

ТРИПТАЗА РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ И IgE-АНТИТЕЛА КАК МАРКЕР АЛЛЕРГИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА

Карпук И.Ю.

УО «Витебский государственный медицинский университет», г. Витебск, Республика Беларусь

Резюме. Целью исследования явилось определение концентрации триптазы тучных клеток (ТТК) в ротовой жидкости (РЖ) и IgE-антител в крови у пациентов с симптомами непереносимости стоматологических материалов (НСМ) до и после удаления причинных ортопедических конструкций.

Проведено обследование пациентов, обратившихся с жалобами на НСМ, которые были разделены на 2 группы в зависимости от временного интервала между окончанием зубопротезирования и появлением патологических симптомов: 1 группа (n = 19) – от 1 до 14 суток (возникновение симптомов отмечалось сразу после протезирования, а в последующем они нарастали); 2 группа (n = 18) – от полугода до 5 лет; 3 группа (n = 16) – контрольная – без жалоб на НСМ. Образцы ротовой жидкости (РЖ) для измерения ТТК собирались у пациентов до снятия причинных ортопедических конструкций и через месяц после снятия.

В группе пациентов с НСМ и возникновением симптомов НСМ на 1-е – 14-е сутки после протезирования ТТК в РЖ выявлялась у 16 (84,2%) пациентов до снятия причинных ортопедических конструкций, а через месяц после снятия ортопедических конструкций ТТК в РЖ не определялась ($p \leq 0,001$). У пациентов контрольной группы ТТК в РЖ не определялась до и после снятия ортопедических конструкций. Таким образом, ТТК в РЖ является диагностическим маркером аллергии на КСМ. У пациентов с возникновением симптомов НСМ на 1-е – 14-е сутки после протезирования выявлены IgE-антитела к: Ni-HSA – у 78,9% пациентов, Cr-HSA – у 68,4% пациентов, Co-HSA – у 52,6% пациентов. Уровень ТТК в РЖ сильно коррелировал с уровнем IgE-антител к Ni-HSA ($R_{\text{Spearman}} = 0,9$; $p < 0,05$) и Cr-HSA – умеренно ($R_{\text{Spearman}} = 0,7$; $p < 0,05$). Полученные данные указывают на превалирование немедленного типа реакции на КСМ. Выраженное локальное повышение уровня ТТК представляет собой важный патогенетический маркер местной инициации воспалительного процесса в полости рта. ТТК в РЖ выявлена только у 3 (16,7%) пациентов с возникновением симптомов НСМ от полугода до 5 лет (n = 18), и у них же IgE-антитела к металлам в сыворотке крови, что указывает на IgE-зависимый характер реакции у них. У остальных пациентов 2 группы, по-видимому, имеется иной тип аллергической реакции – замедленный, или гранулоцитопосредованный.

Для достоверной диагностики аллергии на компоненты стоматологических материалов целесообразно измерение ТТК в РЖ до и после снятия ортопедических конструкций. Мониторинг уровня ТТК в РЖ позволяет оценить причинность ортопедических конструкций в возникновении НСМ и необходимость замены их замены.

Ключевые слова: аллергия, IgE-антитела, триптаза, тучные клетки, ротовая жидкость, стоматологические материалы

Адрес для переписки:

Карпук Иван Юрьевич
УО «Витебский государственный медицинский университет»
210602, Республика Беларусь, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27.
Тел.: +375 (212) 22-53-80.
E-mail: ikarpuk@mail.ru

Address for correspondence:

Karpuk Ivan Yu.
Vitebsk State Medical University
210602, Republic of Belarus, Vitebsk, Frunze ave, 27.
Phone: +375 (212) 22-53-80.
E-mail: ikarpuk@mail.ru

Образец цитирования:

И.Ю. Карпук «Триптаза ротовой жидкости и IgE-антитела как маркер аллергического воспаления слизистой оболочки полости рта» // Медицинская иммунология, 2018. Т. 20, № 1. С. 99-106.
doi: 10.15789/1563-0625-2018-1-99-106
© Карпук И.Ю., 2018

For citation:

I.Yu. Karpuk “Tryptase of oral liquid and IgE-antibodies as a marker of allergic inflammation in the oral mucosa”, *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2018, Vol. 20, no. 1, pp. 99-106.
doi: 10.15789/1563-0625-2018-1-99-106
DOI: 10.15789/1563-0625-2018-1-99-106

TRYPTASE OF ORAL LIQUID AND IgE-ANTIBODIES AS A MARKER OF ALLERGIC INFLAMMATION IN THE ORAL MUCOSA

Karpuk I. Yu.

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Abstract. The goal of present study was to determine the levels of mast cell tryptase (MCT) in whole saliva, and blood serum IgE antibodies in patients with intolerance for dental prosthetic materials (IDM) before and after removal of prosthetic constructs.

