

ИММУННЫЙ СТАТУС ПАЦИЕНТОВ С ЖАЛОБАМИ НА НЕБЛАГОПРИЯТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ДЕНТАЛЬНЫХ СПЛАВОВ

Титов П.Л., Мойсейчик П.Н.

Кафедра ортопедической стоматологии БГМУ, Беларусь, Минск

В настоящее время для изготовления большинства конструкций съемных и несъемных зубных протезов, а также ортодонтических аппаратов, широко используются дентальные сплавы на основе неблагородных металлов. Недостаточные знания о поведении в биологической среде полости рта неблагородных дентальных сплавов привело к многолетнему использованию

некоторых более или менее токсичных материалов, отрицательно воздействующих на организм [1, 2, 3, 8]. В развитии подобных локальных и системных иммуновоспалительных процессов принимают участие гуморальные и клеточные механизмы. Принято считать, что основным механизмом реализации иммунобиологического эффекта локальных реакций полости рта на компоненты дентальных сплавов являются реакции гиперчувствительности IV типа (Т-клеточные), протекающие, обычно, по типу контактных дерматитов [4, 5, 6, 7]. Недостаточная изученность механизмов патогенеза таких состояний обуславливает отсутствие как научно-обоснованных критериев и методов клинико-лабораторного обследования пациентов, так и трудности в постановке окончательного диагноза.

Целью настоящего исследования явилось изучение основных параметров клеточного звена иммунного статуса пациентов с предполагаемым негативным воздействием компонентов неблагородных сплавов в зависимости от характера клинической картины, а также результатов кожного аппликационного алерготестирования с солями металлов, входящих в состав дентальных сплавов.

Материалы и методы. *Характеристика групп обследованных пациентов.* Был обследован 31 пациент с подозрением на неблагоприятное действие дентальных сплавов, обратившихся за помощью на кафедру ортопедической стоматологии БГМУ. Из них 29 (93,54%) составили женщины и 2 (6,46%) мужчины в возрасте от 35 до 71 года (средний возраст пациентов – $51,71 \pm 1,51$ лет). Контрольную группу пациентов составили здоровые люди в количестве 21 человека, не имеющие данной патологии. Из них 19 (90,4%) составили женщины и 2 (9,6%) мужчины, в возрасте от 38 до 65 лет (средний возраст – $52,62 \pm 1,69$ лет). Всем пациентам были проведены ретроспективный анализ стоматологических и общесоматических историй болезни и оценка стоматологического статуса.

Кожное аппликационное алерготестирование. Кожное аппликационное алерготестирование выполняли в соответствии с

рекомендациями международной научной группы контактных дерматитов (International Contact Dermatitis Research Group, ICDRG). Для выполнения кожного алерготестирования применяли специальные аппликаторы – Finn Chamber on Scanpor (Epitest Ltd.Оу, Тулуза, Финляндия) на десять лунок. Для алерготестирования использовали соли металлов (n=8) входящих в состав неблагородных дентальных сплавов

Материал для исследования. Материалом для исследований являлась периферическая кровь больных (опытная группа) и здоровых (контрольная группа) людей. Кровь (3 мл) забирали из локтевой вены натощак в утреннее время в стерильную пробирку, содержащую консервант (гепарин 20 ед/мл). *Выделение мононуклеаров периферической крови.* Выделение мононуклеаров периферической крови из лейкоцитарной массы производили центрифугированием на градиенте плотности фиколл-верографина (плотность – 1,077 г/см³). *Окрашивание клеток.* Образцы мононуклеаров периферической крови (100 мкл, 1,0x10⁶/мл) инкубировались с FITC- или с PE (фико-эритрин) конъюгированными анти-человеческими моноклональными антителами (20 мкл) в течение 30 минут при 4°C, затем дважды промывались в холодном фосфатно-солевом буфере (ФСБ, pH=7,4) и фиксировались 0,5 мл 1% параформальдегида. Окрашенные и зафиксированные образцы до проведения цитометрии хранились при температуре 4°C. *Моноклональные антитела.* Экспрессию CD-антигенов определяли с помощью FITC (fluorescein isothiocyanate) конъюгированных анти-человеческих моноклональных антител производства Becton Dickinson Pharming. (США). *Проточная цитометрия.* Анализ подготовленных образцов осуществляли не позднее, чем 24 часа после окрашивания. Иммунофенотипирование мононуклеаров производили методом непрямой проточной цитофлюорометрии с помощью цитометра FACSCalibur компании Becton Dickinson (США). Для обработки получаемых данных использовался программно-аппаратный комплекс CellQuest той же компании. *Статистическая обработка данных.* Статистический анализ полученных результатов проводили, используя

