

## ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЕЙ ДЕФЕНЗИНОВ В РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ У ПАЦИЕНТОВ ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ И НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К СТОМАТОЛОГИЧЕСКИМ МАТЕРИАЛАМ

© 2017 г. И.Ю. Карпук

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

Поступила: 28.11.2016. Принята: 25.01.2017

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния дентальных сплавов на уровни  $\alpha$ -1- и  $\beta$ -1-дефензинов в ротовой жидкости у пациентов с жалобами на непереносимость зубопротезных материалов и с выявленной сенсibilизацией к солям металлов. Исследуемую группу составили 20 пациентов с непереносимостью зубопротезных материалов и положительными результатами постановки аппликационных проб и реакции алергениндуцированного повреждения лейкоцитов. Пациентам проводили определение уровня дефензинов из лейкоцитов ротовой жидкости после трансбуккальных провокационных проб с 0,001% растворами солей металлов:  $\text{NiCl}_2$ ,  $\text{CrCl}_3$ ,  $\text{CoCl}_2$ . Установлено, что у пациентов с непереносимостью зубопротезных материалов алергической этиологии ( $n = 20$ ), доказанной аппликационными пробами с солями металлов, уровни  $\alpha$ -1- и  $\beta$ -1-дефензинов в ротовой жидкости изменяются через 1 месяц после снятия причинных ортопедических конструкций. Уровень  $\alpha$ -1-дефензина в ротовой жидкости 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 ( $P_{\text{Wilcoxon}} \leq 0,05$ ). Уровень  $\beta$ -1-дефензина до снятия протезов составил 2,9 [2,3; 3,4] нг/мл, а после снятия протезов возрос до 3,8 [3,1; 4,9] нг/мл. У пациентов контрольной группы уровни  $\alpha$ -1- и  $\beta$ -1-дефензинов в ротовой жидкости достоверно не изменялись. После проведения трансбуккальных провокационных проб с солями металлов у пациентов с непереносимостью зубопротезных материалов алергической этиологии ( $n = 20$ ) наблюдалось достоверное ( $P_{\text{Wilcoxon}} = 0,043$ ) повышение уровня  $\alpha$ -1-дефензинов в ротовой жидкости. Однако прироста или снижения уровней  $\beta$ -1-дефензинов под влиянием трансбуккальных провокационных проб не наблюдалось. Полученные данные указывают на гиперреактивность нейтрофилов у пациентов с непереносимостью зубопротезных материалов, так как гранулы нейтрофилов являются источником  $\alpha$ -1-дефензина, а пониженный уровень эпителиального  $\beta$ -1-дефензина характеризует угнетение мукозального иммунитета слизистой оболочки полости рта.

*Ключевые слова:* ротовая жидкость, алергия, дефензины, стоматологические материалы

### ВВЕДЕНИЕ

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).

Ротовая жидкость (РЖ) содержит многочисленные белки, в том числе дефензины, которые играют важную роль в формировании как врожденного, так и приобретенного иммунитета. Уровни дефензинов в РЖ могут меняться, и, следовательно, они могут быть маркером для оценки риска и ранней диагностики патологических состояний, связанных с воздействием на слизистую оболочку полости рта (СОПР). Поскольку каждый зубной протез является для организма инородным телом и сильным раздражителем, то особенно важно

#### Адрес:

210029 Республика Беларусь, г. Витебск, ул. Правды, д. 66, кв. 112. Тел. +375 21222-53-80 (р), +375 29 711-97-36 (моб).  
Карпук Иван Юрьевич.

E-mail: [ikarpuk@mail.ru](mailto:ikarpuk@mail.ru)

#### Автор:

Карпук И. Ю., к. м. н., доцент, докторант кафедры клинической иммунологии и алергологии с курсом ФПК и ПК «УО» ВГМУ, Витебск, Республика Беларусь.

учитывать, что различные конструкции зубных протезов неравнозначно влияют на концентрацию антимикробных пептидов [1].

