

КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К ДИАГНОСТИКЕ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ В СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Лазаренко Л.Л.

ГБОУ ВПО Северо-Западный Медицинский университет им И.И. Мечникова, АО «СЕВЕРО-ЗАПАДНЫЙ ЦЕНТР ДОКАЗАТЕЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ»

г. Санкт-Петербург

COMPLEX APPROACH TO THE DIAGNOSIS OF ALLERGIC REACTIONS IN DENTAL PRACTICE

Lazarenko L.

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, NORTH WESTERN CENTER OF EVIDENT MEDICINE

Saint-Petersburg, Russia

Ключевые слова: аллергия, непереносимость, местные анестетики, протезные материалы, IgE, IgG, эозинофильный катионный протеин, триптаза, пероксидаза, провокационные тесты, слюна

Введение. Диагностика гиперчувствительности к стоматологическим материалам является сложной проблемой не только в связи со значительным ростом реакций лекарственной гиперчувствительности, внедрением новых материалов и конструкций для лечения и протезирования, но и сложностью патогенетических механизмов реакций гиперчувствительности, несущих в себе различные иммунологические механизмы. Ранее нами описывались реакции, связанные с ГЗТ, IgE и IgG-зависимыми механизмами [1,2,3,4]. Однако, существуют клинические случаи, когда IgE-антитела фиксированы на лейкоцитах, а не на тучных клетках и базофилах, тогда стандартная диагностика является неприемлемой [5].

Цель: исследовать реакции гиперчувствительности к стоматологическим материалам, обусловленные образованием IgE-антител, фиксированных на лейкоцитах в полости рта.

Материалы и методы. Обследовали 54 человека в возрасте от 8 до 82 лет, обративших-

ся с жалобами на непереносимость местных анестетиков и протезных материалов. Проведенные исследования (кожные прик-тесты с оценкой через 20 минут для диагностики немедленных реакций и патч-тесты с оценкой через 48 часов для исключения механизмов гиперчувствительности замедленного типа, определение иммуноглобулинов E и G для исключения атопических и цитотоксических реакций, исследование медиаторов аллергических реакций (триптазы и эозинофильного катионного белка в слюне), позволяющих *in situ* фиксировать появление аллергических реакций немедленного (триптаза) и немедленно-замедленного типа (эозинофильный катионный белок) при наличии клинических проявлений непереносимости, не позволили их выявить. В этом случае пациентам проведено определение пероксидазы в слюне. Сущность метода заключается в том, что после воздействия аллергенами на слизистую оболочку ротовой полости определяется прирост активности пероксидазы в слюне (ротовой жидкости) с помощью субстрат-хромогенной смеси (тетраметилбензидина и перекиси водорода). Метод не имеет противопоказаний. Относительными противопоказаниями являются повреждения и заболевания ротовой

полости и гипосаливация. Стоматологические материалы и входящие в них металлы в виде солей- NiCl_2 , CrCl_3 , CoCl_2 , CuCl_2 , TiO_2 , раствор акрила, местные анестетики перед постановкой теста разводили 1:100, 1:1000 0,9% раствором натрия хлорида. Далее проводили забор исходной слюны у больного. Больной за 12 часов до тестирования не употреблял пищу, содержащую кофеин и гистаминолибераторы, не курил и не принимал противоаллергические средства. За 1 час до исследования не принимал пищу. Больной полоскал рот 100 мл 0,9% раствора натрия хлорида в течение 5 минут. Раствор выплевывал. Через 5 минут слюну в объеме 1 мл (два образца) собирали в салюветы (исходная проба №1). Далее больной полоскал рот растворами аллергенов в 100 мл в течение 3х минут, раствор выплевывал. Через 30 минут слюну вновь собирали в салюветы (проба №2). Ход реакции: в 6 лунок планшета для ИФА вносили по 100 мкл 0,9% раствора натрия хлорида (пробы дублировали). В первую лунку вносили 100 мкл слюны, собранной до провокации, перемешивали, получали разведение слюны 1:2; во вторую лунку вносили 100 мкл разведенной (1:2) слюны, перемешивали, получали разведение 1:4; в третью лунку вносили 100 мкл слюны, разведенной 1:4, получали разведение 1:8, 100 мкл отсасывали и выливали. Процедуру повторяли в той же последовательности с 4-6 лунками для слюны, собранной после провокационной пробы. Все пробы дублировали. Внесение проявляющего раствора: во все лунки планшета для ИФА к разведенной слюне добавляли по 100 мкл хромогенной смеси (0,015% перекись водорода и ТМБ, разведенные фосфат-цитратными буферами с рН 5,0). Проявляющий раствор готовили непосредственно перед внесением. Инкубировали при комнатной температуре в течение 10-25 минут до появления выраженного окрашивания синего цвета (на этом этапе реакцию оценивали визуально по интенсивности окраски от «+» до «++++» по сравнению с контролем; реакцию останавливали внесением 50 мкл 4% раствора серной кислоты, цвет раствора менялся на желтый. Учет результатов: реакцию оценивали через 10 минут на вертикальном спектрофотоме-

тре при длине волны 450 нм. Реакцию считали положительной, когда оптическая плотность пробы после провокационного теста превышала оптическую плотность пробы до провокационного теста не менее, чем в 2 раза, и она была не меньше 0,200 единиц оптической плотности. Статистическая обработка и представление данных: для статистического анализа использовали непараметрический метод (критерий Краскела-Уоллиса-KW-H с последующим апостериориальным сравнением методом Ньюмана-Кейлиса). Для определения статистической значимости в анализе таблиц сопряженности использовали критерий Р. Фишера. Различия считали достоверными при вероятности $p < 0,05$ и мощности метода (бета) 20 %.

