

## Оценка сенсibilизации организма к ионам металлов *in vivo* у лиц с предполагаемым неблагоприятным локальным воздействием дентальных сплавов

В настоящее время для изготовления большинства конструкций съемных и несъемных зубных протезов широко используются дентальные сплавы на основе неблагородных металлов. Достаточно большое количество *in vivo* и *in vitro* исследований указывает на тот факт, что, подвергаясь процессам биодеградации, дентальные металлосодержащие конструкции выделяют в среду полости рта ионы металлов. Катионы металлов, высвобождающиеся в результате коррозии дентальных сплавов, могут играть ключевую роль в развитии как местных, так и общих патологических процессов. Целью настоящего исследования явилась оценка частоты сенсibilизации организма к металлам у пациентов с предполагаемым негативным локальным воздействием неблагородных сплавов. Результаты проведенных нами исследований демонстрируют высокую частоту и широкую распространённость сенсibilизации организма обследованных пациентов к Ni, Cr и Co. Ключевые слова: дентальные сплавы, сенсibilизация к металлам, кожное аллерготестирование.

P.L.

Titov

Hypersensitivity to base metals ions *in vivo* in patients with complaints suspected to adverse effects of dental alloys. Most fixed and removable dentures are made from casting alloys. It has been documented *in vitro* and *in vivo*, that metallic restorations release metal ions mainly due to corrosion. Those metallic ions may be distributed systemically and locally and could play a significant role in the induction of oral or/and systemic immunoinflammatory conditions. Our purpose was to determine the frequency of sensitization to metal salts and clinical characteristics in the group of patients with complaints suspected to adverse effects of dental alloys. The results of this study demonstrate higher frequency hypersensitivity reactions to Ni, Cr and Co in this group of patients.

Key words: dental alloys, hypersensitivity to metals, adverse effects, patch tests.

### Введение

Совместимость дентальных сплавов с биологической средой полости рта важна для изготовления безопасных для здоровья пациентов зубных протезов. Именно в полости рта материалы различных составов в виде зубных протезов, могут временно (от нескольких минут до десятков лет) вступать в непосредственный контакт между собой и организмом человека. Биологическая среда полости рта предоставляет практически идеальные условия для поддержания процессов биодеградации дентальных сплавов – частые изменения pH и температуры в широком диапазоне значений, действие различных химических веществ и ферментов полости рта, эффект оральной микрофлоры. Достаточно большое количество исследований указывает на тот факт, что, подвергаясь процессам

коррозии и механического износа, дентальные металлосодержащие конструкции выделяют в среду полости рта ионы металлов [14, 15, 29, 31]. Катионы металлов, распределяясь в полости рта или распространяясь системно, играют ключевую роль в развитии неблагоприятных эффектов дентальных сплавов на организм [1, 2, 8, 23]. Ионы металлов, высвобождающиеся из металлических протезов, провоцируют как местные, так и общие реакции. Основным типом иммуновоспалительных процессов индуцированных таким образом являются аллергические реакции. В Белоруссии данной проблеме посвящен ряд исследований [3, 4, 5], что указывает на ее высокую актуальность.

Наиболее частым механизмом иммунобиологического эффекта локальных реакций полости рта на компоненты дентальных сплавов являются аллергические реакции IV типа (ГЗТ), протекающие, обычно, по типу контактных дерматитов [9, 10, 18, 22]. Известно, что сами по себе катионы металлов не являются полноценными аллергенами [26], но при взаимодействии с различными биомолекулами (белками, нуклеиновыми кислотами, углеводами и др.) превращаются в полноценные (комплексные) антигены. Такие антигены захватываются антигенпрезентирующими клетками (клетки Лангерганса, моноциты и макрофаги). В результате внутриклеточной переработки комплексных антигенов пептиды, фиксирующие ионы металлов, связываются с молекулами распознавания II класса (HLA молекулы II класса). Образованный комплекс экспонируется на мембране антигенпрезентирующих клеток для последующей презентации CD4+ Т-лимфоцитам. Количество клеток Лангерганса в слизистой оболочке полости рта колеблется от 2 до 15% всего состава клеток. Презентация чужеродного антигена осуществляется в паракортикальных зонах (Т-зонах) региональных лимфатических узлов. Процесс занимает от нескольких часов до нескольких суток. Результатом этих взаимодействий являются морфологические и метаболические изменения в лимфоцитах, с последующей продукцией различных цитокинов, модулирующих ход и выраженность формирующейся локальной реакции. Обычно эти взаимодействия приводят к клональной пролиферации эффекторных Т-лимфоцитов (CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов), формированию кратковременной (недели) и долговременной (годы) Т-клеточной памяти, которые и ответственны за развитие аллергической реакции при повторном контакте организма с антигеном [13, 24, 30].