В настоящее время дефензины относят к важным провоспалительным посредникам: их экспрессия приводит к увеличению синтеза и секреции провоспалительных факторов — IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$ , антител, дегрануляции тучных клеток [2]. Играя важнейшую роль в иммунном ответе человека, дефензины участвуют в генезе множества патологий организма в качестве мощных иммунных регуляторов. Действие дефензинов на систему иммунитета реализуется за счет хемоаттракции различных клеток (CD8) Т-лимфоцитов моноцитов, макрофагов, нейтрофилов, тучных клеток [3], Т-клеток памяти и базофилов [4], незрелых CD34<sup>+</sup> дендритных клеток, Th17 и регуляторных (Treg) клеток. Показано, что дефензины также способны мощно активировать фагоцитоз [5] и индуцировать продукцию IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  моноцитами факторов роста (гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF), фактора роста нервов (NGF), а также субстанции P, простагландина E2, лейкотриена LTC4 тучными клетками. Таким образом, дефензины являются важными адъювантами защитной системы организма человека, гармонизирующие и регулирующие выраженность и направленность иммунного ответа [6].

Дефензины играют важную роль и в развитии аллергических заболеваний, таких как бронхиальная астма и атопический дерматит. Повышенная выработка  $\beta$ -дефензинов эпителиальными клетками бронхов приводит к индукции образования Th-17 клетками IL-17, уровень которых коррелирует со степенью гиперреактивности. Также  $\beta$ -дефензины стимулируют синтез хемоаттрактантов эозинофилов (CCL5/RANTES, CCL11/эотаксина, IL-17), поддерживая аллергическую воспалительную реакцию в слизистой респираторного тракта. Доказанным действием на экспрессию антимикробных пептидов обладает LTB4, стимулирующий высвобождение миелоидных  $\alpha$ -дефензинов из азурофильных гранул нейтрофилов и образование  $\beta$ -дефензина-3 эпителиоцитами и фибробластами респираторного тракта [7]. Кроме  $\alpha$ -дефензинов, повышается уровень и  $\beta$ -дефензинов (HBD-2, HBD-3), однако он не достигает таких высоких значений как при псориазе. АМП обладают мощным профилактическим действием в отношении кариеса зубов,

подавляя рост кариесогенных бактерий, а также повышая уровень местной защиты [8].

В настоящее время многие авторы относят к дефензинзависимым заболеваниям гастрит, диспепсию, язвенную болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки [9].

Выделяют два основных подсемейства, а именно —  $\alpha$ -дефензины и  $\beta$ -дефензины [10].  $\alpha$ -Дефензины (HNP1, HNP2, HNP3, HNP4) продуцируются нейтрофилами [11], в то время как  $\beta$ -дефензины (hBD1, hBD2, hBD3, hBD4) продуцируются эпителиальными клетками слизистой оболочки [12, 13]. Помимо смешанной слюны,  $\alpha$ -дефензины и  $\beta$ -дефензины представлены в жидкости зубодесневой борозды. Как  $\alpha$ -дефензины, так и  $\beta$ -дефензины имеют широкую антибактериальную активность, основанную на характере катионных пептидов [14, 15].

Именно поэтому углубленное изучение влияния неблагоприятного действия стоматологических материалов на уровни  $\alpha$ - и  $\beta$ -дефензинов в РЖ вызывает научный интерес. Понимание их роли даст возможность лучше понять механизмы патогенеза аллергии у таких пациентов и использовать новейшие диагностические методы для ее выявления на ранних этапах.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 1. Клиническая характеристика и принципы деления на группы пациентов с НЗМ

Проведено обследование 20 пациентов в возрасте от 44 до 68 лет, из них 2 мужчин и 18 женщин, направленные в клинику кафедр общей стоматологии с курсом ортопедической стоматологии клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК УО «ВГМУ» с жалобами на НЗМ. 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) и реакции аллергениндуцированного повреждения лейкоцитов (РАПЛ).

