

УДК [612.112.91:612.015.1]-044.62:[611.31:615.032+616-089]:[616.31:615.06]

УВЕЛИЧЕНИЕ УРОВНЯ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ В РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ ПОСЛЕ ОРАЛЬНО-БУККАЛЬНОЙ ПРОВОКАЦИИ С КОМПОНЕНТАМИ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ИХ НЕПЕРЕНОСИМОСТЬЮ

Карпук И. Ю., Сачек П. К., Красовский В. Н.

*Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет, Республика Беларусь*

ikarpuk@mail.ru

pollysachek@gmail.com

vadimkrasovskij3@gmail.com

***Цель работы** — анализ выброса миелопероксидазы (МПО) и лактопероксидазы (ЛПО) после орально-буккальных провокационных проб (ОПП) с растворами солей металлов, применяемых в составе зубопротезных конструкций.*

***Объекты и методы.** В исследование включены 24 пациента с клиническими проявлениями непереносимости стоматологических материалов (НСМ) — стоматита, глоссита, уртикарных высыпаний, отека Квинке и т. д.) и 20 человек контрольной группы без жалоб.*

Методика включала проведение ОПП с последующим определением пероксидазной активности ротовой жидкости (РЖ) с использованием тест-систем ELISA и окраски тетраметилбензидина. У пациентов с НСМ выявлено достоверное повышение МПО после контакта с солями металлов (средний прирост более 1,79 нг/мл), тогда как уровень ЛПО не продемонстрировал диагностической значимости. Повышение суммарной пероксидазной активности РЖ коррелировало с ростом концентрации МПО, что подтверждает ключевую роль нейтрофилов слизистой оболочки полости рта в развитии гиперчувствительности.

***Результаты** исследования указывают на перспективность применения теста с определением прироста МПО и суммарной пероксидазной активности РЖ после ОПП в качестве неинвазивного способа диагностики аллергии и гиперчувствительности к стоматологическим материалам.*

***Заключение.** Метод определения общей пероксидазной активности РЖ в тесте с тетраметилбензидином можно использовать для выявления НСМ, обусловленной гиперреактивностью нейтрофилов.*

***Ключевые слова:** ротовая жидкость; миелопероксидаза; лактопероксидаза; стоматологические материалы; аллергия; нейтрофилы.*

DIAGNOSTIC MEANING OF MYELOPEROXIDASE OF LACTOPEROXIDASE IN THE TOTAL PEROXIDASE ACTIVITY OF ORAL LIQUID

Karpuk I., Sachek P., Krasovskij V.
Vitebsk State Medical University, Belarus

The aim of the work is to analyze the release of myeloperoxidase (MPO) and lactoperoxidase (LPO) after oral buccal provocation tests (OBPT) with solutions of metal salts used in dental structures.

Objects and methods. The study included 24 patients with clinical manifestations of intolerance to dental materials (IDM) — stomatitis, glossitis, urticaria, Quincke's edema, et al. and 20 people in the control group without complaints. The technique included OBPT with subsequent determination of oral fluid (OF) peroxidase activity using ELISA test systems and tetramethylbenzidine staining. In patients with IDM, a significant increase in MPO was detected after contact with metal salts (an average increase of more than 1.79 ng/ml), while the level of LPO did not demonstrate diagnostic significance. An increase in the total peroxidase activity of RV correlated with an increase in MPO concentration, which confirms the key role of neutrophils of the oral mucosa in the development of hypersensitivity.

Results. The results of the study indicate the prospects of using a test to determine the increase in MPO and total peroxidase activity of OF after OBPT as a non-invasive method for diagnosing allergies and hypersensitivity to dental materials.

Conclusion. The method for determining the total peroxidase activity of OF in a test with tetramethylbenzidine can be used to detect IDM caused by neutrophil hyperreactivity.

Keywords: oral fluid; myeloperoxidase; lactoperoxidase; dental materials; allergy; neutrophils.

Введение. Известен способ специфической диагностики лекарственной аллергии по оценке торможения естественной эмиграции лейкоцитов *in vivo*, при котором после ополаскивания полости рта лекарством подсчитывают количество лейкоцитов в промывной жидкости и по его уменьшению судят о наличии аллергии [1].