Такие металлы, входящие в состав неблагородных дентальных сплавов, как никель, кобальт и хром, являются сильным аллергеном и могут провоцировать местные (локализованные гингивиты и стоматиты, лишеноидные поражения слизистой оболочки, прогрессирующая резорбция костной ткани, синдром “горящего рта” и др.) и общие аллергические реакции (контактные дерматиты, астма) [7, 16, 17, 19, 21, 28]. С другой стороны, собственно ионы металлов также могут изменять или прекращать течение нормальных иммунологических процессов и механизмов, стимулируя тем самым развитие локальных воспалительных процессов [20, 27, 32]. В настоящее время частота различных типов аллергических реакций к компонентам дентальных сплавов, равно как и иммунобиологические эффекты катионов, высвобождающихся в результате коррозии металлосодержащих зубных протезов, изучены недостаточно.

Целью настоящего исследования явилась оценка частоты сенсibilизации организма к металлам у пациентов с предполагаемым негативным локальным воздействием неблагородных сплавов.

#### Материалы и методы

##### Характеристика обследованных пациентов.

Был обследован 31 пациент с подозрением на неблагоприятное действие дентальных сплавов, обратившихся за помощью на кафедру ортопедической стоматологии БГМУ. Из них 29 (93,54%) составили женщины и 2 (6,45%) мужчины в возрасте от 35 до 71 года (средний возраст пациентов – 51,7 лет).

Всем пациентам были проведены ретроспективный анализ стоматологических и общесоматических историй болезни и оценка стоматологического статуса.

##### Кожное аппликационное алерготестирование

Кожное аппликационное алерготестирование выполняли в соответствии с рекомендациями международной научной группы контактных дерматитов (International Contact Dermatitis Research Group, ICDRG). Для выполнения кожного алерготестирования применяли специальные аппликаторы – Finn Chamber on Scanpor (Epitest Ltd.Oy, Tulusa, Finland) на десять лунок (Иллюстрация 1а).

Для алерготестирования использовали соли металлов (n=8) входящих в состав неблагородных дентальных сплавов. Все соли были заказаны по каталогу Sigma-Aldrich Inc. и характеризовались чистотой 99,99%. В качестве тестовых субстанций были использованы 3% соли металлов  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Ti}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  на вазелиновой основе (Табл. 1). В качестве негативного контроля использовался чистый медицинский вазелин (Pure Petrolatum, PP).

Таблица 1. Тестовые субстанции для проведения кожного алерготестирования.

<b>Катион</b>	<b>Тестовая субстанция</b>
$\text{Cu}^{2+}$	$\text{CuCl}_2$ – 3% вазелиновый
$\text{Co}^{2+}$	$\text{CoCl}_2$ – 3% вазелиновый
$\text{Cr}^{6+}$	$\text{Cr}_2\text{K}_2\text{O}_7$ – 3% вазелиновый
$\text{Mg}^{2+}$	$\text{MgCl}_2$ – 3% вазелиновый
$\text{Mn}^{2+}$	$\text{MnCl}_2$ 3% вазелиновый
$\text{Ni}^{2+}$	$\text{NiSO}_4$ – 3% вазелиновый
$\text{Ti}^{3+}$	$\text{TiCl}_3$ – 3% вазелиновый
$\text{Zn}^{2+}$	$\text{ZnCl}_2$ – 3% вазелиновый