Всем пациентам были проведены ретроспективный анализ историй болезни и стоматологическое обследование. Для дифференциации заболеваний периодонта, вызванных действием бактерий зубного налёта, и патологии, обусловленной действием стоматологических материалов, по мере необходимости пациентам

**Таблица 1.** Критерии включения/исключения пациентов в опытную группу

Критерии включения	Критерии исключения
Отсутствие кандидоза в полости рта	Наличие кандидоза в полости рта
Пациенты, не принимающие регулярно стероидные и/или нестероидные препараты	Регулярный прием стероидных и/или нестероидных препаратов
Наличием одного типа причинной конструкции во рту пациента	Наличие двух и более разнородных сплавов во рту пациента
Пациенты, не принимающие антигистаминные препараты	Пациенты, принимающие антигистаминные препараты
Положительные результаты АП и РАПЛ к одному из ионов металлов	Отрицательные результаты АП и РАПЛ

проводилась коррекция индивидуальной гигиены, профессиональная гигиена полости рта.

Симптомы непереносимости зубопротезных материалов в полости рта могут являться как признаками соматических заболеваний, так и заболеваний органов полости рта. Отсутствие четко выраженных патогномичных симптомов, характерных только для аллергии на зубопротезные материалы обусловило выбор критериев включения и исключения пациентов в опытную группу, выработанных для подтверждения аллергии, как причины в возникновении симптомов непереносимости (табл. 1).

Пациентам основной группы проводили определение уровня дефензинов из лейкоцитов РЖ после трансбуккальных провокационных проб с 0,001% растворами солей металлов: с  $\text{NiCl}_2$ ,  $\text{CrCl}_3$  и  $\text{CoCl}_2$ .

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

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.

Для снижения роли гальванических токов в этиологии развивавшихся симптомокомплексов в исследуемой группе, исключались пациенты с наличием в полости рта двух и более разнородных сплавов (например, штампованно-паянного и литого мостовидного протеза). Но у некоторых пациентов с наличием одного типа причинной конструкции, включенных в исследование, определялись гальванотоки, наличие которых мы связываем не с общепринятым представлением о коррозии и наличием

индуцированных гальванических токов металлическими зубопротезными материалами в полости рта, а с наличием хронического аллергического или неспецифического воспаления за счет сенсibilизации системы иммунитета к металлам.

Аллергообследование пациентов начинали с заполнения анкеты, разработанной нами, что позволило выявить детали аллергологического анамнеза, имеющего важное значение в диагностике аллергии на стоматологические материалы, отметить наличие сопутствующей патологии органов и систем, что служило поводом для назначения дополнительных консультаций специалистов соответствующего профиля, провести анализ клинических аспектов жалоб у пациентов с возникшими симптомами непереносимости.

#### *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 аппликатора лейкопластыря «Унипласт фиксирующий»  $5 \times 500$  см. Результаты постановки АП оценивались через 3, 24 и 48 часов. Использованы следующие соли  $\text{NiCl}_2$  (3%),  $\text{CrCl}_3$  (3%),  $\text{CoCl}_2$  (1%). Обновление диагностических растворов проводили не реже чем через 2–3 недели.

В качестве негативного контроля использовался чистый медицинский вазелин.

Интерпретация результатов кожного тестирования проводилась согласно общепринятой методике [16].

С целью исключения ложноположительных реакций при оценке кожных проб, которые

возникают при расчесывании кожи в области последних, пластырь с аллергеном наклеивался в область спины по правой и левой лопаточным линиям.

Исследование одобрено этическим комитетом Витебской областной клинической больницы.

#### *Определение сенсibilизации лейкоцитов с использованием РАПЛ*

В качестве аллергенов использовали растворы солей металлов. Оптимальная концентрация аллергенов для РАПЛ была определена с лейкоцитами 20 пациентов с аллергией на металлы и 20 здоровых лиц без аллергии. Установлено, что 0,01% растворы  $\text{NiCl}_2$ ,  $\text{CrCl}_3$ , 0,005% раствор  $\text{CoCl}_2$  не вызывают неспецифического повреждения лейкоцитов в реакции аллергениндуцированного повреждения лейкоцитов.

Поэтому как аллергены использовали растворы солей металлов в физиологическом растворе хлорида натрия в вышеуказанных концентрациях.