We have conducted examination of the patients suffering from the IDM symptoms, who were divided into 2 groups depending on the time span between the end of prosthetic treatment and emergence of pathological symptoms: group 1 (n = 19), 1 to 14 days (symptoms emerged immediately after treatment); group 2, (n = 18), IDM symptoms occurring 6 months to 5 years later; group 3 (n = 16), controls without complaints for IDM. Whole saliva (WS) samples were collected before removal of prosthetic constructs and 1 month later. In group 1, salivary MCT was detected in 16 subjects (84.2%) before removal of prosthetic constructs, while 1 month after MCT not detectable in saliva ($p < 0.001$). Salivary MCT in control group was not detected both before and after removal of prosthetic constructions. Hence, mast cell tryptase in whole saliva could be a diagnostic marker for intolerance to dental materials. In group 1 of the patients, we detected IgE antibodies to Ni-HSA in 78.9% of patients, IgE antibodies to Cr-HSA in 68.4% of patients and IgE to Co-HSA in 52.6% of patients. Salivary MCT levels strongly correlated with IgE levels to Ni-HSA ($R_{\text{spearman}} = 0.9$; $p < 0.05$), showing moderate correlation with Cr-HSA ($R_{\text{spearman}} = 0.7$; $p < 0.05$). The data obtained suggest some prevalence of immediate type immune reaction against dental materials. Notable local increase of MCT level could be an important diagnostic marker of local inflammatory process initiation. MCT in whole saliva was found only in 3 patients (16.7%) from group 2; those had IgE antibodies to metal ions in blood serum, thus indicating IgE-dependent reaction type. Other patients from group 2 were likely to develop a different type of allergic reaction, e. g. delayed or granulocyte-mediated response.

To perform reliable diagnostics of allergy to the components of dental materials, it is reasonable to measure salivary MCT before and after removal of prosthetic constructs. Salivary MCT level monitoring allows to confirm a role of prosthetic constructs in IDM emergence, and a need for their replacement.

Keywords: allergy, IgE-antibodies, tryptase, mast cells, whole saliva, dental materials

Введение

Тучные клетки (ТК) являются иммунными клетками гемопоэтического происхождения. Они относятся к врожденной ветви иммунной системы и проявляют ряд морфологических и функциональных сходств с базофилами, включая общую клетку-предшественника, вырабатывающую триптазу [20]. Большинство ТК располагаются в местах взаимодействия между организмом и окружающей средой, например, коже, слизистых оболочках, которые являются идеальным местом для ТК, реагирующие на антигены и аллергены. ТК участвуют в иммунной регуляции, от начала поступления патогена до разрешения воспаления [15]. Однако наиболее заметна роль ТК в эффекторной фазе немедленных аллергических реакций: массивной дегрануляции с высвобождением накопленных медиаторов в ответ на мощный стимул, основой которого является агрегация иммуноглобулин-(Ig)-Е-несущих FcRI-рецепторов мультивалентным аллергеном, за которым следует вторая волна отсроченной секреции медиатора [8]. В процессе дегрануля-

ции, вызванной IgE, секреторные гранулы (СГ) тучных клеток сливаются между собой и с плазматической мембраной, выделяясь затем во внеклеточное пространство [9]. СГ несут десятки предварительно сформированных медиаторов, включая зрелую триптазу [10]. Имеется различие между индуцированной IgE дегрануляцией ТК, которая вовлекает СГ-область очень крупных гранул (диаметром до 0,5-1 мкм), и процессом экзоцитоза, на различные стимулы, вызывающим вовлечение небольших секреторных везикул, обычно 80 нм или менее [5]. Триптазы тучных клеток (ТТК) представляют собой семейство трипсиноподобных сериновых протеаз, присутствующих в больших количествах в секреторных гранулах человека [16]. Подобно химазам, другой группе сериновых протеаз ТК, триптазы являются высокоспецифичными для ТК. Обнаружение триптазы или химазы дает информацию об участии ТК, количестве активации в зависимости от клинического состояния [17].

Технически измерение уровня ТТК является высокоспецифичным, хотя сообщалось о лож-

но повышенных уровнях ТТК в сыворотке крови, содержащей гетерофильные антитела, такие как ревматоидный фактор [13]. Такие помехи являются редким явлением и оказывают незначительное влияние на измеренные уровни ТТК [14].

Ранее ТТК рассматривалась главным образом как маркер либо острых аллергических реакций, либо исходного состояния тучных клеток. Согласно недавно опубликованной глобальной унифицирующей классификации расстройств тучных клеток [18], диагностическое значение определения триптазы включает: синдром активации тучных клеток, мастоцитоз, гиперплазию тучных клеток и миеломастоцитарные состояния [18].