Аппликаторы с тестовыми субстанциями наклеивались на тыльную сторону предплечья сроком на 48 часов (Иллюстрация 1б). Пациентам давались соответствующие рекомендации по проведению гигиенических процедур на период тестирования. Через 48 часов аппликаторы удалялись и производилась первичная оценка выраженности локальных результатов кожного тестирования. Повторная оценка результатов проводилась на 4-е сутки.

Учет и интерпретация результатов кожного алерготестирования.

Интерпретация результатов кожного тестирования проводилась согласно рекомендациям ICDRG (International Contact Dermatitis Research Group):

“-“ - отрицательная реакция;

“+” - слабopоложительная реакция (эритема, инфильтрация, папулы);

“++” - положительная реакция (эритема, инфильтрация, папулы, одиночные везикулы);

“+++” - резкоположительная реакция (множественные везикулы, буллезная реакция);

“?” – сомнительная реакция (гомогенная эритема, отсутствие инфильтрации и везикул);

“IR” – локальное контактное раздражение (разрозненные точечные участки эритемы отсутствие инфильтрации);

“NT” – не тестировались.

Были определены общее количество и доля сомнительных (?/IR) и положительных (+/++/+++) результатов кожного аллeрготестирования. Для определения уместности применения в данной ситуации тестовых субстанций для каждого из аллeргенов рассчитывался индекс местной реакции (Reaction Index, RI).

Расчет индекса реакции (RI).

Индекс местной реакции (RI), предложенный Brasch и Henseler [11,12], позволяет оценить возможность применения тех или иных тестовых субстанций для кожного аппликационного аллeрготестирования для получения достоверных и значимых результатов. С помощью RI возможно выявить тестовые субстанции дающие неоднозначные и сомнительные Результаты

$$\text{Индекс реакции (RI)} = \frac{\text{Положительные результаты [+/++/+++]} - \text{Сомнительные результаты [?/IR]}}{\text{Положительные результаты [+/++/+++]} + \text{Сомнительные результаты [?/IR]}}$$

Аллeргены с негативным индексом, близким к -1, являются наименее значимыми для проведения кожного аппликационного аллeрготестирования, т.к. количество сомнительных результатов в этом случае значительно превышает количество положительных результатов.

К примеру, количество положительных результатов (+/++/+++) к NiSO<sub>4</sub> составило 14, сомнительных результатов (?/IR) – 1. В этом случае для NiSO<sub>4</sub> RI= (14-1)/(14+1)=0,86 (Табл.2).

Результаты исследования.

Всем пациентам были проведены ретроспективный анализ историй болезни и комплексное экстра- и интраоральное обследование. С целью дифференциации заболеваний периодонта, вызванных действием бактерий зубного налёта, и патологии обусловленной неблагоприятным действием дентальных сплавов по мере необходимости пациентам проводилась коррекция индивидуальной гигиены, профессиональная гигиена полости рта и дополнительно предписывались полоскания полости рта 0.1% раствором хлоргексидина в течение одной недели.

24 из 31 пациента (77,48%) могли четко обозначить причинно-следственную связь между возникновением неблагоприятной симптоматики в полости рта и фактом зубопротезирования.

Такие субъективные симптомы, как синдром горящего рта, привкус металла, сухость полости рта, извращение вкуса и др. предъявляли 17 (54,85%) пациентов.

При этом у 16 пациентов (51,60%) присутствовали только субъективные симптомы.

У 14 пациентов (45,16%) наблюдались следующие объективные симптомы: локализованный в области протезов гингивит - 6 (19,35%), стоматит в области протезов - 4 (12,90%), лихеноидные реакции - 2 (6,45%), глоссит (географический и складчатый язык) - 4 (12,90%), афтозный стоматит - 1 (3,22%), хейлит - 1 (3,22%) (Иллюстрации 2а, 3а).