Для исследования из вены 10 мл крови в пробирку, в которую добавляли 20 ед/мл гепарина. Использовали суспензию неразделенных лейкоцитов, полученных из плазмы крови после её отстаивания 30–40 мин. Лейкоциты отмывали от плазмы крови раствором хлорида натрия и готовили их суспензию в концентрации  $2 \times 10^6$  в 1 мл.

0,25–0,05 мл суспензии лейкоцитов смешивали с равным объемом различных концентраций испытуемых аллергенов-растворов солей металлов, к одной пробе (контроль) аллерген не добавляли. Смеси лейкоцитов с аллергенами инкубировали при  $37^\circ\text{C}$  в течение 30 мин. Все пробы дублировали. После инкубации смесь центрифугировали при 1000 об/мин 5 мин, надсадочную жидкость сливают, добавляют 2 капли 0,1% раствора трипанового синего, ресуспендировали и подсчитывали в камере Горяева процент окрашенных лейкоцитов.

#### **2. Забор и подготовка РЖ для определения уровней $\alpha$ -1- и $\beta$ -1-дефензинов до и после снятия ортопедических конструкций у пациентов опытной и контрольной групп**

Все пациенты, участвовавшие в исследовании, за сутки до тестирования не употребляли алкоголь, продукты с кофеином, никотин, за двое суток – противоаллергические лекарственные средства (антигистаминные, глюкокортикостероиды), исключали потенциально аллергенные продукты

и напитки. За 1 час до исследования не принимали пищу, не менее 4 часов не курили.

#### *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.

#### **2.1. Методика проведения трансбуккальных провокационных проб аллергеном**

Реакции ставили спустя 1 месяц после постановки кожных проб.

Способ осуществляется в несколько этапов:

##### *1. Подготовка аллергенов*

В качестве аллергенов использовали 0,001% растворы солей  $\text{NiCl}_2$ ,  $\text{CrCl}_3$ ,  $\text{CoCl}_2$ . Соли разводили стерильным физиологическим 0,9% раствором натрия хлорида.

##### *2. Провокация аллергенами выброса калия лейкоцитами (провокационный тест)*

Производили забор исходной РЖ пациента. Пациент ополаскивал рот водой, а затем полоскал рот 50 мл физиологического раствора хлорида натрия 0,9% в течение 3 мин. Раствор выплевывал. Через 10 минут РЖ в объеме 1 мл собирали в две микропробирки, закрывали крышкой (контрольная проба № 1).

Пациент полощет рот раствором аллергенов по 50 мл 3 мин и выплевывает.

Через 30 мин РЖ в объеме 1 мл собирали в микропробирки и закрывали крышкой (проба № 2).

##### *3. Ход реакции*

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

3.2. Забирали РЖ в стерильную пробирку № 1. Далее шприцем (5 мл) забирали РЖ и фильтровали в стерильную пробирку через нитроцеллюлозные фильтры с диаметром пор 0,22 мкм, разводили физраствором в 4 раза. Определяли уровень дефензинов. То же проводили с пробой № 2.

**Таблица 2.** Показатели среднего уровня  $\alpha$ -1- и  $\beta$ -1-дефензинов в ротовой жидкости у пациентов с НЗМ аллергической этиологии до и после снятия причинных ортопедических конструкций (n = 20)

Уровень (нг/мл)	Median	25%	75%	$P_{\text{Wilcoxon}}$
$\alpha$ -1-дефензина в РЖ до снятия конструкции	1,56	1,19	1,95	0,0001
$\alpha$ -1-дефензина в РЖ после снятия конструкции	0,61	0,44	0,68	
$\beta$ -1-дефензина в РЖ до снятия конструкции	2,9	2,3	3,4	0,01
$\beta$ -1-дефензина в РЖ после снятия конструкции	3,8	3,1	4,9	

### Лабораторные методы обследования

Определение уровня Human DEF $\alpha$ 1 (Defensin Alpha1, Neutrophil) осуществляли с использованием ИФА тест-системы (номер по каталогу E-EL-H0833).

С целью количественного определения Human DEF $\beta$ 1 (Defensin Beta1) использовали ИФА тест-систему (номер по каталогу E-EL-H0995).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась при помощи STATISTICA 10.0. Количественные параметры представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала (LQ; UQ), где LQ – верхняя граница нижнего квартиля, UQ – 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  $p < 0,05$ .

