

ОЦЕНКА ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ЛИЦ, ПОЛЬЗУЮЩИХСЯ МЕТАЛЛИЧЕСКИМИ ИЛИ КОМБИНИРОВАННЫМИ НЕСЪЕМНЫМИ ЗУБНЫМИ ПРОТЕЗАМИ

Доц. Д. В. Гризодуб

Харьковская медицинская академия последипломного образования

Рассмотрены современные аспекты проявления непереносимости зубных протезов из различных сплавов металлов. Проведено исследование гуморального иммунитета у больных с жалобами на непереносимость зубных протезов. Больные были разделены в зависимости от химического состава сплава, применяемого для протезирования: кобальто-хромового сплава, никель-хромового сплава, сплавов Wirobond, Wirocer, Remanium и золотосодержащего сплава.

Наиболее выраженную отрицательную динамику показателей гуморального иммунитета наблюдали у больных с кобальто-хромовыми сплавами: повышению содержания Ig E увеличение высвобождения гистамина в ответ на материал протеза. Наиболее благоприятными для иммунной системы организма были определены благородные сплавы и сплав Remanium.

Научно обоснован тот момент, что при протезировании пациентов, которые имели в анамнезе клинические проявления аллергических реакций, материалами, имеющими большую частоту непереносимости, необходимо контролировать показатели иммунного статуса в динамике.

Ключевые слова: непереносимость зубных протезов, гуморальный иммунитет, гистамин, кобальто-хромовый сплав, благородные сплавы и сплав Remanium.

ОЦІНКА ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ В ОСІБ, ЯКІ КОРИСТУЮТЬСЯ МЕТАЛЕВИМИ АБО КОМБІНОВАНИМИ НЕЗНІМНИМИ ЗУБНИМИ ПРОТЕЗАМИ

Доц. Д. В. Гризодуб

Розглянуто сучасні аспекти прояву непереносимості зубних протезів із різних сплавів металів. Проведено дослідження складових гуморального імунітету у хворих зі скаргами на непереносимість зубних протезів. Хворих було розподілено залежно від хімічного складу сплаву, застосованого для протезування: кобальто-хромового сплаву, нікель-хромового сплаву, сплавів Wirobond, Wirocer, Remanium і золотовмісного сплаву.

Найбільш виражену негативну динаміку показників гуморального імунітету спостерігали у хворих із кобальто-хромовими сплавами: підвищенню вмісту Ig E збільшення вивільнення гістаміну у відповідь на матеріал протеза. Найбільш сприятливими для імунної системи організму були визначені дорожціні сплави і сплав Remanium.

Науково обгрунтовано той момент, що під час протезування пацієнтів, які мали в анамнезі клінічні виявлення алергічної реакції, матеріалами, що мають велику частоту непереносимості, необхідно контролювати показники імунного статусу в динаміці.

Ключові слова: непереносимість зубних протезів, гуморальний імунітет, гістамін, кобальто-хромовий сплав, благородні сплави і сплав Remanium.

HUMORAL IMMUNITY EVALUATION IN PERSONS USING METALLIC OR COMBINED FIXED DENTURES

D. V. Grizodub

The article describes the modern aspects of intolerance to the alloys used for the manufacture of fixed prostheses. Humoral immunity has been studied in patients with appeals from dental prosthesis. Depending on the chemical composition of the alloy used for the prosthesis, patients were divided into groups by following composition: cobalt-chromium alloy, nickel-chromium alloy, alloy Wirobond (Co-Cr), alloy Wirocer, alloy Remanium, gold-bearing alloy.

The most pronounced negative dynamics of humoral immunity was observed in patients with cobalt-chromium alloys; elevated Ig E increase in the release of histamine in response to prosthesis material. Most favorable to the immune system have been identified noble alloys and Remanium.

Dental prosthetics should be applied to that patients who had clinical presentations of allergic response to materials with high intolerance frequency in anamnesis and it is necessary in this connection to control indices of immune state that is scientifically grounded.

Keywords: intolerance of dentures, humoral immunity, histamine, cobalt-chromium alloys, noble alloys and Remanium.