Результаты и обсуждение.

В ходе клинической апробации мы провели испытания метода на специфичность у больных с аллергией на металлические изделия и лекарства. Оказалось, что повышение пероксидазной активности наблюдается на специфичный, но не на контрольный аллерген. Реакций у больных без аллергии не наблюдалось, но в единичных случаях у больных были положительные реакции на лекарства, которые им вводили или они принимали ранее, или на ионы металлов, входящие в металлические изделия, с которыми они контактировали на протяжении всей жизни.

Для решения поставленной задачи нами были сформированы группы с лекарственной аллергией и непереносимостью металлических изделий и сомнительными результатами аппликационных тестов, гуморальных тестов с определением иммуноглобулинов Е и G, микропровокационных тестов с определением триптазы и эозинофильного катионного белка с солями металлов, акрила и местных анестетиков. Для постановки диагноза изучали анамнез заболевания, проводили специфическое исследование *in vivo* и *In vitro*. Аллергию считали достоверно установленной при совпадении данных анамнеза с результатами специфического обследования *in vivo* и *iv vitro*, а также установлением причинно-следственной связи между возникновением симптомов аллергии и контактом с аллергеном. Выявлено,

что в 30,4% случаев при положительном анамнезе непереносимости стоматологических материалов и отрицательных данных других методов диагностики, пероксидазный тест был положительным.

Известно, что при аллергии основными эффекторными клетками являются лейкоциты- базофила (тучные клетки), гранулоциты (эозинофилы и нейтрофилы). На поверхности всех лейкоцитов имеются Fc-рецепторы, которые связывают Fc-фрагменты иммуноглобулинов различных классов (IgG, IgE, IgA), в том числе обладающие специфичностью антител. Поэтому, с одной стороны, лейкоциты с помощью этих антител могут специфично взаимодействовать с антигенами-аллергенами, с другой – концентрация антител в крови снижается и нередко из-за этого они не выявляются в сыворотке крови. Базофилы и эозинофилы имеют FcεRI-рецепторы, связывающие IgE, а нейтрофилы несут Fcγ, фиксирующие IgG и FcεRII CD23 (низкоаффинные) и лектин-галактин 3, способный связывать IgE. У больных аллергией, помимо низкоаффинного рецептора FcεRII, появляются высокоаффинные FcεRI. После связывания этих IgE-антител с аллергеном, лейкоциты, несущие их, активизируются, дегранулируют и секретируют медиаторы и ферменты: эозинофильный катионный белок, эозинофильную пероксидазу, нейтрофилы-миелопероксидазу и другие ферменты. Поэтому данные белки при аллергии присутствуют в различных биологических жидкостях (слюна, лаважная жидкость и др.). После инкубации лейкоцитов крови больных аллергией с аллергенами наблюдается прирост миелопероксидазы в надосадочной жидкости. На этой основе при диагностике аллергии разработана реакция выброса лейкоцитами крови миелопероксидазы. Секреция миелопероксидазы из лейкоцитов может запускаться неспецифически – хемоаттрактантами, ирритантами, поллютантами. В слюне имеются два вида пероксидаз – миелопероксидаза, выделяемая нейтрофилами и лактопероксидаза,

выделяемая клетками слюнных желез. Для диагностики различных видов аллергии *in vivo* нами предложен трансбуккальный провокационный тест в слюне с определением пероксидазы (5).

Выводы:

1. Слюна является предпочтительным материалом для исследования в виду неинвазивности получения материала, а также в связи с тем обстоятельством, что является местом *In situ* биодеградации стоматологических материалов и развития аллергической реакции.
2. Определение пероксидазной активности в слюне позволяет выявить антитела к рецепторам иммуноглобулина E, связанными с клеточными мембранами нейтрофилов.
3. Требуются дальнейшие исследования, которые бы позволили выявлять все возможные механизмы непереносимости стоматологических материалов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Lazarenko L.L. Detection of IgE antibodies in dental allergy. Is it true? *Scand. J. Immunol.* 2010. Vol. 71, № 6. P. 496–497.
2. Lazarenko L.L. Allergy in Dental Practice: Myth or Reality? *Journal of Clinical and Experimental Allergy.* December 2013, Materials from Br. Soc. Allergy Clin. Immunol. Annu. Meet. 8- 10 July, 2013 Telford Int. Centre, UK. Telford, 2013
3. Lazarenko L.L. Estimating of tryptase and eosinophilic cationic protein level in saline during provocative test with local anaesthetics and dental materials: principals and advantages. *EAACI-WAO World Allergy Asthma Congr.* 22- 26 June 2013. Milan, 2013. P. 475
4. Estimating of IgE and IgG – antibodies in dental allergy practice. *Mater. Drug Allergy Interes. Group/ EuroBAT Gr. Meet.* «New Dev. Lab. drug allergy diagnosis» 24- 25 Sept. 2011. Peschiera del Garda (Verona), 2011.
5. Д.К. Новиков, П.Д. Новиков, И.Ю. Карпук, Л.Л. Лазаренко, О.В. Смирнова, Н.С. Аляхнович. Трансбуккальный метод диагностики аллергии по увеличению пероксидазной активности в слюне. *Имунопатология, аллергология, инфектология*, 2015, №4, с. 35-43