**Цель исследования:** изучить влияние дентальных сплавов на уровни  $\alpha$ -1- и  $\beta$ -1-дефензинов в ротовой жидкости у пациентов с жалобами на непереносимость зубопротезных материалов и с выявленной сенсibilизацией к солям металлов.

### Результаты исследований

#### Определение и клиническое значение $\alpha$ -1- и $\beta$ -1-дефензинов в РЖ пациентов с жалобами на НЗМ до и через 1 месяц после снятия причинных ортопедических конструкций

У пациентов с НЗМ аллергической этиологии (n = 20) показатели среднего уровня  $\alpha$ -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 (табл. 2). Уровень  $\beta$ -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  $\alpha$ -1-дефензина в РЖ, а уровень  $\beta$ -1-дефензинов – повышало. По нашему мнению снижение уровня  $\alpha$ -1-дефензина в РЖ может быть связано с гиперчувствительностью нейтрофилов к компонентам дентальных сплавов, так как основным источником  $\alpha$ -1-дефензина являются азурофильные гранулы нейтрофилов [11–15]. Повышение уровня  $\beta$ -1-дефензина после снятия ортопедических конструкций может быть связано с улучшением регенерации эпителия, так как основным источником  $\alpha$ -дефензинов является эпителий СОПР [13].

Уровень  $\alpha$ -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 (табл. 3). Исходный уровень  $\alpha$ -1-дефензина в этой группе (0,57 нг/мл) был существенно ниже ( $P_{\text{Wilcoxon}} \leq 0,05$ ), чем в первой группе (1,56 нг/мл), что указывает на влияние ортопедических конструкций на выброс  $\alpha$ -1-дефензина нейтрофилами у пациентов с гиперчувствительностью. При исследовании уровня  $\beta$ -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  $\beta$ -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

**Таблица 3.** Показатели среднего уровня  $\alpha$ -1- и  $\beta$ -1-дефензинов в ротовой жидкости у пациентов контрольной группы до и после снятия ортопедических конструкций (n = 19)

Уровень (нг/мл)	Median	25%	75%	P <sub>Wilcoxon</sub>
$\alpha$ -1-дефензина в РЖ до снятия конструкции	0,57	0,43	0,69	0,26
$\alpha$ -1-дефензина в РЖ после снятия конструкции	0,58	0,46	0,73	
$\beta$ -1-дефензина в РЖ до снятия конструкции	3,1	2,9	3,6	0,38
$\beta$ -1-дефензина в РЖ после снятия конструкции	3,2	3,2	3,8	

у пациентов с гиперчувствительностью к дентальным сплавам.

Исходя из полученных данных, можно судить о том, что уровень  $\alpha$ -1-дефензина в РЖ позволяет объективно оценивать влияние зубопротезных материалов на гиперреактивность нейтрофильных лейкоцитов, а уровень  $\beta$ -1-дефензина – на местную реактивность эпителия СОПР.

У больных первой группы с развитием НЗМ, с более выраженной симптоматикой и выявленной сенсibilизацией к ионам металлов по АП и РАПЛ уровень  $\alpha$ - и  $\beta$ -1-дефензинов в РЖ был выше, чем у пациентов контрольной группы.

По изменению уровня  $\alpha$ -1-дефензина в РЖ до и после снятия причинных конструкций можно делать выводы об участии нейтрофилов в патогенезе гиперчувствительности к дентальным сплавам. У пациентов с НЗМ предположительно аллергического происхождения отмечается снижение концентрации  $\alpha$ -1-дефензина в РЖ через месяц после снятия протезов по сравнению с исходным уровнем.