При диагностике аллергии для выявления антител к компонентам стоматологических материалов (КСМ), связанных с лейкоцитами пациента, обычно используется прямой тест дегрануляции базофилов [3, 12].

Несмотря на внедрение в клиническую практику широкого спектра методов диагностики аллергии на КСМ, соответствующих тем или иным звеньям ее патогенеза, важной и нерешенной проблемой остается поиск новых патогенетических маркеров, сопровождающих воспалительно-деструктивные изменения в тканях при непереносимости стоматологических материалов (НСМ).

Увеличение концентрации триптазы тучных клеток (ТТК) в жидких средах организма является диагностическим маркером функционирования тучных клеток. Впервые это было обнаружено в сыворотке пациентов с анафилактическими реакциями [7]. После местной провокационной пробы уровень ТТК возрастал в назальном секрете [11], слезной [19], бронхоальвеолярной жидкости [6].

Измерение концентраций ТТК в РЖ до и после провокационного теста у пациентов с пищевой аллергией показало возможность использования ТТК в диагностических целях [12].

Таким образом, уровни исходной ТТК в биологических жидкостях дают информацию о потенциальной реакции тучных клеток, которые увеличивают риск развития аллергии. Даже уровни ТТК в пределах обычного «нормального диапазона» оказывают влияние на риск аллергии. Поэтому измерение пиковых и базовых уровней ТТК у пациентов с НСМ является весьма актуальным.

Цель работы – определение концентрации ТТК в РЖ и IgE-антител в крови у пациентов с симптомами с НСМ до и после удаления причинных ортопедических конструкций.

Материалы и методы

Проведено обследование 37 пациентов, обратившихся с жалобами на НСМ в клинику кафедры общей стоматологии с курсом ортопедиче-

ской стоматологии клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК УО «ВГМУ» в возрасте 55,7 [41; 67] года, из них 6 мужчин и 31 женщина.

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

Пациенты с жалобами на НСМ были разделены на 2 группы в зависимости от временного интервала между окончанием зубопротезирования и появлением патологических симптомов:

1 группа (n = 19) – от 1 до 14 суток (возникновение симптомов отмечалось сразу после протезирования, а в последующем они нарастали); медиана возраста пациентов данной группы составила 53,4 [33; 69] года, из них 3 мужчин и 16 женщин;

2 группа (n = 18) – от полугода до 5 лет; медиана возраста пациентов данной группы составила 58 [51,5; 63,5] лет, из них 3 мужчин и 15 женщин;

3 группа (n = 16) – контрольная – 2 мужчин и 15 женщин в возрасте 56,5 лет [45; 67] лет без жалоб на НСМ.

Все пациенты 1 и 2 групп указывали на наличие причинно-следственной связи между возникновением симптомов непереносимости зубопротезного материала и фактом контакта с ним.

Клиническими проявлениями у пациентов 1 группы были уртикарные высыпания, локальный зуд и отечность, отеки губ и щек по типу отека Квинке с выраженным нарушением самочувствия и признаками нейровегетативной дисрегуляции. Диагноз аллергии обосновывался клиникой и специфическим аллергологическим обследованием в условиях специализированного аллергологического отделения.

При клиническом обследовании у пациентов 2 группы диагностированы следующие локальные объективные симптомы: контактный аллергический стоматит, локализованный гингивит, глоссит, хронический рецидивирующий афтозный стоматит. Наиболее частым клиническим симптомом явился стоматит, локализованный в области причинных ортопедических конструкций.

При постановке диагноза мы имели в виду следующие закономерности, помимо клинически видимых проявлений:

1. Быстрое обратное развитие клиники после снятия причинно-значимой ортопедической конструкции.

2. Реакция на малые по протяженности ортопедические конструкции (даже на 1 коронку).

В 70% случаев имелась связь с аллергией на металлические изделия.

У 40% пациентов в анамнезе имелась аллергия на лекарства. Из них: полусинтетические пе-

нициллины – 55% случаев, сульфаниламидные препараты – 15%, местные анестетики – 10% случаев, эритромицин – 10% случаев, элиниум, седуксен – 7%, нестероидные противовоспалительные препараты – 3% случаев.

Исходя из современных представлений о механизмах неблагоприятного действия стоматологических материалов на слизистую оболочку полости рта (СОПР) мы провели тщательный отбор пациентов в эту группу, исключая реакции, связанные с дисметаболизмом и функциональной недостаточностью печени, других органов желудочно-кишечного тракта и почек, имеющих иногда сходные, но по сути неаллергические проявления. По фоновым заболеваниям это были пациенты с повторными заболеваниями инфекционно-воспалительного генеза со стороны органов дыхания, с органической патологией желудочно-кишечного тракта (язва желудка, хронический гастродуоденит), 2 пациента с острой ревматической лихорадкой, 6 пациентов были клинически здоровы.

