное ( $p \leq 0,05$ ), по сравнению с пациентами контрольной группы, снижение уровня IgA в сыворотке крови ( $1,48 \pm 0,21$  г/л) и РЖ ( $0,056 \pm 0,0023$  г/л) при норме в контрольной группе  $2,57 \pm 0,06$  г/л и  $0,11 \pm 0,01$  г/л соответственно.

Уровни IgG, IgM и IgA в сыворотке крови и РЖ были большими по сравнению с аналогичными показателями у пациентов с жалобами на НСМ, но без выявленной гиперчувствительности ( $p \leq 0,05$ ).

Концентрация IgE у пациентов с гиперчувствительностью на НСМ, была достоверно выше ( $158,63 \pm 17,23$  МЕ/мл) по сравнению пациентами контрольной группы ( $113,6 \pm 19,2$  МЕ/мл) и пациентов без гиперчувствительности ( $119,1 \pm 21,46$  МЕ/мл) ( $p \leq 0,05$ ). Мы считаем, что причиной подобного повышения уровня иммуноглобулинов явилась гиперчувствительность к стоматологическим материалам.

#### Фагоцитарная активность нейтрофилов у пациентов с НСМ

Лейкоциты, принимающие участие в фагоцитозе, способны проникать через физиологический зубодесневой карман и попадать в РЖ. В норме 1 мл РЖ содержит 4000 лейкоцитов, за час их мигрирует в РЖ около 500 000. При патологическом процессе в полости рта количество лейкоцитов увеличивается [13].

Данный факт привлек наше внимание к исследованию нейтрофилов как потенциальных «участников» патогенеза гиперчувствительности к дентальным сплавам. Особенно это касается изучения такой важной и своеобразной формы их реактивности, как «респираторный взрыв», связанный с образованием активированных форм кислорода (АФК) и формированием кислородзависимой гиперчувствительности в ответ на попадание в организм антигена.

Изучение двух параметров фагоцитарного звена системы иммунитета: поглотительной активности (фагоцитарный индекс и фагоцитарное число) и кислородзависимого метаболизма нейтрофилов - показало, что у пациентов с НСМ имеется значительное снижение поглотительной активности по сравнению с контрольной группой. Так, фагоцитарный индекс у пациентов с НСМ без гиперчувствительности к дентальным сплавам был снижен и составил  $46,1 \pm 5,7\%$  ( $p < 0,05$ ), а у пациентов контрольной группы и пациентов с НСМ с выявленной гиперчувствительностью к компонентам дентальных сплавов  $73,2 \pm 4,8\%$  и  $68,7 \pm 4,3\%$  соответственно. Фагоцитарное число также было ниже нормы и имело статистически достоверное различие ( $p < 0,05$ ) у пациентов с НСМ без гиперчувствительности к дентальным в период обострения оно было  $7,4 \pm 2,43$ , а у пациентов контрольной группы и пациентов с НСМ и выявленной гиперчувстви-

**Таблица 4. Концентрация иммуноглобулинов в сыворотке крови и ротовой жидкости у пациентов с гиперчувствительностью на компоненты стоматологических материалов и без нее ( $M \pm m$ )**

Показатели	Контрольная группа (n=29)		НСМ без гиперчувствительности (n=30)		НСМ с выявленной гиперчувствительностью (n=32)	
	Сыворотка	РЖ	Сыворотка	РЖ	Сыворотка	РЖ
IgM, г/л	$1,58 \pm 0,12$	$0,053 \pm 0,002$	$1,42 \pm 0,04$	$0,031 \pm 0,0015^*$	$1,63 \pm 0,09^+$	$0,041 \pm 0,0018^+$
IgG, г/л	$10,8 \pm 1,07$	$0,09 \pm 0,017$	$8,17 \pm 1,56$	$0,037 \pm 0,011^*$	$9,6 \pm 0,06^+$	$0,057 \pm 0,011^{**}$
IgA, г/л	$2,57 \pm 0,06$	$0,11 \pm 0,04$	$1,36 \pm 0,12^*$	$0,042 \pm 0,0023^*$	$1,48 \pm 0,21^{**}$	$0,056 \pm 0,0023^{**}$
IgE, МЕ/мл	$113,6 \pm 19,2$		$119,1 \pm 21,46$		$158,63 \pm 17,23^{**}$	

Примечание. \* – отличие между группами с  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой;

+ – отличие группы с гиперчувствительностью с  $p < 0,05$  по сравнению с группой не имевшей ее.