Результаты кожного аппликационного аллерготестирования с солями неблагородных металлов отражены в Таблице 2.

Таблица 2. Частота сенсibilизации обследованных лиц (n=31) к металлам дентальных сплавов из неблагородных металлов.

Аллерген	Отрицательные результаты		Сомнительные результаты		Положительные результаты		Индекс реакции (RI)
	(-)	(%)	(?/IR)	(%)	(+/++/+++)	(%)	
$Cu^{2+}$	24	77,4%	4	12,9%	3	9,67%	-0,14
$Co^{2+}$	17	54,83%	8	25,8%	6	19,35%	-0,14
$Cr^{6+}$	13	41,93%	5	16,12%	13	41,93%	0,28
$Mg^{2+}$	31	100%	0	0%	0	0%	0
$Mn^{2+}$	23	74,19%	3	9,67%	5	16,12%	0,25
$Ni^{2+}$	16	51,6%	1	3,22%	14	45,68%	0,86
$Ti^{3+}$	28	90,32%	2	6,45%	1	3,22%	-0,35
$Zn^{2+}$	30	96,77%	0	0%	1	3,22%	0
PP	31	100%	0	0%	0	0	0

Наиболее часто по данным кожного аппликационного аллерготестирования положительную реакцию вызывали соли Ni (45,68%), Cr (41,93%) и Co (19,35%) (Иллюстрации 2б, 3б).

Соли таких металлов, как Mg (0%), Zn (3,25%) и Ti (3,25%) вызывали положительную реакцию реже всего.

Наибольшее число сомнительных результатов выявлено в отношении солей Co, Cr и Cu. Наименьший RI (близкий к -1) получен для солей титана (-0,33), меди (-0,14) и кобальта (-0,14).

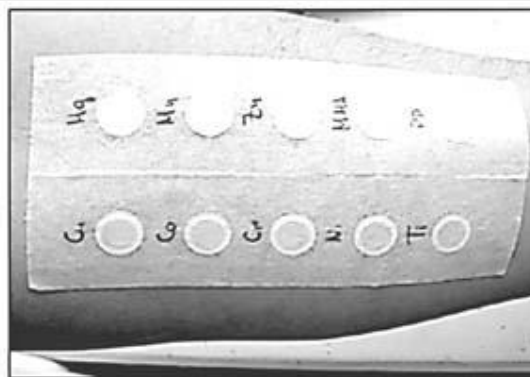


Иллюстрация 1а и 1б. Аппликаторы Finn Chamber on Scanpor (Epitest Ltd.Oy, Tulusa, Finland) 2x5. p>

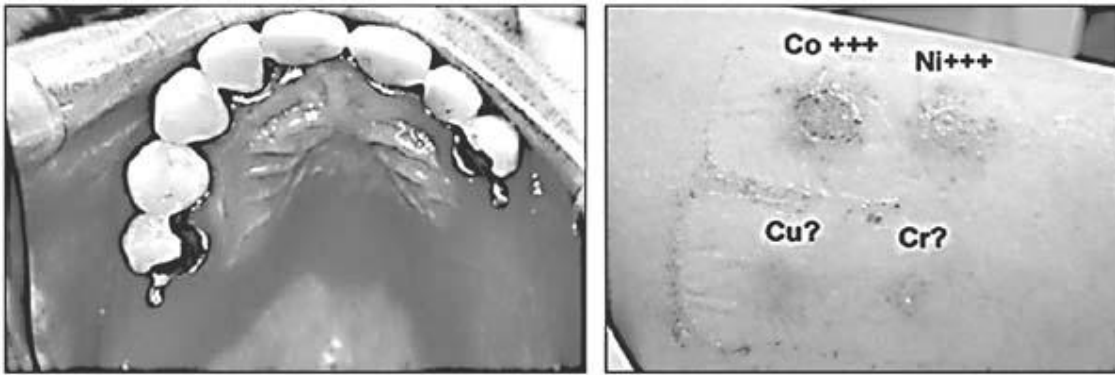


Иллюстрация 1а и 1б. Гиперемия и отёк слизистой оболочки нёба в области каркаса бюгельного протеза на верхнюю челюсть (Пациент – женщина, 58 лет. Резкоположительная кожная реакция на Co (+++) и Ni (+++)).