компьютерные программы Microsoft Excel и StatSoft STATISTICA 6.0 с расчетом средней и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$), критерия Стьюдента (t). Критическое значение уровня значимости принималось равным 5% ($p < 0,05$).

Результаты исследований и их обсуждение.

Характеристика субъективных и объективных симптомов патологии полости рта и результаты кожного аллерготестирования. 24 из 31 пациента (77,48%) могли четко обозначить причинно-следственную связь между возникновением неблагоприятной симптоматики в полости рта и фактом зубопротезирования. Субъективные симптомы, такие как синдром горящего рта, привкус металла, сухость полости рта, извращение вкуса и др. предьявляли 17 (54,85%) пациентов. При этом у 16 пациентов (51,60%) присутствовали только субъективные симптомы. У 14 пациентов (45,16%) наблюдались следующие объективные симптомы: локализованный в области протезов гингивит - 6 (19,35%), стоматит в области протезов - 4 (12,90%), лихеноидные реакции - 2 (6,45%), глоссит (географический и складчатый язык) - 4 (12,90%), афтозный стоматит - 1 (3,22%), хейлит - 1 (3,22%). Наиболее часто по данным кожного аппликационного аллерготестирования положительную реакцию вызывали соли Ni (45,68%), Cr (41,93%) и Co (19,35%). Соли таких металлов, как Mg (0%), Zn (3,25%) и Ti (3,25%) вызывали положительную реакцию реже всего.

Характеристика параметров иммунного статуса обследованных больных с жалобами на неблагоприятное действие дентальных сплавов. Иммунный статус пациентов опытной и контрольной оценивали по относительному содержанию в периферической крови основных популяций и суб-популяций лимфоцитов - общих Т-лимфоцитов ($CD3^+$), общих В-лимфоцитов ($CD20^+$), субпопуляций Т-лимфоцитов хелперов ($CD4^+$) и супрессоров ($CD8^+$), а также их соотношения - $CD4^+/CD8^+$ (иммунорегуляторный индекс). Кроме того, исследовано количественное содержание иммунокомпетентных клеток, экспрессирующих на поверхности

мембраны активационные маркеры – CD25⁺ (альфа цепь рецептора IL-2), CD11b⁺ (интегрин, CR3-рецептор), CD45⁺ (тирозиновая фосфатаза), CD95⁺ (Fas-антиген), HLA-DR⁺ (молекулы распознавания II класса). Содержание В-лимфоцитов (CD20⁺ клеток) характеризовалось незначительным его снижением в опытных группах больных относительно здоровых лиц группы контроля, и некоторым варьированием средних значений этого показателя в опытных группах обследованных больных с наличием или отсутствием исследуемых признаков ($p > 0,05$). Более заметное снижение В-клеток отмечено в группе больных с наличием сенсибилизации к никелю ($7,4 \pm 1,19$), а также у лиц сенсибилизированных к кобальту ($7,93 \pm 2,33$). Общее содержание Т-лимфоцитов (CD3⁺ клеток) также характеризуется некоторым варьированием данных. Наиболее заметны различия в содержании Т-лимфоцитов у лиц с наличием объективных признаков поражения слизистой полости рта ($60,75 \pm 3,36$) и положительных результатов кожного тестирования ($61,18 \pm 2,25$) относительно данных контроля ($64,63 \pm 2,57$). Наиболее существенные сдвиги отмечены в содержании цитотоксической/супрессорной субпопуляции Т-лимфоцитов (CD8⁺ клеток). Основной тенденцией является снижение их содержания в периферической крови пациентов опытных групп. Достоверные различия средних значений получены для группы лиц с объективной симптоматикой ($18,42 \pm 2,39$; $p < 0,05$), положительными результатами кожного аллерготестирования ($19,29 \pm 1,86$; $p < 0,05$), а также сенсибилизацией к никелю ($p < 0,05$), хрому ($p < 0,05$), кобальту ($p < 0,05$) и одновременной сенсибилизацией к нескольким металлам ($p < 0,05$). В периферической крови обследованных больных опытных групп отмечалось несколько повышенное содержание клеток экспрессирующих молекулу CD25⁺ в сравнении с данными здоровых лиц контрольной группы, особенно у больных с наличием объективной клинической симптоматики ($6,68 \pm 1,35$), а также у лиц с положительными результатами кожного аллерготестирования ($6,11 \pm 0,91$), у лиц с сенсибилизацией к хрому ($6,55 \pm 1,43$) и одновременной сенсибилизацией к нескольким металлам ($7,23 \pm 1,7$). Мембранная тирозиновая фосфатаза (CD45⁺)