тельностью к компонентам дентальных сплавов  $11,7 \pm 1,14$  и  $10,6 \pm 0,19$  соответственно (таблица 5).

На этом фоне оказалось, что имеется гипоактивность клеток врожденного иммунитета, а именно нейтрофильных гранулоцитов по результатам спонтанного ( $8,4 \pm 3,5\%$ ) и индуцированного ( $41,4 \pm 5,3\%$ ) НСТ теста у пациентов с НСМ без гиперчувствительности к дентальным сплавам, что достоверно ( $p < 0,05$ ) различалось с аналогичными показателями пациентов с НСМ и выявленной гиперчувствительностью к компонентам дентальных сплавов. Метаболизм нейтрофилов у пациентов данной группы был понижен, что указывало на наличие у них иммунодефицита.

Установлена тенденция к увеличению результатов спонтанного и активированного НСТ теста у пациентов с НСМ и выявленной гиперчувствительностью к компонентам дентальных сплавов, которое свидетельствовало об активности процесса гиперчувствительности и сохранении способности нейтрофильных гранулоцитов к выработке кислородзависимых радикалов (таблица 5).

Показатели повышенной метаболической активности нейтрофилов у пациентов с жалобами на НСМ и выявленной гиперчувствительностью к дентальным сплавам и их компонентам, определяемой в НСТ-тесте, коррелировали с: IgA ротовой жидкости ( $r = -0,55$ ;  $p < 0,05$ ); количеством зубопротезных единиц ( $r = 0,72$ ;  $p < 0,05$ ); сроками пользования зубопротезными конструкциями ( $r = 0,47$ ;  $p < 0,05$ ).

### Обсуждение

До настоящего времени остается нерешенной проблема НСМ. Несмотря на многочисленные исследования, вопросы этиопатогенеза и так-

тики обследования и лечения таких пациентов актуальными [1, 2, 9, 12].

Анализ данных литературы не оставляет сомнения в важности системы иммунитета в этиологии и патогенезе НСМ. Есть все основания считать, что иммунная недостаточность приводит к снижению резистентности СОПР и формированию патологического симптомокомплекса, который не всегда имеет четкие, клинически определяемые признаки.

Нами замечено, что традиционные методы терапии патологии СОПР, включающие применение противовоспалительных и противомикробных препаратов, не всегда оказываются эффективными и не приводят к улучшению состояния пациентов.

Исходя из результатов проведенной работы и установлении роли системы иммунитета в развитии НСМ, можно предположить, что отсутствие эффекта при традиционном лечении гиперестезии СОПР, связано с наличием иммунной недостаточности, которая создает условия для формирования и усугубления данного симптомокомплекса. Данное обстоятельство побуждает клиницистов изыскивать новые, патогенетически обоснованные лечебные мероприятия, которые способствовали бы нормализации показателей системы иммунитета и реальному выздоровлению.

Таким образом, актуальным видится изучение степени изменений в системе иммунитета пациентов с НСМ путем анализа показателей общего и местного иммунного статуса с дальнейшим обоснованием и разработкой иммунокорригирующей терапии.

Результаты наших исследований выявили существенные сдвиги в иммунных показателях

**Таблица 5. Показатели фагоцитарного звена иммунитета у пациентов с гиперчувствительностью на компоненты стоматологических материалов и без нее (M±m)**

Показатели	Контрольная группа	НСМ без гиперчувствительности	НСМ с выявленной гиперчувствительностью
Фагоцитарное число	$11,7 \pm 1,14$	$7,4 \pm 2,43$ *+	$10,6 \pm 0,19$
Фагоцитарный индекс (стафилококк)	$73,2 \pm 4,8$	$46,1 \pm 5,7$ *+	$68,7 \pm 4,3$
НСТ-тест, спонтанный %:	$12,4 \pm 1,8$	$8,4 \pm 3,5$ *+	$15,3 \pm 4,5$ *
НСТ-тест, индуцированный (стафилококк)	$48,3 \pm 4,07$	$41,4 \pm 5,3$ *+	$55,2 \pm 3,8$ *

Примечание. \* – отличие с  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой

+ – отличие с  $p < 0,05$  по сравнению с НСМ и выявленной гиперчувствительностью к компонентам дентальных сплавов



T- и B-системы иммунитета больных HCM по сравнению со здоровыми донорами.