*Выброс  $\alpha$ - и  $\beta$ -1-дефензинов в РЖ пациентов с жалобами на НЗМ аллергической этиологии до и после трансбуккальных провокационных проб*

После проведения трансбуккальных провокационных проб с 0,0001% раствором солей Ni<sup>2+</sup> Cr<sup>3+</sup> Co<sup>2+</sup> у пациентов опытной группы мы наблюдали достоверное (P<sub>Wilcoxon</sub> = 0,043) повышение уровня  $\alpha$ -1-дефензинов в РЖ через 40 минут после полоскания аллергеном был отмечен у всех пациентов. Однако прироста или снижения  $\beta$ -1-дефензинов под влиянием трансбуккальных провокационных проб не наблюдалось (табл. 4). Увеличение уровня  $\alpha$ -1-дефензинов в РЖ после трансбуккальных провокационных проб может быть связано с *немедленной гиперреактивностью* нейтрофилов на аллерген – соли металлов. Отсутствие прироста или снижения концентрации  $\beta$ -1-дефензинов после провокации и увеличение его уровня после снятия ортопедических конструкций, объясняется воздействием дентальных сплавов на эпителий, регенерация которого улучшается после удаления протеза.

**Таблица 4.** Выброс  $\alpha$ - и  $\beta$ -1-дефензинов (нг/мл) в РЖ пациентов с жалобами на НЗМ аллергической этиологии до и после трансбуккальных провокационных проб (n = 10)

Уровень $\alpha$ -1-дефензина в РЖ до пробы	Уровень $\alpha$ -1-дефензина в РЖ после пробы	Уровень $\beta$ -1-дефензина в РЖ до пробы	Уровень $\beta$ -1-дефензина в РЖ после пробы
0,69	1,21	3,41	2,35
0,72	1,73	2,81	2,75
0,64	2,1	4,01	3,67
0,42	1,78	2,52	3,94
0,45	1,54	3,42	4,22
0,47	2,02	3,25	4,32
0,53	1,95	3,17	3,8
0,51	1,94	3,89	2,75
0,89	1,44	3,61	3,45
1,35	2,7	3,67	2,11
P <sub>Wilcoxon</sub> = 0,005		P <sub>Wilcoxon</sub> = 0,79	

Описанные нами высокая биологическая активность  $\alpha$ -1-дефензина, его специфичность обусловили интерес к изучению данного пептида, в особенности, реализации его биоэффектов в патогенезе аллергии на зубопротезные материалы, а также возможности его использования в диагностике и прогнозировании рисков развития аллергии на дентальные сплавы. В соответствии с поставленными задачами исследования, используя метод ИФА, нами была изучена динамика показателей уровней  $\alpha$ -1- и  $\beta$ -1-дефензинов в РЖ у 20 пациентов с НЗМ аллергической этиологии. Было выяснено влияние дентальных сплавов на концентрации дефензинов в РЖ в зависимости от того, имелась ли у пациента сенсibilизация к солям металлов, входящих в состав причинных ортопедических конструкций. Повышение концентрации  $\alpha$ -1-дефензина среди пациентов с НЗМ и сенсibilизацией к солям металлов является следствием гиперреактивности нейтрофилов на аллерген, а повышение уровня  $\beta$ -1-дефензинов – отражением угнетения врожденного неспецифического иммунитета эпителия СОПР в ответ на воздействие дентальных сплавов. Результаты, полученные нами в ходе проводимого исследования, свидетельствуют о значительной роли  $\alpha$ -1-дефензина в развитии гиперчувствительности к компонентам дентальных сплавов у пациентов с жалобами на НЗМ.

Таким образом, определение уровня  $\alpha$ -1-дефензина в ротовой жидкости может применяться в качестве биомаркера гиперчувствительности к дентальным сплавам, а уровень  $\beta$ -1-дефензина – характеризует угнетение мукозального иммунитета СОПР.

## ВЫВОДЫ

1. У пациентов с НЗМ аллергической этиологии ( $n = 20$ ), доказанной аппликационными пробами с солями металлов, показатели среднего уровня  $\alpha$ -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  $\alpha$ -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. После проведения трансбуккальных провокационных проб с солями металлов у пациентов с НЗМ аллергической этиологии ( $n = 20$ ) наблюдалось достоверное ( $P_{\text{Wilcoxon}} = 0,043$ ) повышение уровня  $\alpha$ -1-дефензинов в РЖ. Однако прироста или снижения  $\beta$ -1-дефензинов под влиянием трансбуккальных провокационных проб не наблюдалось. Увеличение уровня  $\alpha$ -1-дефензинов в РЖ после трансбуккальных провокационных проб может быть обусловлено немедленной гиперреактивностью нейтрофилов на причинный аллерген – соли металлов, тогда как этого не наблюдалось с эпителиальным  $\beta$ -1-дефензином после провокации.