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

Непрямая реакция дегрануляции тучных клеток (нРДТК).

1. Подготовка исследуемой сыворотки

Кровь пациента, взятую путем венопункции, в количестве 5-7 мл обводили по краю стеклянной палочкой, отстаивали до образования сгустка, затем центрифугировали при 1500 об/мин, после этого отбирали сыворотку в пробирку. Сыворотку хранили при -20 °С до исследования, не допуская повторного замораживания и оттаивания.

2. Получение тучных клеток мыши

Мышь декапитировали, в брюшную полость вводили 5-8 мл подогретого до 37 °С 0,9% раствора NaCl, приготовленного на 0,15 М фосфатном буфере pH 7,2, и оставляли мышь на 20 минут, периодически массируя ее переднюю брюшную стенку. Затем послойно вскрывали брюшную полость и пинцетом выводили петлю кишечника. Тушку переворачивали в воронку так, чтобы содержимое брюшной полости стекало по петле в пробирку, содержащую 1 мл забуференного физиологического раствора с 1-2 каплями гепарина. Перитонеальные клетки отмывали путем центрифугирования при 1000 об/мин по 3-5 минут дважды, добавляя по 2 мл забуференного физиологического раствора. Полученную суспензию тучных клеток разбавляли до концентрации $2,5 \times 10^5$ мл забуференным физиологическим раствором (80-100 тучных клеток в камере Горяева).

Для определения концентрации клеток в лунку круглодонной планшеты вносили 0,02 мл суспензии тучных клеток и 0,02 мл красителя толу-

идинового синего и подсчитывали в камере Горяева окрашенные клетки.

3. Приготовление растворов аллергенов в рабочей концентрации

В качестве аллергенов использовали 0,01% растворы NiCl₂, CrCl₃, CoCl₂ разведенные физиологическим раствором.

4. Приготовление красителя толуидинового синего 0,025% спиртового раствора: 25 мл краски растворяли в 100 мл 30% этилового спирта, pH которого доводили до 3,2-3,4 добавлением ледяной уксусной кислоты, 0,03-0,04 мл на 10 мл красителя.

5. Постановку реакции осуществляли в планшетах для иммунологических исследований. В опытную лунку вносили 0,02 мл суспензии тучных клеток, добавляли равные объемы растворов аллергенов и инкубировали 15 минут при 37 °С.

Параллельно ставили два контроля: 1) тучные клетки + сыворотка больного + раствор Хенкса; 2) тучные клетки + раствор Хенкса + раствор аллергена.

В опыт и два контроля добавляли 0,02 мл красителя и проводили учет реакции в камере Горяева. Подсчитывали количество тучных клеток, учитывая только целые неповрежденные окрашенные клетки в горизонтальных рядах сетки всей камеры. Разница между контролем и опытом указывала на количество дегранулированных клеток.

Результат реакции рассчитывали по формуле:

$$X = (K - O) : K \times 100\%,$$

где:

X – процент дегранулированных тучных клеток;

K – количество клеток в контроле;

O – количество клеток в опыте.

Реакцию считали положительной, если число окрашенных клеток в опыте уменьшалось на 20% и более по сравнению с контролем.

Для качественной оценки степени дегрануляции базофилов у конкретного пациента выделяли три степени дегрануляции:

– прирост до 10% – «-» – отрицательная реакция;

– прирост 10 – 19% – «±» – сомнительная реакция;

– прирост 20 – 40% – «+» – положительная реакция;

– прирост более 40% – «++» – резкоположительная реакция.

Определение IgE-антител к металлам в сыворотке крови

Для выявления IgE-антител к ионам металлов мы использовали стандартную иммуноферментную тест-систему фирмы EUROIMMUN (Германия).

В качестве аллергенов были использованы аллергодиски с Ni-HSA, Cr-HSA, Co-HSA, Gold-HSA.

Концентрацию IgE в исследуемых образцах определяли, внося полученные значения оптиче-

ской плотности в калибровочный график. Уровни антител определяли согласно инструкции.

Определение триптазы осуществляли согласно инструкции производителя тест-системы (Human TPS (Tryptase) ELISA kit, кат. номер № E-EL-H1262).

Оценку реакции проводили на фотометре при длине волны 450 нм.

Забор РЖ пациента

Пациенты за сутки до забора РЖ не употребляли алкоголь, продукты с кофеином, никотин, за двое суток – противоаллергические лекарственные средства (антигистаминные, глюкокортикостероиды), исключали потенциально аллергенные продукты и напитки.