Предложен способ диагностики различных видов аллергии в реакции выброса миелопероксидазы лейкоцитами крови под влиянием аллергена [2]. Сущность его заключается в определении прироста активности миелопероксидазы после инкубации лейкоцитов крови с аллергенами по интенсивности окраски тетраметилбензидина (ТМБ) на фотометре.

Миелопероксидаза (МПО) используется в качестве биомаркера активации нейтрофилов, выделяясь при их дегрануляции, и является наиболее распространенным провоспалительным ферментом в азурофильных гранулах нейтрофилов, что составляет около 4–6 % от их сухой массы [3]. Анализ специальной литературы, посвященной непереносимости стоматологических материалов (НСМ), показал, что МПО может быть потенциально полезным неинвазивным биомаркером оценки гиперчувствительности к КСМ [4].

Лактопероксидаза (ЛПО) обнаруживается в экзокринных выделениях из молочных желез, слюнных желез, слезных путей и секреторных желез верхних дыхательных путей. ЛПО участвует в антимикробной защите и иммунологических защитных реакциях на поверхности слизистой оболочки полости рта (СОПР).

Таким образом, пероксидазная активность ротовой жидкости (РЖ) является комплексным показателем, так как отражает суммарную активность всех пероксидаз. Исследование модуляции анализируемыми веществами прироста ЛПО через описанные выше механизмы взаимодействия и выделение МПО из нейтрофилов СОПР после контакта с компонентами стоматологических материалов (КСМ) имеет важное значение для понимания роли каждого из них в развитии НСМ.

Цель работы — оценка выброса в РЖ МПО из нейтрофилов и ЛПО из слюнных желез после орально-буккальных провокационных проб с КСМ для диагностики к ним гиперчувствительности у пациентов с НСМ.

Объекты и методы. Проведено обследование 24 пациентов, обратившихся с жалобами на НСМ в клинику кафедр общей стоматологии с курсом ортопедической стоматологии и клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК учреждения образования «Витебский государственный медицинский университет», возраст которых был 52,7 (40,0–65,0) года, из них 5 мужчин и 19 женщин.

Контрольную группу составили 20 пациентов, из них 3 мужчин и 17 женщин в возрасте 55,3 (46,0–69,0) лет, без жалоб на НСМ. Группы были сопоставимы по полу, возрасту, типу ортопедических конструкций и числу зубопротезных единиц с пациентами основной группы перед плановой заменой протезов.

Все пациенты, включенные в исследование, собственноручно заполнили добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Орально-буккальный способ диагностики неспецифической гиперчувствительности и аллергии. Способ включал следующие этапы: подготовку раствора; забор (взятие) РЖ пациента; проведение ОПП выброса пероксидазы лейкоцитами СОПР; определение пероксидазной активности РЖ; учет результатов.

Оценку реакции проводили через 10 минут на фотометре при длине волны 450 нм. Определение лактопероксидазы в пробах РЖ осуществляли согласно инструкции производителя тест-системы (LPO (Lactoperoxidase) ELISA kit (кат. номер № E-EL-H1362). Определение миелопероксидазы в пробах РЖ осуществляли согласно инструкции производителя тест-системы (MPO (Myeloperoxidase) ELISA kit (кат. номер № ORG 519).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась при помощи пакета прикладных программ STATISTICA 10.0.

Результаты. *Определение ЛПО и МПО в ротовой жидкости в ИФА моноклональными антителами.* Известно, что под влиянием КСМ лейкоциты пациентов выделяют МПО [3]. Этот метод был принят за основу. Несмотря на тот факт, что у пациентов с НСМ происходит увеличение пероксидазной активности РЖ после ОПП, до сих пор остается неисследованным вопрос степени вовлеченности каждой из них в суммарную пероксидазную активность РЖ. Уровни МПО и ЛПО в РЖ у пациентов до и после ОПП отражены в табл. 1.