Иммунный статус больных в среднем по обследуемым группам в отличие от здоровых лиц характеризовался достоверным снижением уровня CD3+ T-общих лимфоцитов в 1,17 раза ( $p < 0,05$ ), CD4+ T-хелперов – в 1,25 раза ( $p < 0,05$ ), CD22 – в 1,16 раза ( $p < 0,05$ ); дисбалансом иммунорегуляторных субпопуляций CD4+/CD8+ за счет недостатка CD4+ T-хелперов ( $p < 0,05$ ); гипоглобулинемией по классу IgA ( $p < 0,05$ ), гиперглобулинемией по классу IgG ( $p < 0,05$ ).

Проведенные нами исследования подтвердили результаты некоторых отечественных и зарубежных авторов, также указывающих на дефицит гуморального и T-клеточного звена иммунитета [9, 12, 13] у больных с HCM. Нами была отмечена и недостаточность B-клеточного звена системы иммунитета.

Согласно имеющимся в литературе данным [2, 13] и результатам нашего исследования можно утверждать, что между HCM, общим иммунитетом и местной защитой полости рта имеется существенная связь. Полученные результаты исследований указывают на необходимость учета иммунологических изменений в клинической практике при анализе патогенетических механизмов развития HCM, при выборе лечения, учете ее результатов и при прогнозировании течения заболевания.

Полученные нами данные выявили два иммунологических фенотипа HCM: один с гиперчувствительностью к ним, второй с ее отсутствием. При обоих фенотипах обнаружены признаки дефицита местного и общего иммунитета, которые различались при этих фенотипах.

### Выводы

1. Результаты исследования T-клеточного звена системы иммунитета у пациентов с непереносимостью стоматологических материалов, но без выявленной гиперчувствительности к их компонентам, выявили следующие закономерности: статистически достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение уровней CD3+ T-общих ( $47,9 \pm 3,7$ ), в контрольной группе –  $66,2 \pm 4,5$  и CD4+ T-хелперов ( $30,6 \pm 2,8$ ) (в контрольной группе –  $38,2 \pm 3,2$ ). Отмечено достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение ИРИ ( $1,49 \pm 0,32$ ), в контроле –  $1,76 \pm 0,36$ .

В группе пациентов с жалобами на непереносимость стоматологических материалов и выявленной гиперчувствительностью к дентальным сплавам и их компонентам им-

мунный статус характеризовался достоверным ( $p < 0,05$ ) повышением количества лимфоцитов, несущих маркеры CD25+ на  $36,2\%$  по сравнению с таковыми в контрольной группе ( $p < 0,05$ ). Установлено увеличение ИРИ ( $2,33 \pm 0,54$ ) по сравнению с контрольной группой ( $1,76 \pm 0,36$ ) ( $p < 0,05$ ), в основном за счет повышенного уровня CD4+ T-хелперов и относительного снижения содержания CD8+ T-лимфоцитов до  $18,3 \pm 3,6\%$  (у пациентов контрольной группы –  $21,7 \pm 3,09\%$ ).

2. У пациентов с жалобами на непереносимость стоматологических материалов с выявленной гиперчувствительностью, по результатам аппликационных проб и реакции аллергически индуцированного повреждения лейкоцитов, выявлено снижение уровня IgA ( $p < 0,05$ ) в сыворотке крови до  $1,36 \pm 0,12$  г/л и в РЖ до  $0,042 \pm 0,0023$  г/л, (у пациентов контрольной группы –  $2,57 \pm 0,06$  г/л и  $0,11 \pm 0,04$  г/л соответственно).

У пациентов с жалобами на HCM при выявленной гиперчувствительности к дентальным сплавам отмечено статистически достоверное ( $p \leq 0,05$ ), по сравнению с пациентами контрольной группы, снижение уровня IgA в сыворотке крови ( $1,48 \pm 0,21$  г/л) и РЖ ( $0,056 \pm 0,0023$  г/л) при норме в контрольной группе  $2,57 \pm 0,06$  г/л и  $0,11 \pm 0,01$  г/л соответственно. Концентрация IgE в сыворотке крови у пациентов данной группы была достоверно выше ( $158,63 \pm 17,23$  МЕ/мл) по сравнению с пациентами контрольной группы ( $113,6 \pm 19,2$  МЕ/мл).