Пациент ополаскивал рот 50 мл 0,9% раствора хлорида натрия в течение 3 мин, после чего раствор выплевывал. Через 10 мин РЖ в объеме 1 мл собирали в две микропробирки, закрывали крышкой (исходная проба № 1).

Через 1 неделю после устранения причинных ортопедических конструкций снова забирали РЖ у пациента в объеме 1 мл в микропробирки и закрывали крышкой (проба № 2).

Образцы РЖ (1-1,5 мл) центрифугировали при 7000 об/мин в течение 20 минут.

Далее шприцем (5 мл) забирали надосадочную часть РЖ и фильтровали в стерильную пробирку через нитроцеллюлозные фильтры с диаметром пор 0,22 мкм.

Все пробы РЖ после их забора хранили в жидком азоте при -90°C .

Статистическая обработка результатов исследования проводилась при помощи STATISTICA 10.0. Количественные параметры представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала ($Q_{0,25}-Q_{0,75}$), где $Q_{0,25}$ – верхняя граница нижнего квартиля, $Q_{0,75}$ – нижняя граница верхнего квартиля. Для анализа различий в двух независимых группах по количественному признаку применялся непараметрический критерий U Манна–Уитни. Для анализа различий в двух зависимых группах по количественному признаку применялся критерий Вилкоксона. Для определения меры связи двух количественных параметров использовали анализ ранговой корреляции Spearman (непараметрический) с уровнем статистической значимости $p < 0,05$.

Результаты

Определение триптазы тучных клеток в ротовой жидкости

До снятия причинных ортопедических конструкций ТТК в РЖ была обнаружена у 16 (84,2%) из 19 пациентов 1 группы (медиана – 4,76 нг/мл, диапазон 2,57–7,32, среднее $4,64 \pm 3,11$ нг/мл), а через неделю после снятия ортопедических конструкций ТТК в РЖ была обнаружена лишь

у 2 (10,5%) пациентов в более низкой концентрации ($p \leq 0,001$) (табл. 1).

Лишь у 3 (16,6%) пациентов 2 группы ТТК была обнаружена до снятия причинных ортопедических конструкций, а через неделю после снятия – у 1 (5,5%) пациентов. Однако результаты выявления ТТК у пациентов 2 группы достоверно не отличались от пациентов 3 группы (контрольной).

Определение IgE-антител

Положительные результаты, т.е. наличие IgE-антител к Ni-HSA, в 1 группе пациентов выявлены у 15 (78,9%) пациентов в ИФА, а также у 4 (22,2%) пациентов 2 группы. При обследовании сывороток крови пациентов контрольной группы IgE-антитела к Ni-HSA были выявлены у 1 (6,3%) пациента (табл. 2).

IgE-антитела к Cr-HSA в 1 группе пациентов обнаружены у 13 (68,4%) пациентов; во 2 группе пациентов – у 2 (11,1%) пациентов. У пациентов контрольной группы обнаружены IgE-антитела к Cr-HSA методом ИФА у 1 (6,3%) пациента.

Методом ИФА IgE-антитела к Co-HSA в 1 группе пациентов выявлены у 10 (52,6%) пациентов, а также у 3 (16,7%) пациентов 2 группы. В контрольной группе пациентов IgE-антитела к Co-HSA выявлены не были.

Как видно из приведенных данных (табл. 2), IgE-антитела к металлам в сыворотке крови у пациентов 1 группы встречались чаще, чем у пациентов других групп.

Результаты выявления IgE-антител у пациентов 1 группы с симптомами НСМ, возникшими сразу после протезирования, указывает на IgE-зависимую клиническую форму повышенной чувствительности к комплексу металл–белок.

Непрямая реакция дегрануляции тучных клеток (нРДТК)

У пациентов 1 группы положительные результаты к раствору соли NiCl_2 по нРДТК выявлены у 12 (63,15%), а у пациентов 2 группы нРДТК была положительна у 3 (16,7%) пациентов; к раствору соли CrCl_3 нРДТК была положительна у 17 (85%) пациентов 1 группы и у 4 (22,2%) пациентов 2 группы; к раствору соли CoCl_2 нРДТК была положительна у 14 (73,7%) пациентов 1 группы и у 3 (16,7%) пациентов 2 группы (табл. 3).

В контрольной группе пациентов к раствору соли NiCl_2 и CoCl_2 по нРДТК выявлено по 1 (6,3%) положительному результату, а к раствору соли CoCl_2 по нРДТК сенсibilизация отмечена у 2 (12,5%) пациентов.

Корреляционный анализ между уровнем ТТК в РЖ до снятия ортопедических конструкций и результатами выявления гиперчувствительности к металлам у пациентов 1 группы выявил следующие зависимости: прямую сильную взаимосвязь с результатами ИФА и прямую умеренную корреляцию с нРДТК (табл. 4).