Бурное развитие ортопедической стоматологии, зуботехнического материаловедения за последние десятилетия привело к появлению реакции организма на металлические части зубных протезов [4]. Эти реакции могут проявляться в виде аллергии, реакций, опосредованных высвобождением гистамина из базофилов и тучных клеток под воздействием Ig E или клеточных реакций (реакции замедленного типа) [1, 3].

Гистамин образуется в результате декарбоксилации гистидина и распространен в тканях млекопитающих [6]. Высвобождение гистамина из базофилов и тучных клеток вызывает иммунологические и неиммунологические стимулы: аллергены, цитокины, компоненты комплемента C3a и C5a, гиперосмос, физические факторы (вибрация, холод, жара), химические вещества и др. Выделившийся гистамин до его метаболизма и выделения с мочой быстро диффундирует в окружающие ткани, вызывая их повреждение, а также влияет на разные системы организма, включая иммунную, осуществляя модуляцию функциональной активности ее разных компонентов [2].

Поскольку гистамин — один из основных индукторов воспаления, в том числе и в стоматологической практике, предварительное исследование стоматологических материалов на их способность высвобождать гистамин из базофилов крови может дать ценную информацию об их биосовместимости при проведении лечебно-профилактических мероприятий [7].

Присутствие в полости рта инородных материалов может видоизменять активность тех или иных звеньев иммунной системы, причем не только местно, но и системно, т. к. извращенные реакции на инородные тела, к которым относятся зубные протезы, могут быть как местными, так и общими. Материалы, помещенные в полость рта, способны выделяться в окружающую среду в чистом виде или в виде дериватов из места их аппликации в процессе лечения или длительного нахождения, что может вызвать нежелательные побочные явления вследствие их прямого токсического действия на клетки слизистой оболочки рта или десны, включая тучные клетки и базофилы. Это может привести к неспецифическому высвобождению различных медиаторов, в частности гистамина, являющегося одним из основных медиаторов аллергического воспаления, который оказывает воздействие на иммунную систему посредством модуляции отдельных ее звеньев, усиливая или ослабляя иммунный ответ на различные инфекционные и неинфекционные антигены (аллергены).

Цель работы — исследование характера переносимости сплавов, используемых для изготовления несъемных протезов, возможностей прогнозирования отрицательных реакций на основе изучения

состояния иммунной системы потенциального протезоносителя и особенностей его взаимодействия с потенциальными материалами будущего протеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В зависимости от химического состава сплава, применяемого для протезирования, больные были разделены на 6 групп по 30 человек. В 1 группу вошли больные с протезами из кобальто-хромового сплава (КХС), во 2 — из никель-хромового сплава (НХС), в 3 — из сплава Wirobond (Co-Cr), в 4 — из сплава Wirocer, в 5 — из сплава Remanium, в 6 — из золото-содержащего сплава. Группой сравнения служили пациенты с интактным зубным рядом. У пациентов натошак получали венозную кровь и готовили сыворотку стандартным методом.

Состояние гуморального иммунитета оценивали по содержанию Ig A, M и G методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини: растопленный и нагретый до 56°С 3% агар в объеме 4 мл смешивали с равным объемом антисыворотки (моноспецифические сыворотки к иммуноглобулинам A, M и G), разведенной веронал-мединаловым буфером 0,1 M до 1/2 рабочего разведения. Эту смесь в объеме 8 мл заливали в пространство между двумя пластинами. Пластины с залитой смесью оставляли на 10 мин при комнатной температуре. После застывания смеси агара с антисывороткой снимали зажимы, рамку и пластину, смазанную гидрофобной жидкостью. На каждой пластине пробойником делали 35 лунок диаметром 2 мм на расстоянии 15 мм друг от друга. Готовили разведения стандарта, меняя пипетки после каждого разведения. Для исследования сывороточных иммуноглобулинов использовали стандартную сыворотку, неразведенную и разведенную до 1:2–1:8.

В лунки микрошприцем вносили по 2 мкл каждого разведения и испытуемых препаратов. Пластины помещали во влажную камеру и инкубировали сутки при 4°С. Через 24 ч (ровно!) пластины погружали в забуференный изотонический раствор натрия хлорида и отмывали от несвязавшихся белков в течение 2 сут. с трехкратной сменой буфера. Затем пластины сушили под фильтровальной бумагой и окрашивали амидо-черным [5].

Содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) определяли путем преципитации из сыворотки в специальном буфере, содержащем 10% полиэтиленгликоль (ПЭГ) с молекулярной массой 3350. К сыворотке крови добавляли равный объем буфера, содержащего 10% ПЭГ, инкубировали 10 мин при комнатной температуре. Агрегированные ЦИК отделяли центрифугированием, растворяли в буфере без ПЭГ и определяли содержание общего уровня ЦИК спектрофотометрически при длине волны 280 и 260 нм [8].

Гистамин определяли стекловолоконным методом (СВ-метод) как высвободившегося из базофилов цельной крови, основанный на специфическом связывании его пористым стекловолоконным матриксом. СВ-метод имеет ряд преимуществ перед другими методами определения гистамина: быстрота проведения анализа, малый объем крови.

Сначала инкубировали 30 мг мелкой стружки металла с 300 кмл крови в течение 1 ч при температуре 37° С. Этот вариант использовался для сплавов металлов, которые в виде мелкой стружки инкубировали с кровью. Затем взвесь центрифугировали при 1250 об./мин в течение 15 мин на центрифуге Eppendorf 5415С. Полученные «супернатанты» до анализа хранили при 4°С не более 2 дней. Определение высвободившегося гистамина после инкубации цельной крови с полученными «супернатантами» проводили с помощью СВ-метода.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ параметров гуморального иммунитета показал, что все группы сопоставимы по содержанию основных иммуноглобулинов. Достоверной разницы в скорости высвобождения гистамина и содержании циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) не выявлено (табл. 1).

Анализ полученных результатов показывает, что наименьшим отрицательным влиянием на показатели гуморального иммунитета обладают материалы, использованные в 5 и 6 группах (табл. 2). В 6 группе не наблюдалось динамики изменений показателей гуморального иммунитета. Они же не оказывают влияния на высвобождение гистамина и чувствительность замедленного типа как в кожных пробах, так и в РТМЛ с соответствующим веществом. В 3 и 2 группах наблюдается более выраженная дисрегуляция гуморального иммунного ответа, повышение содержания Ig E, ЦИК, повышенное высвобождение гистамина, достигающее во 2 группе уровня достоверности.

Наиболее выраженная отрицательная динамика показателей гуморального иммунитета наблюдалась в 1 группе: повышение содержания Ig E и ЦИК, увеличение высвобождения гистамина в ответ на материал протеза, что является проявлением дисбаланса в функционировании иммунной системы, проявляющегося в активации гуморального звена иммунитета с увеличением синтеза медиаторов непереносимости.

Показатели, полученные в 4 группе при детальном анализе, показали, что применение сплава Wiroseg не вызывает активного высвобождения гистамина, а показатели ЦИК и содержание

Таблица 1

Исходное состояние гуморального иммунитета у обследованных больных, протезированных различными видами протезов

№	Показатель	Группы						
		Контроль	1	2	3	4	5	6
1	Ig G, г/л	2,40±0,02	1,59±0,04	1,64±0,07	1,65±0,06	1,63±0,09	1,66±0,08	1,62±0,06
	p (к контролю)	—	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
2	Ig M, г/л	1,25±0,06	1,01±0,09	0,99±0,08	1,01±0,09	1,00±0,07	0,98±0,08	0,99±0,09
	p (к контролю)	—	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
3	Ig G, г/л	12,7±1,7	9,9±0,9	10,1±0,6	10,2±0,8	9,9±0,5	10,0±0,7	10,1±0,9
	p (к контролю)	—	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
4	Ig E, МЕ/мл	92,4±9,6	79,0±7,6	87,0±7,9	85,0±8,5	84,0±8,1	89±7,8	85,0±8,8
	p (к контролю)	—	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
5	Высвобождение гистамина на материал протеза, нг/мл	—	2,1±0,1	2,3±0,3	3,3±0,2	3,4±0,3	2,9±0,2	2,1±0,1
6	ЦИК, у. е.	86,4±11,2	116,0±5,6	114,0±5,3	117,0±5,1	118,0±5,4	115,0±5,5	114,0±5,6
	p (к контролю)	—	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