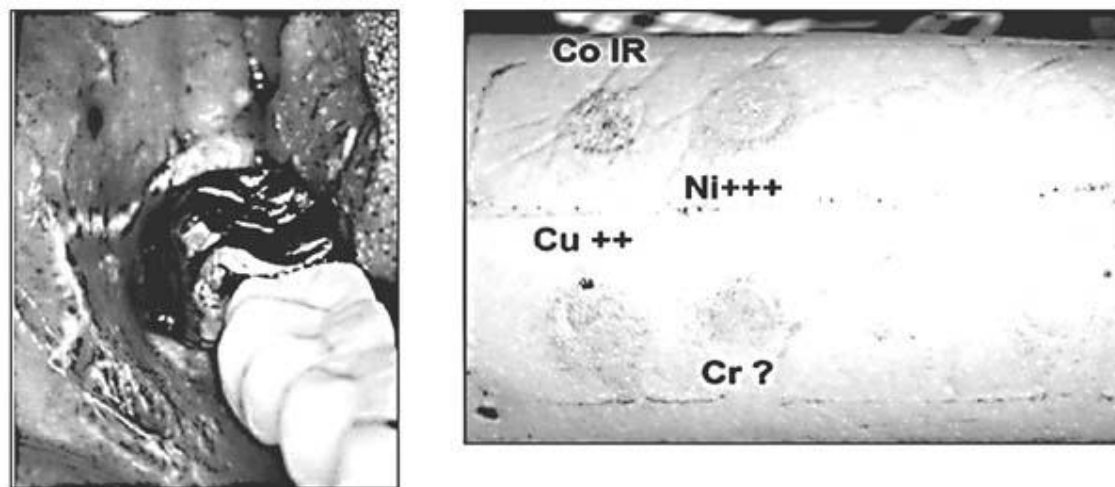


Иллюстрация 2а и 2б. Лихеноидные поражения слизистой оболочки полости рта в области литой коронки из Ni-Cr сплава (Пациент – женщина, 48 лет. Резкоположительная кожная реакция на Ni (+++)).

#### Обсуждение

Полученные в результате исследований данные о клинической картине, возникающей у пациентов с подозрением на неблагоприятное действие дентальных сплавов, указывают на отсутствие четко выраженных патогномоничных симптомов, характерных только для данной патологии. Большинство подобных субъективных и объективных симптомов могут являться как признаками соматических заболеваний, так и собственно заболеваний органов и тканей полости рта (гингивитов, маргинальных периодонтитов, грибковых и бактериальных инфекций и др.). Кроме того, схожие симптомы могут являться следствием приёма ряда медикаментов (нестероидных противовоспалительных средств, антигипертензивных препаратов, оральных контрацептивов, антиревматических средств и т.д.) [6, 25]. В связи с этим адекватная диагностика отрицательного воздействия компонентов дентальных сплавов на организм представляла и представляет значительную проблему. Следует заметить, что данные анамнеза и результаты клинического обследования пациентов не позволяют достоверно установить компоненты дентальных сплавов, являющиеся причиной развития патологического процесса.

Данные, полученные в результате кожного аллeрготестирования, указывают на возможность развития таких локальных патологических состояний, как гингивиты, стоматиты, глосситы и др. в результате сенсибилизации организма к компонентам неблагородных дентальных сплавов.

