

ВЗАИМОСВЯЗЬ УРОВНЕЙ ДЕФЕНЗИНОВ И МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ К СТОМАТОЛОГИЧЕСКИМ МАТЕРИАЛАМ

Карпук И.Ю., Новиков Д.К.

УО «Витебский государственный медицинский университет», г. Витебск

INTERRELATION OF THE DEFENZINOV LEVELS AND METABOLIC ACTIVITY OF NEUTROPHILS AT PATIENTS WITH HYPERSENSITIVITY TO STOMATOLOGIC MATERIALS

Karpuk I.U., Novikov D. K.

EI «Vitebsk State Medical University»

Раскрытие механизмов негативного влияния протезов и протезных материалов на состояние органов и тканей рта и организм человека обуславливает необходимость изучения роли иммунной системы в возникновении непереносимости стоматологических материалов (НСМ).

Уровни дефензинов в ротовой жидкости (РЖ) могут быть маркером для оценки риска и ранней диагностики патологических состояний, связанных с воздействием различных конструкций зубных протезов на слизистую оболочку полости рта (СОПР) [1].

Выделяют два основных подсемейства, а именно – α -дефензины и β -дефензины [2]. α -Дефензины (HNPI, HNP2, HNP3, HNP4) продуцируются нейтрофилами [3], в то время как β -дефензины (hBD1, hBD2, hBD3, hBD4) продуцируются эпителиальными клетками слизистой оболочки [4, 5].

Именно поэтому углубленное изучение влияния неблагоприятного действия стоматологических материалов на уровни α - и β -дефензинов в РЖ вызывает научный интерес, а также взаимосвязь уровня нейтрофильного α -1-дефензина в РЖ и метаболической активности нейтрофилов.

Материалы и методы исследования

1. Клиническая характеристика и принципы

деления на группы пациентов с НСМ.

Проведено обследование 20 пациентов в возрасте от 44 до 68 лет, из них 2 мужчин и 18 женщин, направленные в клинику с жалобами на НСМ. У всех пациентов выявлена причинно-следственная связь между возникновением симптомов непереносимости зубопротезного материала и фактом контакта с ним, а также положительные результаты постановки аппликационных проб (АП).

Во вторую группу (контрольную) вошли 19 пациентов (2 мужчины и 17 женщин) без жалоб на НСМ.

Все пациенты, включенные в исследование, дали и собственноручно заполнили добровольное информированное согласие на участие в работе.

Сформированные группы сопоставимы по возрастной и половой категориям, количеству зубопротезных единиц, виду ортопедических конструкций и срокам пользования ими.

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 апплика-

тора лейкопластыря «Унипласт Фиксирующий» 5X500 см. Результаты постановки АП оценивались через 3, 24 и 48 часов. Использованы следующие соли NiCl_2 (3%), CrCl_3 (3%), CoCl_2 (1%).

В качестве негативного контроля использовался чистый медицинский вазелин.

Интерпретация результатов кожного тестирования проводилась согласно общепринятой методике [6].

2. Забор и подготовка РЖ для определения уровней α -1- и β -1-дефензинов до и после снятия ортопедических конструкций у пациентов опытной и контрольной групп.

Методика забора и подготовки к исследованию ротовой жидкости.

Проба №1 забиралась в момент обращения и спустя 1 месяц после снятия причинных конструкций (проба №2).

Ротовую жидкость (РЖ) получали с 9 до 11 часов дня путем сплевывания в стерильные пробирки без стимуляции утром, натощак, без предварительной чистки зубов. РЖ хранили в жидком азоте.

Образцы РЖ (1-1,5 мл) центрифугировали при 7000 об/мин в течение 20 минут. Далее пробы фильтровали через фильтры шприцевые Corning® с мембраной из полиэфирсульфона PES, 0,22 мкм, 28 мм, стерильные, в индивидуальной упаковке.

Лабораторные методы обследования.

Определение уровней Human DEF α 1 (Defensin Alpha 1, Neutrophil) и Human DEF β 1 (Defensin Beta1) осуществляли с использованием ИФА тест-систем (номера по каталогу E-EL-H0833 и E-EL-H0995 соответственно).

Постановка НСТ-теста осуществлялась в спонтанном (без антигена) и в индуцированном (с добавлением в пробу специфического антигена) вариантах. В качестве индуктора использована живая взвесь стафилококков [6].