3. Уровень  $\beta$ -1-дефензина у пациентов с жалобами на НЗМ 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. При исследовании уровней  $\beta$ -1-дефензина в РЖ пациентов без НЗМ ( $n = 19$ ) 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  $\beta$ -1-дефензина у пациентов с НЗМ 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 снижением мукозального иммунитета.

4. Уровни  $\alpha$ -1- и  $\beta$ -1-дефензина отражают развитие иммунного ответа организма у больных с гиперчувствительностью к компонентам дентальных сплавов и могут использоваться в качестве прогностического биомаркера, а также для выбора тактики лечения и профилактических мероприятий. При этом, повышенная концентрация нейтрофильного  $\alpha$ -1-дефензина в РЖ указывает на гиперчувствительность организма к компонентам дентальных сплавов, а пониженный уровень эпителиального  $\beta$ -1-дефензина характеризует угнетение мукозального иммунитета слизистой оболочки полости рта.

5. У больных с аллергической НЗМ после проведения трансбуккальных провокационных проб с растворами солей металлов, входящих в состав протезов, наблюдается достоверное увеличение концентрации  $\alpha$ -1-дефензина, но не эпителиального  $\beta$ -1-дефензина в ротовой жидкости, что указывает на гиперреактивность нейтрофилов, так как гранулы нейтрофилов являются источником этого дефензина.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. Kucukkolbasi H., Kucukkolbasi S., Ayyildiz H. F., Dursum 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), 230–238.
2. Fu Gorr S.-U. Antimicrobial peptides of the oral cavity. *Periodontology* 2009, 51, 152–180.
3. Jana N.K., Gray L. R., Shugars D. C. Human immunodeficiency virus type 1 stimulates the expression and production of secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) in oral epithelial cells: A role of SLPI in innate mucosal immunity. *J. Virol.* 2005, 79, 6432–6440.
4. Hollox E. J. Copy number variation of beta-defensins and relevance to disease. *Cytogenet. Genome Res.* 2008, vol. 123, № 1–4, 148–155.
5. Rehaume L. M., Hancock R. E. Neutrophil-derived defensins as modulators of innate immune function. *Crit. Rev. Immunol.* 2008, vol. 28, № 3, 185–200.
6. Dietrich D.E., Xiao X., Dawson D. V. Human alpha and beta-defensins bind to immobilized adhesins from *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun.* 2008, 76, 5714–5720.
7. Baines K. J., Wright T. K., Simpson J. L., McDonald V. M., Wood L. G. Airway  $\beta$ -Defensin-1 Protein Is Elevated in COPD and Severe Asthma. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2016; 12: 52.
8. Ozturk A., Famili P., Vieira A. R. The antimicrobial peptide DEFBI is associated with caries. *J. Dent. Res.* 2010, 89, 631–636.
9. Nishi Y., Isomoto H., Mukae H., Ishimoto H., Wen C. Y. Concentrations of  $\alpha$ - and  $\beta$ -defensins in gastric juice of patients with various gastroduodenal diseases. *World J. Gastroenterol.* 2005, Jan 7, 11(1), 99–103.
10. 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.
11. Ji S., Hyun J., Park E., Lee B. L., Kim K. K. Susceptibility of various oral bacteria to antimicrobial peptides and to phagocytosis by neutrophils. *J. Periodontal Res.* 2007, 42, 410–419.
12. Premratanachai P., Joly S., Johnson G. K., McCray P. B., Jr, Jia H. P. Expression and regulation of novel human beta-defensins in gingival keratinocytes. *Oral Microbiol. Immunol.* 2004, 19, 111–117.
13. Lu Q., Jin L., Darveau R. P., Samaranayake L. P. Expression of human beta-defensins-1 and -2 peptides in unresolved chronic periodontitis. *J. Periodontal Res.* 2004, 39, 221–227.
14. Shelburne C.E., Coulter W. A., Olguin D., Lantz M. S., Lopatin D. E. Induction of beta-defensin resistance in the oral anaerobe *Porphyromonas gingivalis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005, 49, 183–187.
15. Колчанова Н.Э., Окулич В. К., Денисенко А. Г. Уровень бета-1-дефензина, бапна-амидазной и эластазной активности ротовой жидкости у пациентов с хроническим периодонтитом Вестник ВГМУ 2016, 15, 2, 102–109. [Kolchanov N. E., Okulich V. K., Denisenko A. G. Vestnik VGMU 2016, 15, 2, 102–109.]
16. Новиков Д.К., Сергеев Ю. В., Новиков П. Д. Лекарственная аллергия. М.: Нац. акад. микологии, 2001, 313. [Novikov D. K., Sergeev Yu. V., Novikov P. D. Allergy of Drag. M.: Nac. Academy of micology, 2001, 313.]