3. Фагоцитарный индекс у пациентов с HCM без гиперчувствительности к дентальным сплавам был снижен и составил  $46,1 \pm 5,7\%$  ( $p < 0,05$ ), а у пациентов контрольной группы и пациентов с HCM и выявленной гиперчувствительностью к компонентам дентальных сплавов  $73,2 \pm 4,8\%$  и  $68,7 \pm 4,3\%$  соответственно. Фагоцитарное число также было ниже нормы и имело статистически достоверное различие ( $p < 0,05$ ) у пациентов с HCM без гиперчувствительности к дентальным в период обострения оно было  $7,4 \pm 2,43$ , а у пациентов контрольной группы и пациентов с HCM и выявленной гиперчувствительностью к компонентам дентальных сплавов  $11,7 \pm 1,14$  и  $10,6 \pm 0,19$  соответственно.

Установлена пониженная активность нейтрофильных гранулоцитов по результатам спонтанного ( $8,4 \pm 3,5\%$ ) и индуцированного ( $41,4 \pm 5,3\%$ ) НСТ теста у пациентов с HCM

без гиперчувствительности к дентальным сплавам, что достоверно ( $p < 0,05$ ) различалось с аналогичными показателями пациентов с НСМ и выявленной гиперчувствительностью к компонентам дентальных сплавов.

4. Показатели повышенной метаболической активности нейтрофилов у пациентов с жалобами на НСМ и выявленной гиперчувствительностью к дентальным сплавам и их компонентам, определяемой в НСТ-тесте, коррелировали с: IgA ротовой жидкости ( $r = -0,55$ ;

$p < 0,05$ ); количеством зубопротезных единиц ( $r = 0,72$ ;  $p < 0,05$ ); сроками пользования зубопротезными конструкциями ( $r = 0,47$ ;  $p < 0,05$ ).

5. Выявлено, что у пациентов с жалобами на непереносимость стоматологических материалов отмечались признаки вторичной иммунной недостаточности как общего, так и местного звена иммунитета, которые различались у больных с гиперчувствительностью и без нее, что позволило выделить два фенотипа иммунодефицита.

## Литература

1. Величко Л.С., Ящиковский Н.В. Дифференциальная диагностика, профилактика и лечение гиперестезий полости рта. Современная стоматология 2012; №1: 34-36.
2. Лебедев К.А., Митронин А.В., Понякина И.Д. Непереносимость зубопротезных материалов. М.: Кн. дом «ЛИБРОКОМ», 2010, 208 с.
3. Scalf L.A. et al. Dental metal allergy in patients with oral, cutaneous, and genital lichenoid reactions. Am. J. Contact Dermat. 2001; Vol. 12, №3: 146-150.
4. Merget R., van Kampen V., Bruning T. Immediate type allergies due to metal compounds: platinum salts. Pneumologie 2003; Vol. 57, №10: 606-611.
5. Van Kampen V., Merget R., Bruning T. Immediate type allergies due to metal – nickel. Pneumologie 2003; Vol. 57, №11: 667-670.
6. Новиков Д.К., Сергеев Ю.В., Новиков П.Д. Лекарственная аллергия. М.: Нац. акад. микологии, 2001, 313 с.
7. Титова Н.Д. Аллергические и неаллергические реакции на добавки в пище и лекарствах. Аллергология и иммунология 2010; Т. 11, №3: 250-259.
8. Титова Н.Д. Аллергия, атопия, IgE-антитела и концепция аллергенной сети. Иммунопатология, аллергология, инфектология 2011; №4: 39-47.
9. Наумович С.А., Титов П.Л. Характеристика гуморальных факторов иммунитета у пациентов с жалобами на неблагоприятное действие дентальных сплавов. Современная стоматология 2005; №1: 48-51.
10. Новиков П.Д. Иммунодиагностика. Витебск, 2006, 250 с.
11. Тотолян А.А. Современные подходы к диагностике иммунопатологических состояний. Медицинская иммунология 1999; Т. 1, №1-2: 75-108.
12. Титов П.Л. Оценка сенсибилизации организма к ионам металлов in vivo у лиц с предполагаемым неблагоприятным локальным воздействием дентальных сплавов. Бел. мед. журн. 2004; №4: 89-92.
13. Титов П.Л. Характеристика иммунного статуса пациентов с жалобами на неблагоприятное действие дентальных сплавов. Мед. наука молодых ученых : сб. науч. работ. Минск, 2005: 106-108.

## Сведения об авторе:

Карпук Иван Юрьевич – докторант кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК «УО» ВГМУ, к.м.н., доцент.

Контакты: 210029, Республика Беларусь, г. Витебск, ул. Правды, д. 66, кв. 112., тел. раб.: +375 212 22-53-80, тел. моб.: +375 29 711-97-36, e-mail: ikarpuk@mail.ru

Поступила 14.12.2016 г.