Статистическая обработка результатов исследования проводилась при помощи STATISTICA 10.0.

Цель исследования: определить взаимосвязь уровней дефензинов и метаболической активности нейтрофилов у пациентов гиперчувствительностью к стоматологическим материалам.

Результаты исследований Определение и клиническое значение α -1- и β -1-дефензинов в РЖ пациентов с жалобами на НСМ до и через 1 месяц после снятия причинных ортопедических конструкций.

У пациентов с НСМ аллергической этиологии (n=20) показатели среднего уровня α -1-дефензина в РЖ до снятия причинных ортопедических конструкций составил 1,56 [1,19; 1,95] нг/мл, а спустя 1 месяц после снятия – 0,61 [0,44; 0,68] нг/мл. Уровень β -1-дефензинов у пациентов данной группы менялся статистически значимо: до снятия 2,9 [2,3; 3,4] нг/мл после снятия ортопедических конструкций, а после снятия – 3,8 [3,1; 4,9] нг/мл. Следовательно, устранение индуктора аллергии снижало уровень α -1-дефензина в РЖ, а уровень β -1-дефензинов – повышало. По-нашему мнению, снижение уровня α -1-дефензина в РЖ может быть связано с гиперчувствительностью нейтрофилов к компонентам дентальных сплавов, так как основным источником α -1-дефензина являются азурофильные гранулы нейтрофилов. Повышение уровня β -1-дефензина после снятия ортопедических конструкций может быть связано с улучшением регенерации эпителия, так как основным источником β -дефензинов является эпителий СОПР.

Уровень α -1-дефензина в РЖ у пациентов контрольной группы (n=19) до снятия ортопедических конструкций составил 0,57 [0,43; 0,69] нг/мл, а спустя 1 месяц после снятия – 0,58 [0,46; 0,73] нг/мл. Исходный уровень α -1-дефензина в этой группе (0,57 нг/мл) был существенно ниже ($P_{\text{Mann-Whitney}} \leq 0,05$), чем в первой группе (1,56 нг/мл), что указывает на влияние ортопедических конструкций на выброс α -1-дефензина нейтрофилами у пациентов с гиперчувствительностью. При исследовании уровня β -1-дефензина в РЖ пациентов контрольной группы были получены следующие результаты: концентрация до снятия составила 3,1 [2,9; 3,6] нг/мл, и после – 3,2 [3,2; 3,8] нг/мл не имели статистически достоверных различий ($P_{\text{Wilcoxon}} > 0,05$), однако отмечалась тенденция к росту уровня β -1-дефензина после снятия ортопедических конструкций. В ходе анализа полученных данных было установлено, что концентрация бета-1-дефензина у пациентов опытной группы была достоверно ниже, чем в контрольной группе ($p=0,036$), что также может указывать на угнетение мукозального иммунитета у пациентов с гиперчувствительностью к дентальным сплавам.

Поэтому можно судить о том, что уровень α -1-дефензина в РЖ позволяет объективно оценивать влияние зубопротезных материалов на гиперреактивность нейтрофильных лейкоцитов,

а уровень β -1-дефензина – на местную реактивность эпителия СОПР.

У больных первой группы с развитием НСМ, с более выраженной симптоматикой и выявленной сенсбилизацией к ионам металлов по АП уровень α - и β -1-дефензинов в РЖ был выше, чем у пациентов контрольной группы.

По изменению уровня α -1-дефензина в РЖ до и после снятия причинных конструкций можно сделать выводы об участии нейтрофилов в патогенезе гиперчувствительности к дентальным сплавам. У пациентов с НСМ и гиперчувствительностью отмечается снижение концентрации α -1-дефензина в РЖ через месяц после снятия протезов по сравнению с исходным уровнем.

Установлена гиперактивность клеток врожденного иммунитета, а именно нейтрофильных гранулоцитов по результатам спонтанного ($15,3 \pm 4,5\%$) и индуцированного ($55,2 \pm 3,8\%$) НСТ-теста у пациентов с НСМ и выявленной гиперчувствительностью к компонентам дентальных сплавов, что достоверно ($p < 0,05$) различалось с аналогичными показателями пациентов контрольной группы: НСТ-тест спонтанный ($12,4 \pm 1,8\%$) и индуцированный ($41,4 \pm 5,3\%$). Через месяц после снятия ортопедических конструкций у пациентов с НСМ и выявленной гиперчувствительностью к компонентам дентальных сплавов результаты спонтанного ($11,3 \pm 2,1\%$) и индуцированного ($41,4 \pm 4,2\%$) НСТ-теста достоверно ($p < 0,05$) снизились.