участвует в проведении внутриклеточных сигналов при активации В- и Т-лимфоцитов. Данные иммунофенотипирования клеток периферической крови обследованных больных указывают на заметную тенденцию к повышению экспрессии этого маркера у больных с наличием объективных симптомов изучаемой патологии ($64,28 \pm 5,84$) и у больных с сенсibilизацией к Ni ($60,71 \pm 4,99$) и Co ($58,44 \pm 9,6$). Fas-антиген (CD95⁺) является маркером апоптоза клеток. При повышении его экспрессии на мембране эффекторных клеток и недостаточной ко-стимуляции создаются условия для облегченного взаимодействия таких клеток с соответствующим лигандом мембраны кооперирующихся в иммунном ответе клеток и индукции их запрограммированной смерти. Полученные в ходе обследования больных данные указывают на более высокие значения этого показателя у лиц имеющих объективные патологические изменения в полости рта ($57,35 \pm 2,74$), у лиц, сенсibilизированных к Ni ($52,33 \pm 4,03$) и Co ($59,72 \pm 3,3$). Решающим моментом в активации иммунокомпетентных клеток и развитии иммунной ответной специфической реакции является связывание эпитопов антигена (аллергена) молекулами распознавания I и II классов, образование комплекса и его экспонирование на мембране антигенпрезентирующих клеток. Полученные данные свидетельствуют, что максимальной выраженности их экспрессия имеет место у больных с наличием объективных признаков заболевания в полости рта ($16,66 \pm 3,27$), у больных с положительными кожными тестами ($16,10 \pm 2,21$), сенсibilизацией к Co ($13,63 \pm 3,63$) и одновременной сенсibilизацией к нескольким металлам ($14,74 \pm 2,69$).

Выводы. Анализируя результаты исследования, следует отметить наличие в достаточной степени характерных или патогномоничных клинико-лабораторных данных позволяющих охарактеризовать эту группу пациентов. Параметры иммунного статуса обследованных характеризовались отсутствием значимых отклонений от нормы в содержании общего числа В-лимфоцитов, экспрессирующих молекулу CD20⁺, принимающую важное участие в механизмах их активации и регуляции. Со стороны Т-системы

лимфоцитов наиболее значимые изменения выявлены в относительном содержании и соотношении иммунорегуляторных субпопуляций Т-клеток – CD4⁺ и CD8⁺. Результаты настоящего исследования также неоспоримо свидетельствуют о вовлеченности маркеров активации иммунокомпетентных клеток – CD25⁺, CD45⁺, CD11b⁺ в механизмы иммунопатогенеза реакций гиперчувствительности к компонентам неблагородных дентальных сплавов. Наиболее выражены изменения со стороны экспрессии HLA-DR⁺ молекул и CD95⁺-рецептора апоптоза. Роль и клиническое значение данных параметров еще следует более детально изучить.