ТАБЛИЦА 1. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УРОВНЕЙ ТРИПТАЗЫ В РЖ У ПАЦИЕНТОВ КОНЦЕНТРАЦИЯ ТТК ДО И ЧЕРЕЗ 1 МЕСЯЦ ПОСЛЕ СНЯТИЯ ОРТОПЕДИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ, нг/мл

TABLE 1. COMPARISON OF SALIVARY TRYPTASE LEVELS IN PATIENTS. MCT LEVELS BEFORE AND 1 MONTH AFTER REMOVAL OF PROSTHETIC CONSTRUCTIONS, ng/ml

1 группа Group 1			2 группа Group 2			3 группа Group 3		
Пациент Patient No.	До Before	После After	Пациент Patient No.	До Before	После After	Пациент Patient No.	До Before	После After
1	0	0	1	0	0	1	0	0
2	8,91	1,45	2	2,34	0	2		0
3	1,42	0	3	0	0	3	0	0
4	5,65	0	4	0	0	4	0	0
5	2,57	0	5	0	0	5	0	0
6	3,16	0	6	0	0	6	0	0
7	7,32	0	7	0	0	7		
8	0	0	8	0	0	8	0	0
9	6,43	0	9	0	0	9	0	0
10	5,52	0	10	0	0	10	1,5	0
11	2,85	0	11	0	0	11	0	0
12	8,12	2,61	12	3,47	1,41	12	0	0
13	4,33	0	13	0	0	13	0	0
14	10,58	0	14	0	0	14	0	0
15	3,18	0	15	0	0	15	0	0
16	5,92	0	16	1,45	0	16	0	0
17	0	0	17	0	0	–	–	–
18	7,47	0	18	0	0	–	–	–
19	4,76	0	–	–	–	–	–	–

ТАБЛИЦА 2. ЧАСТОТА НАЛИЧИЯ IgE-АНТИТЕЛ К МЕТАЛЛАМ У ПАЦИЕНТОВ

TABLE 2. FREQUENCY OF METAL-INDUCED IgE DETECTION IN PATIENTS

Группы пациентов Patient groups	Ni-HSA n (%)	Cr-HSA n (%)	Co-HSA n (%)
1 группа Group 1 (n = 19)	15 (78,9%)**	13 (68,4%)**	10 (52,6%)**
2 группа Group 2 (n = 18)	4 (22,2%)*	2 (11,1%)	3 (16,7%)*
3 группа Group 3 (n = 16)	1 (6,3%)	1 (6,3%)	0

Примечание. * – отличие между группами с $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; + – отличие между 1 группой с $p < 0,05$ по сравнению со 2 группой.

Note. *, difference between groups with $p < 0.05$ compared to the control group; +, difference between group 1 with $p < 0.05$ compared to group 2.

У пациентов 2 и 3 групп корреляция ТТК в РЖ с нРДТК и ИФА не была установлена.

Обсуждение

Результаты определения уровня ТТК в РЖ у пациентов 1 группы указывают на наличие выброса ТТК под воздействием причинных ор-

топедических конструкций. Повышение концентрации ТТК в РЖ пациентов 1 группы было ассоциировано с возникновением симптомов НСМ, в виде аллергических реакций, сразу после протезирования.

Рост уровня ТТК в РЖ был выявлен в подавляющем большинстве проб (84,2%) пациентов 1 группы, что соотносилось с симптомами в поло-

ТАБЛИЦА 3. КОЛИЧЕСТВО ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ИМЦДА У ПАЦИЕНТОВ

TABLE 3. NUMBER OF POSITIVE iMCDA RESULTS IN PATIENTS

Группы пациентов Patient groups	NiCl ₂ n(%)	CrCl ₃ n (%)	CoCl ₂ n (%)
1 группа Group 1 (n = 19)	12 (63,2%) *+	10 (52,6%)*+	14 (73,7%)*+
2 группа Group 2 (n = 18)	3 (16,7%)	4 (22,2%)	3 (16,7%)
3 группа Group 3 (n = 16)	1 (6,3%)	2 (12,5%)	1 (6,3%)

Примечание. * – отличие между группами с $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; + – отличие между 1 группой с $p < 0,05$ по сравнению со 2 группой.

Note. *, difference between groups with $p < 0.05$ compared to the control group; +, difference between group 1 with $p < 0.05$ compared to group 2.