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 уровнем α -1-дефензина ($R=0,76$; $p < 0,05$).

Выводы

1. У пациентов с НСМ аллергической этиологии ($n=20$), доказанной аппликационными пробами с солями металлов, показатели среднего уровня α -1-дефензина в РЖ до снятия причинных ортопедических конструкций составили $1,56$ [$1,19$; $1,95$] нг/мл, а спустя 1 месяц после снятия – $0,61$ [$0,44$; $0,68$] нг/мл ($P_{\text{Wilcoxon}} \leq 0,05$). Уровень α -1-дефензина в РЖ у пациентов без непереносимости стоматологических материалов ($n=19$) до снятия ортопедических конструкций составил $0,57$ [$0,43$; $0,69$] нг/мл, а спустя 1 месяц после снятия – $0,58$ [$0,46$; $0,73$] нг/мл и не имел достоверных отличий ($P_{\text{Wilcoxon}} > 0,05$).

2. Взаимосвязь уровня α -1-дефензина и метаболической активности нейтрофилов ($R=0,76$; $p < 0,05$) отражают развитие иммунного ответа организма у пациентов с гиперчувствительностью к компонентам дентальных сплавов. Повышенная концентрация нейтрофильного α -1-дефензина в РЖ и повышение метаболической активности нейтрофилов до снятия причинных ортопедических конструкций, и снижение этих показателей после снятия указывает на возможность участия нейтрофилов в развитии гиперчувствительности организма к компонентам дентальных сплавов.

3. Уровень β -1-дефензина у пациентов с жалобами на НСМ аллергической этиологии ($n=20$) составил до снятия протезов – $2,9$ [$2,3$; $3,4$] нг/мл и возрос после снятия ортопедических конструкций до $3,8$ [$3,1$; $4,9$] нг/мл ($P_{\text{Wilcoxon}} > 0,05$). При исследовании уровней β -1-дефензина в РЖ пациентов без НСМ ($n=19$) его концентрация до снятия протезов составила $3,1$ [$2,9$; $3,6$] нг/мл, а после – $3,2$ [$3,2$; $3,8$] нг/мл и между ними не имелось статистически достоверных различий ($P_{\text{Wilcoxon}} > 0,05$). В ходе анализа полученных данных было установлено, что концентрация бета-1-дефензина у пациентов с НСМ была достоверно ниже, чем в контрольной группе ($p=0,036$), что может указывать на угнетение его продукции эпителием у пациентов с гиперчувствительностью к дентальным сплавам и снижение мукозального иммунитета.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Kucukkolbasi H, Kucukkolbasi S, Ayyildiz HF, Dursun R, Kara H. Evaluation of hbetaD-1 and hbetaD-2 levels in saliva of patients with oral mucosal diseases. West Indian Med J. 2013 Mar; 62(3):230-8.
2. Sawaki K, Mizukawa N, Yamaai T, Fukunaga J, Sugahara T. Immunohistochemical study on expression of alpha-defensin and beta-defensin-2 in human buccal epithelia with candidiasis. Oral Dis. 2002; 8:37-41
3. Ji S, Hyun J, Park E, Lee BL, Kim KK, Choi Y. Susceptibility of various oral bacteria to antimicrobial peptides and to phagocytosis by neutrophils. J Periodontal Res. 2007;42:410-419.
4. Premratanachai P, Joly S, Johnson GK, McCray PB, Jr, Jia HP, Guthmiller JM. Expression and regulation of novel human beta-defensins in gingival keratinocytes. Oral Microbiol Immunol. 2004; 19:111-117.
5. Lu Q, Jin L, Darveau RP, Samaranayake LP. Expression of human beta-defensins-1 and -2 peptides in unresolved chronic periodontitis. J Periodontal Res. 2004; 39:221-227.
6. Новиков, П. Д. Иммунодиагностика. – Витебск, 2006. – 250 с.