## CHANGE OF LEVELS DEFENZINOV IN STOMATIC LIQUID AT PATIENTS AT THE ALLERGIC AND NONSPECIFIC HYPERSENSITIVITY TO STOMATOLOGIC MATERIALS

I. Yu. Karpuk

Vitebsk State Medical University, Vitebsk,  
Republic of Belarus

Received: 28.11.2016. Accepted: 25.01.2017

The purpose of the real research was studying of influence of dental alloys on levels  $\alpha$ -1- and  $\beta$ -1-defensin in oral liquid at patients with complaints to intolerance of dentoprosthetic materials and with the revealed sensitization to salts of metals. The studied group 20 patients with intolerance of dentoprosthetic materials and positive have made results of statement of patch test and reaction of allergen induction damage of leukocytes. To patients carried out determination of level of defensin from leukocytes of oral liquid after the transbukkal of provocative tests from 0,001% solutions salts of metals: NiCl<sub>2</sub>, CrCl<sub>3</sub>, CoCl<sub>2</sub>. It is established what patients with intolerance of dentoprosthetic materials of an allergic etiology have (n = 20), proved by application tests with salts of metals, levels  $\alpha$ -1- and  $\beta$ -1-defensin in oral liquid change in 1 month after removal of causal orthopedic designs. The  $\alpha$ -1-defensin level in oral liquid before removal of causal orthopedic designs has made 1,56 [1,19; 1,95] ng/ml, and 1 month later after removal – 0,61 [0,44; 0,68] ng/ml ( $P_{\text{Wilcoxon}} \leq 0,05$ ). Level of a  $\beta$ -1-defensin before removal of artificial limbs has made 2,9 [2,3; 3,4] ng/ml, and after removal of artificial limbs has increased to 3,8 [3,1; 4,9] ng/ml. Patients of control group have levels  $\alpha$ -1- and  $\beta$ -1-defenzin in oral liquid authentically didn't change. After carrying out the transbukkal of provocative tests with



salts of metals at patients about intolerance of dentoprosthetic materials of an allergic etiology (n = 20) reliable ( $P_{\text{Wilcoxon}} = 0,043$ ) increase in level of  $\alpha$ -1-defensin in oral liquid was observed. However, the gain or decrease in levels of  $\beta$ -1-defensin under influence the transbukkal of provocative tests wasn't observed. The obtained data specify also hyperreactivity of neutrophils in at patients with intolerance of dentoprosthetic materials as granules of neutrophils are a source  $\alpha$ -1-defensine, and the lowered level of an ephitelium  $\beta$ -1-defensin characterizes oppression of mukozaal immunity of a mucous membrane of an oral cavity.

*Key words:* oral liquid, allergy, defensins, dental materials

**Author:**



**Karpuk I. Yu.,** PhD, Assistant professor of the Department of Clinical Immunology and Allergy, Vitebsk, State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus; 210029 Republic of Belarus, Vitebsk, ul. Pravdi 66, 112. Tel. +375-212-225-380 (off.), +375-297-119-736 (mob.)

**E-mail:** ikarpuk@mail.ru