ТАБЛИЦА 4. КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ МЕЖДУ УРОВНЕМ ТТК В РЖ ДО СНЯТИЯ ОРТОПЕДИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ И РЕЗУЛЬТАТАМИ ВЫЯВЛЕНИЯ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К МЕТАЛЛАМ У ПАЦИЕНТОВ 1 ГРУППЫ

TABLE 4. CORRELATION QUOTIENTS BETWEEN THE SALIVARY MCT LEVELS BEFORE REMOVAL OF PROSTHETIC CONSTRUCTS AND RESULTS OF HYPERSENSITIVITY DETECTIONS TO METALS IN GROUP 1 PATIENTS

Ионы металлов Metal ions	ИФА (R _{Spearman}) ELISA (R _{Spearman})	ИМЦДА (R _{Spearman}) iMCDA (R _{Spearman})
Ni ²⁺	0,9*	0,61
Cr ³⁺	0,83*	0,45
Co ²⁺	0,71	0,59

Примечание. * – $p < 0,05$.

Note. *, $p < 0.05$.

сти рта после контакта с ортопедическими конструкциями и временем их возникновения. Отсутствие ТТК в РЖ как у 3 пациентов 1 группы, до снятия причинных ортопедических конструкций, так и во 2 группе можно объяснить другими механизмами аллергии или наличием неспецифической гиперчувствительности [18].

Отсутствие ТТК в РЖ не может исключить аллергию на КСМ. С другой стороны, выявление ТТК в РЖ в комбинации с клиническими симптомами должно, по сравнению только лишь с наличием или отсутствием клинических симптомов, значительно упрощать постановку диагноза «аллергия или гиперчувствительность на стоматологические материалы».

Сравнительно высокий процент ТТК у пациентов 1 группы с НСМ в совокупности с выявлением IgE-антител к металлам в ИФА и ИМЦДА указывает на наличие у них немедленной аллергии на компонентам стоматологических материалов (КСМ).

Измерение алергениндуцированной ТТК в РЖ может быть перспективным новым диагностическим методом для подтверждения причинности алергенности стоматологических конструкций в развитии симптомов НСМ у пациентов.

Заключение

В группе пациентов с НСМ и возникновением симптомов НСМ на 1-е – 14-е сутки после протезирования ТТК в РЖ выявлялась у 16 (84,2%) пациентов до снятия причинных ортопедических конструкций, а через месяц после снятия ортопедических конструкций ТТК в РЖ не определялась ($p \leq 0,001$). У пациентов контрольной группы ТТК в РЖ не определялась до и после снятия ортопедических конструкций. Таким образом, ТТК в РЖ является диагностическим маркером аллергии на КСМ.

У пациентов с возникновением симптомов НСМ на 1-е – 14-е сутки после протезирования выявлены IgE-антитела к: Ni-HSA – у 78,9% пациентов, Cr-HSA – у 68,4% пациентов, Co-HSA – у 52,6% пациентов. Уровень ТТК в РЖ сильно коррелировал с уровнем IgE-антител к Ni-HSA ($R_{\text{Spearman}} = 0,9$; $p < 0,05$) и Cr-HSA – умеренно ($R_{\text{Spearman}} = 0,7$; $p < 0,05$). Полученные данные указывают на превалирование немедленного типа реакции на КСМ. Выраженное локальное повышение уровня ТТК представляет собой важный патогенетический маркер местной инициации воспалительного процесса в полости рта. Мониторинг уровня ТТК в РЖ позволяет оценить причинность ортопедических конструкций

в возникновении НСМ и необходимость замены их замены.

ТТК в РЖ выявлена только у 3 (16,7%) пациентов с возникновением симптомов НСМ от полугода до 5 лет (n = 18), и у них же IgE-антитела к металлам в сыворотке крови, что ука-

зывает на IgE-зависимый характер реакции у них. У остальных пациентов 2 группы, по-видимому, имеется иной тип аллергической реакции – замедленный, или гранулоцитопосредованный [4]. Такие реакции мы ранее наблюдали на компоненты протезных материалов [1].