В настоящее время аппликационные наcoжные тесты являются международным стандартом де-факто для диагностики аллeргических реакций IV, Т-клеточноопосредованного типа. Согласно AAD (American Academy of Dermatology) и ICDRG (International Contact Dermatitis Research Group) результаты кожных тестов являются основой диагностики аллeргических контактных дерматитов. Результаты проведенных нами исследований демонстрируют высокую частоту и широкую распространённость сенсибилизации организма обследованных пациентов к Ni (45,68%), Cr (41,93%) и Co (19,35%). Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что кожное аллeрготестирование может являться достоверным методом дифференциальной диагностики состояний, связанных с неблагоприятным действием компонентов стоматологических материалов на организм.

Сомнительные результаты кожного аллeрготестирования могут быть обусловлены либо слабовыраженной аллeргической реакцией, либо раздражением кожных покровов самой тестовой субстанцией. К сожалению, не существует способа, который позволил бы четко дифференцировать слабовыраженную аллeргическую реакцию и местное неспецифическое раздражение. Принимая во внимание эту проблему, для исключения ложноположительных результатов, при проведении исследований мы предпочли учитывать все слабовыраженные реакции как сомнительные.

Применение индекса реакции (RI) позволило определить диагностическую значимость тестовых субстанций (солей металлов), использованных в данном исследовании для кожного аппликационного аллeрготестирования. Выявить те из них, в отношении которых регистрируется наибольшее количество сомнительных или малодостоверных результатов. Для большинства, использованных в работе тестовых субстанций IR был положительным или слабоотрицательным, что позволяет сделать заключение о пригодности использованных материалов для проведения исследований подобного рода. Наименьшие значения RI зарегистрированы для TiCl<sub>3</sub> (-0,33), CuCl<sub>2</sub> (-0,14) и CoCl<sub>2</sub> (-0,14). Достаточно большое количество сомнительных результатов в отношении солей этих металлов может быть объяснено высокой концентрацией (3%) соли в тестовой субстанции, что может и быть причиной раздражающего действия.

Полученные в результате выполнения исследований данные подтверждают актуальность изучаемой проблемы и подчеркивают необходимость проведения дальнейших углубленных исследований в данном направлении.

#### Литература

1. Диагностика, клиника и лечение непереносимости к металлам в полости рта: Метод.рекомендации / Сост. А.К. Творус с др. – Ставрополь, 1993. – 13 с.
2. Марков Б.П., Жириков Ю.А. Профилактика непереносимости металлических включений в полости рта // Стоматология. – 1995. – Т.74, N1. – С. 52-54