Таблица 2

Динамика показателей гуморального иммунитета через 1 мес. после протезирования

№	Показатель	Группы					
		1	2	3	4	5	6
1	Ig E, МЕ/мл	79±7,6 p<0,05	87±7,9 p<0,05	85±8,5 p>0,05	84±8,1 p>0,05	89±7,8 p>0,05	85±8,8 p>0,05
2	Высвобождение гистамина на материал протеза, нг/мл	2,1±0,1 p<0,05	2,3±0,3 p<0,05	3,3±0,2 p>0,05	3,4±0,3 p>0,05	2,9±0,2 p>0,05	2,1±0,1 p>0,05
3	ЦИК, у. е.	116±5,6 p<0,05	114±5,3 p<0,05	117±5,1 p>0,05	118±5,4 p>0,05	115±5,5 p>0,05	114±5,6 p>0,05

Примечание: p — достоверность отличий по сравнению с группой до протезирования

основных иммуноглобулинов достаточно благоприятны для протезирования.

Отсюда, для диагностики непереносимости металлов зубных протезов следует уделять внимание сбору анамнеза, сопоставлению клинических симптомов и данных лабораторных исследований. При этом следует помнить, что такие же клинические проявления и жалобы могут предъявлять и пациенты с хроническими заболеваниями ЖКТ, психоневрологическими заболеваниями. Еще более затруднена диагностика, если непереносимость металлов сочетается с этими заболеваниями или вызывает их обострение.

ВЫВОДЫ

В сомнительных с точки зрения анамнеза случаях и в группах риска необходимо применять специфические методы *in vitro* — анализ крови с определением содержания форменных элементов,

особенно эозинофилов, базофилов и лимфоцитов, определение Т-лимфоцитов и их субпопуляций, В-лимфоцитов, Ig всех классов, ЦИК, выявлять клеточноопосредованные реакции непереносимости (РТМЛ) и проводить с используемыми материалами тест либерации гистамина (псевдоаллергия). При выявлении хотя бы одного из вариантов непереносимости необходимо ставить вопрос об изменении материала, используемого для протезирования. У пациентов, которые имели в анамнезе клинически проявленные аллергические реакции, при протезировании материалами, имеющими большую частоту непереносимости, необходимо контролировать показатели иммунного статуса в динамике.

Исходя из полученных результатов наиболее благоприятными и *перспективными* с точки зрения иммунной безопасности для организма являются материалы, использованные в 5 и 6 группах, т. е. благородные сплавы и сплав Remanium.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Аллергия к металлам, используемым для зубного протезирования и методы ее диагностики / А. И. Воложин, А. А. Бабахин, Л. В. Дубова [и др.] // *Стоматология*. — 2004. — № 5. — С. 57–61.
2. *Зайков С. В.* Современные подходы к лабораторной диагностике аллергических заболеваний / С. В. Зайков, А. Е. Богомолов // *Новости медицины и фармации*. — 2013. — № 14(465). — С. 125–127.
3. *Кириллова Л. А.* Диагностика, профилактика и лечение гальваноза у пациентов с несъемными металлическими зубными протезами: автореф. дис. ... канд. мед. наук. 14.00.21 / Л. А. Кириллова. — Смоленская гос. мед. академия. — Смоленск, 2004. — 16 с.
4. *Клиническая патофизиология для стоматолога* / Под ред. проф. В. Т. Долгих. — М.: Мед. книга; Нижний Новгород: НГМА, 2000. — 200 с.
5. *Мартынов А. И.* Оценка иммунного статуса человека в условиях воздействия химического и биологического факторов / А. И. Мартынов, Б. В. Пинегин, А. А. Ярилин. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. — 350 с.
6. *Bilhan H.* Titanium hypersensitivity. A hidden threat for dental implant patients? / H. Bilhan, C. Bural, O. Geckili // *N. Y. State Dent J.* — 2013. — Jun–Jul. — № 79(4). — P. 38–43.
7. *Chaturvedi T.* Allergy related to dental implant and its clinical significance / T. Chaturvedi // *Clin. Cosmet Investig Dent.* — 2013. — Aug 19. — Vol. 5. — P. 57–61.
8. *Tietz Clinical guide to laboratory tests.* Wu A.N.B. — USA, W. B. Saunders Company. — 2006. — 1798 p.