Таблица 1

Сравнительная характеристика уровней МПО и ЛПО в РЖ у пациентов до и после ОПП

№	До провокации			После провокации		
	МПО (нг/мл)	ЛПО (нг/мл)	ТМБ (ОП)	МПО (нг/мл)	ЛПО (нг/мл)	ТМБ (ОП)
Основная группа (n = 24)	4,82 (3,29–6,58)	0,39 (0,18–0,49)	0,828 (0,56–1,1)	8,03 (5,71–8,58)*	0,425 (0,22–0,57)	1,65 (1,2–2,03)*
Контрольная группа (n = 20)	3,72 (1,69–4,7)	0,38 (0,12–0,63)	0,93 (0,454–1,17)	4,23 (1,94–6,19)	0,35 (0,082–0,45)	0,84 (0,49–1,39)

Примечание. * отличие до и после ТПП с $p < 0,05$.

Обращает на себя внимание факт прироста МПО ($p < 0,05$) с 4,82 (3,29–6,58) до 8,03 (5,71–8,58) в РЖ пациентов с НСМ после ОПП и отсутствие прироста ЛПО. Это позволяет заключить, что прирост пероксидазной активности РЖ после ОПП осуществляется за счет выброса МПО нейтрофилами ротовой жидкости.

Оценка диагностической значимости определения гиперчувствительности к КСМ по приросту в РЖ после ОПП. Определение ЛПО в РЖ не имело диагностического значения для выявления гиперчувствительности к КСМ ($p = 0,063$). Эти параметры отражены в табл. 2.

Оптимальный порог прироста МПО, обеспечивающий Se 85,0 % и Sp 70,8 % при $p = 0,003$, составил 1,79 нг/мл. Эти параметры указывают на диагностическую значимость данного теста (табл. 2).

Таблица 2

Сравнение диагностической значимости определения МПО, ЛПО и суммарной пероксидазной активности в диагностике гиперчувствительности к КСМ по приросту в РЖ после ОПП у пациентов

Определяемый показатель	Se	Sp	p	Оптимальный порог прироста
МПО	85,0 %	70,8 %	0,003	1,79 нг/мл
Суммарная пероксидазная активность	66,7 %	95,0 %	0,0008	0,638 (ОП при длине волны 450 нм)

Оптимальный порог прироста ОП РЖ после окраски ТМБ составил 0,638 ОП, обеспечивающий Se 66,7 % и Sp 95,0 % при длине волны 450 нм, при $p = 0,0008$. Эти параметры указывают на диагностическую значимость данного теста (табл. 2).

Анализ результатов прироста количества МПО и суммарной пероксидазной активности показал наличие сильной *корреляции* между ними до ($R_{\text{Spearman}} = 0,75$; $p < 0,05$) и после ($R_{\text{Spearman}} = 0,78$; $p < 0,05$) ОПП. Это указывает на то, что МПО определяет данный прирост.

Заключение. Повышение уровня пероксидазной активности в РЖ наблюдалось у пациентов с НСМ после орально-буккальной провокационной пробы с КСМ, но не у пациентов контрольной группы.

Орально-буккальная провокационная проба с КСМ у лиц с НСМ, после удаления ортопедических конструкций, вызывает выброс миелопероксидазы из нейтрофилов в РЖ. Увеличение суммарного уровня пероксидазной активности в РЖ, обусловлено миелопероксидазой, но не лактопероксидазой. Метод определения общей пероксидазной активности РЖ в тесте с ТМБ можно использовать для выявления НСМ, обусловленной гиперреактивностью нейтрофилов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Новиков, П. Д. Диагностика аллергии и гиперчувствительности: ведущее значение клеточных методов / П. Д. Новиков, Д. К. Новиков, Н. Д. Титова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2016. – № 4. – С. 25–39. – doi: 10.14427/jirai.2016.4.2.
2. Новиков, П. Д. Диагностика аллергии в реакции выброса миелопероксидазы под влиянием аллергена / П. Д. Новиков, Н. Д. Новикова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2002. – № 1. – С. 63–69.
3. Смирнова, О. В. Индукция сигаретным дымом выброса миелопероксидазы лейкоцитами больных хроническими обструктивными заболеваниями легких / О. В. Смирнова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2015. – № 1. – С. 64–70. – doi: 10.14427/jirai.2015.1.64.
4. Трансбуккальный способ диагностики аллергии по увеличению пероксидазной активности в слюне / Д. К. Новиков [и др.] // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2015. – № 4. – С. 35–43. – doi: 10.14427/jirai.2015.4.35.