3. Мойсейчик П.Н. Диагностика и профилактика аллергии на зубопротезные материалы // Организация, профилактика и реабилитация в стоматологии: Тез. докл 2 съезда врачей-стоматологов БелССР.-Минск, 1987. Ч.1. – С. 92-93
4. Мойсейчик П.Н., Скепьян А.Н. Формирование аллергических реакций в зависимости от сочетанного воздействия гаптеннов // Состояние стоматологической помощи населению и пути ее усовершенствования в условиях переходной экономики: Материалы 3 съезда стоматологов Беларуси. – Минск, 1997. – С. 214
5. Прогнозирование, диагностика и профилактика аллергических реакций в ортопедической стоматологии: Метод. Рекомендации // Сост.: П.Н.Мойсейчик, Н.А. скепьян, Л.С. Величко, С.А. Наумович. – Минск, 1999. – 23 с.
6. Abdollahi M., Radfar M. A Review of Drug-Induced Oral Reaction J Contemp Dent Pract 2003 February;(4)1:010-031
7. Bencko V. Nickel: a review of its occupational and environmental toxicology. J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol 1983;27:237-17.
8. Bergman M. Corrosion in the oral cavity--potential local and systemic effects. Int Dent J 1986; Mar;36(1):41-44
9. Bolewska J, Holmstrup P, Moller-Madsen B, et al. Amalgam associated mercury accumulations in normal oral mucosa, oral mucosa lesions of lichen planus and contact lesions associated with amalgam. J Oral Pathol Med 1990;19:39-42
10. Bolewska J, Reibel J. T lymphocytes, Langerhans cells and HLA-DR expression on keratinocytes in oral lesions associated with amalgam restorations. J Oral Pathol Med 1989;18:525-8
11. Brasch J, Geier J, Henseler T. Evaluation of patch test results by use of the reaction index. An analysis of data recorded by the Information Network of Departments of Dermatology (IVDK). Contact Dermatitis 1995; 33: 375–380.
12. Brasch J, Henseler T. The reaction index – a parameter to assess the quality of patch test preparations. Contact Dermatitis 1992; 27: 203–204.
13. Brostoff J, Scadding GK, Male D, Roitt IM, eds. Clinical immunology. Londres: Gower medical ed; 1992. p. 14.9-14.11
14. Brune D. Metal release from dental biomaterials. Biomaterials 1986; 7:163-175.
15. Bumgardner JD, Lucas LC. Corrosion and cell culture evaluations of nickel-chromium dental casting alloys. J Appl Biomater 1994; 5:203-13
16. Burrows D. Hypersensitivity to mercury, nickel and chromium in relation to dental materials. Int Dent J 1986;36:30-4.
17. Fisher JR, Rosenblum GA, Thomson BD. Asthma induced by nickel. J Am Med Assoc 1982;248:1065-6.
18. Fregert S. Manual of contact dermatitis. 2nd ed. Copenhagen; Munksgaard, 1981;71-83
19. Garhammer P, Schmalz G, Hiller HA, Reitingner T, Stolz W. Patients with local adverse effects from dental alloys: frequency, complaints, symptoms, allergy. Clin Oral Invest 2001; 5:240
20. Goebeler M, Meinardus-Hager G, Roth J, Goerdt S, Sorg C. Nickel chloride and cobalt chloride, two common contact sensitizers, directly induce expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), and endothelial leukocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) by endothelial cells. J Invest Dermatol 1993;100:759-65.



21. Hensten-Pettersen A. Casting alloys: side-effects. *Adv Dent Res* 1992; 6:38-43.
22. Holmstrup P. Reactions of the oral mucosa related to silver amalgam: a review. *J Oral Pathol Med* 1991;20:1-7
23. Klein CL, Nieder P, Wagner M, Kùhler H, Bittinger F, Kirkpatrick CJ. The role of metal corrosion in inflammatory processes: induction of adhesion molecules by heavy metal ions. *J Mater Sci: Mater Med* 1994; 5:798-807
24. McGivern B, Pemberton M, Theaker ED, Buchanan JA, Thornhill MT. Delayed and immediate hypersensitivity reactions associated with the use of amalgam. *Br Dent J* 2000;188:73-6.
25. Porter SR, Scully C. Adverse drug reactions in the mouth. *Clin Dermatol.* 2000 Sep-Oct;18(5):525-32.
26. Roitt IM, Brostoff J, Male DK. Immunology. St Louis: CV Mosby; 1989. p. 22.1-9.
27. Schmalz G, Arenholt-Bindslev D, Pfuller S, Schweikl H. Cytotoxicity of metal cations used in dental cast alloys. *ATLA* 1997; 25:323-330.
28. Schmalz G. Biological interactions of dental cast alloys with oral tissues. *Trans Acad Dent Mater* 1999; 13:97-114.
29. Vandekerckhove R, Temmerman E, Verbeeck R. Electrochemical research on the corrosion of orthodontic nickel-titanium wires. *Material Science Forum* 1998;289:1289-98.
30. Veien N. Clinical features. En: Rycroft R, Menne T eds. *Textbook of contact dermatitis*. Berlin: Springer-Verlag; 1992. p. 154-204.
31. Wataha JC, Craig RG, Hanks CT. Release of elements of dental casting alloys into cell-culture medium. *J Dental Res* 1991; 70:1014-8
32. Wataha JC, Ratanasathien S, Hanks CT, Sun Z. In vitro IL-1b and TNF-arelease from THP-1 monocytes in response to metal ions. *Dent Mater* 1996; 12:322-327.