Список литературы / References

1. Карпук Н.А., Карпук И.Ю. Диагностика аллергии на металлические изделия в реакции аллергически индуцированного повреждения лейкоцитов // Медицинские новости, 2012. № 6. С. 75-76. [Karpuk N.A., Karpuk I.Yu. Diagnosis of allergy to metal products in the reaction of allergenic-induced leukocyte damage. *Meditsinskie novosti = Medical News*, 2012, no. 6, pp. 75-76. (In Russ.)]
2. Новиков Д.К., Новиков П.Д. Клиническая иммунопатология: руководство. М.: Медицинская литература, 2009. 464 с. [Novikov D.K., Novikov P.D. *Clinical immunopathology: a guide*. Moscow: Medical Literature, 2009. 464 p.]
3. Новиков Д.К., Сергеев Ю.В., Новиков П.Д. Лекарственная аллергия. М.: Национальная академия микологии, 2001. 313 с. [Novikov D.K., Sergeev Yu.V., Novikov P.D. *Medicinal allergy*. Moscow: National Academy of Mycology, 2001. 313 p. (In Russ.)]
4. Новиков П.Д., Новиков Д.К., Титова Н.Д. Диагностика аллергии и гиперчувствительности: ведущее значение клеточных методов // Иммунопатология, аллергология, инфектология, 2016. № 4. С. 25-39. [Novikov P.D., Novikov D.K., Titova N.D. Diagnosis of allergy and hypersensitivity: the leading importance of cellular methods. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya = Immunopathology, Allergology, Infectology*, 2016, no. 4, pp. 25-39. (In Russ.)]
5. Blank U. The mechanisms of exocytosis in mast cells. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2011, Vol. 716, pp. 107-122.
6. Chen S., Mu D., Cui M., Ren C., Zhang S., Guo L., Gao W. Dynamic changes and clinical significance of serum tryptase levels in STEMI patients treated with primary PCI. *Biomarkers*, 2014, Vol. 19, no. 7, pp. 620-624.
7. Jogie-Brahim S., Min H.K., Fukuoka Y., Xia H.Z., Schwartz L.B. Expression of alpha-tryptase and beta-tryptase by human basophils. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2004, Vol. 113, no. 6, pp. 1086-1092.
8. Kumar V., Sharma A. Mast cells: emerging sentinel innate immune cells with diverse role in immunity. *Mol. Immunol.*, 2010, Vol. 48, no. 1-3, pp. 14-25.
9. Lorentz A., Baumann A., Vitte J., Blank U. The SNARE machinery in mast cell secretion. *Front. Immunol.*, 2012, Vol. 3, p. 143.
10. Lundequist A., Pejler G. Biological implications of preformed mast cell mediators. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2011, Vol. 68, no. 6, pp. 965-975.
11. Niedoszytko M., Chełmińska M., Chełmiński K., Knopińska-Posłuszny W., Gruchała-Niedoszytko M., Jassem E. Late-phase allergic reaction in nasal provocation with fungal allergens. *Allergy Asthma Proc.*, 2008, Vol. 29, no. 1, pp. 35-39.
12. Ruëff F., Friedl T., Arnold A., Kramer M., Przybilla B. Release of mast cell tryptase into saliva: a tool to diagnose food allergy by a mucosal challenge test? *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2011, Vol. 155, no. 3, pp. 282-288.
13. Sargur R., Cowley D., Murng S., Wild G., Green K., Shrimpton A., Egner W. Raised tryptase without anaphylaxis or mastocytosis: heterophilic antibody interference in the serum tryptase assay. *Clin. Exp. Immunol.*, 2011, Vol. 163, no. 339-345.
14. Schliemann S., Seyfarth F., Hipler U.C., Elsner P. Impact of age and heterophilic interference on basal serum tryptase, a risk indication for anaphylaxis, in 1092 dermatology patients. *Acta Derm. Venereol.*, 2012, Vol. 92, no. 5, pp. 484-489.
15. St. John A.L., Abraham S.N. Innate immunity and its regulation by mast cells. *J. Immunol.*, 2013, Vol. 190, no. 9, pp. 4458-4463.
16. Trivedi N.N., Caughey G.G. Mast cell peptidases. Chameleons of innate immunity and host defense. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2010, Vol. 42, no. 3, pp. 257-267.
17. Valent P. Mast cell activation syndromes: definition and classification. *Allergy*, 2013, Vol. 68, no. 4, pp. 417-424.
18. Valent P., Akin C., Arock M., Brockow K., Butterfield J.H., Carter M.C., Castells M., Escribano L., Hartmann K., Lieberman P., Nedoszytko B., Orfao A., Schwartz L.B., Sotlar K., Sperr W.R., Triggiani M., Valenta R., Horny H.P., Metcalfe D.D. Definitions, criteria and global classifications of mast cell disorders with special reference to mast cell activation syndromes: a consensus proposal. *Int. Arch. Allergy Clin. Immunol.*, 2012, Vol. 157, no. 3, pp. 215-225.
19. Vitte J. Human mast cell tryptase in biology and medicine. *Mol. Immunol.*, 2015, Vol. 63, no. 1, pp. 18-24.
20. Voehringer D. Protective and pathological roles of mast cells and basophils. *Nat. Rev. Immunol.*, 2013, Vol. 13, pp. 362-375.

Автор:

Карпук И.Ю. – к.м.н., докторант кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК УО «Витебский государственный медицинский университет», г. Витебск, Республика Беларусь

Author:

Karpuk I.Yu., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Clinical Immunology and Allergology, Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Поступила 04.05.2017

Отправлена на доработку 21.06.2017

Принята к печати 13.07.2017

Received 04.05.2017

Revision received 21.06.2017

Accepted 13.07.2017