

И.Ю. Карпук

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Clinical value of the slowed-down and immediate allergy to metal inclusions in an oral cavity

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

Аннотация

Состав и структурное состояние металлических сплавов, являются определяющими свойствами оказывающие влияния на организм человека [1, 2].

Катионы металлов, выделяемые из сплавов, могут оказывать неблагоприятное воздействие на организм в целом, что прояв-

ляется в виде субъективных и объективных признаков [3-6].

В сыворотке крови у пациентов с аллергией находят антитела к различным аллергенам, в том числе и к металлам. Наибольшее количество свободных антител в крови пациента появляется через несколько дней после контакта с аллергеном. В острый период реакции титр их обычно снижен, а при затихании обострения повышается. Большую роль в алергодиагностике играют антитела класса IgE, ответственные за анафилактический тип аллергической реакции и выявляемые в высоком титре в сыворотке крови [7-12].

Эта статья посвящена выявлению сенсибилизации к металлам путем обнаружения IgE-антител в сыворотке крови с использованием иммуноферментного анализа (ИФА) и реакции дегрануляции тучных клеток (РДТК), а также оценки сенсибилизации лейкоцитов в реакции алергениндуцированного повреждения лейкоцитов (РАПЛ) и анализу полученных результатов.

Цель исследования: анализ результатов диагностики аллергии на металлы, проведенной с использованием аппликационных проб, реакции алергениндуцированного повреждения лейкоцитов, реакции дегрануляции тучных клеток и иммуноферментного анализа.

Для достижения поставленной цели нами были сформированы группы пациентов с переносимостью металлических изделий, с резкоположительными, сильноположительными и положительными реакциями по результатам аппликационных проб (АП) через 24-48 часов, к солям NiCl₂ (n=20), CrCl₃ (n=20), CoCl₂ (n=20), CuCl₂ (n=20), составивших исследуемую группу.

Контрольную группу составили 20 практически здоровых человек сопоставимых по полу и возрасту с пациентами исследуемых групп.

Аппликационные пробы

Для постановки кожных проб в качестве тестовых субстанций нами были использованы соли NiCl₂ (3%), CrCl₃ (3%), CoCl₂ (1%), CuCl₂ (0,5%), встречающиеся в составе неблагородных и благородных сплавов, которые характеризовались чистотой 99%.

Постановка аппликационного тестирования с вышеуказанными солями осуществлялась на вазелиновой основе с использованием в качестве аппликатора лейкопластыря «Унипласт фиксирующий» 5x500 см.

Результаты постановки АП оценивались через 3, 24 и 48 часов.

В качестве негативного контроля использовался чистый медицинский вазелин. Обследовали методами *in vitro* пациентов с положительными реакциями через 24 и/или 48 часов.

Обновление диагностических растворов проводили не реже 2-3 недель.

Определение IgE-антител к металлам методом ИФА.

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

В качестве аллергенов были использованы алергодиски с Ni-HSA, Cr-HSA, Co-HSA, Au-HSA.

Кровь забирали из вены в пробирку и получали сыворотку. Сыворотку хранили в течение 2-3 дней при температуре 2-8°C. Специфические IgE-антитела, присутствующие в сыворотке пациента с аллергией на металлы, при внесении сыворотки в планшету и инкубации 1 час при 37°C присоединялись к ионам металлов (аллергенам), ковалентно связанным с целлюлозными дисками. Неспецифические IgE удаляли при промывке. Фермент-меченые анти-IgE добавляли в систему и инкубировали 1 час при 37°C, после чего образовывался комплекс алерген-IgE-анти-IgE-щелочная фосфатаза. После последующей промывки добавляли хромогенный субстрат (раствор *p*-нитрофенилфосфата – *p*-NPP), что приводило к развитию желтой окраски реакционной смеси, интенсивность которой измеряли фотометрически (405 нм).

Для получения сопоставимых результатов различных серий опытов и исключения зависимости от активности компонентов иммуноферментной реакции результаты ИФА выражали в условных единицах (EU, Elisa Units), рассчитанных по формуле 1 [3]:

$$EU = (OD \text{ оп. X } OD \text{ ср.сч.}) : (OD \text{ оп.сч.}) \times 100\% \quad (1)$$

где: EU – значение скорректированной активности ИФА;

OD оп. – оптическая плотность в лунке с исследуемым образцом в данном опыте;

OD оп.ст. – оптическая плотность в лунке с положительной контрольной сывороткой в данном опыте;

OD ср.ст. – средняя оптическая плотность в лунках с положительной контрольной сывороткой в серии из независимых опытов.

Положительной реакцию считали: при визуальной оценке результатов: окраска опытной пробы была более желтая, чем пробы отрицательного контроля, и легко различима. По окрашенной шкале – оценка от «+» до «+++». В других случаях реакцию трактовали как сомнительную; при фотометрической оценке результатов: оптическая плотность опытной пробы превышала оптическую плотность пробы отрицательного контроля не менее чем вдвое, и она не менее 0,600. При превышении оптической плотности опытной пробы по сравнению с пробой отрицательного контроля менее чем в 2 раза, а также в других случаях результат считали сомнительным.

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 NiCl_2 , CrCl_3 , 0,005% раствор CoCl_2 и 0,001% раствор CuCl_2 не вызывают неспецифического повреждения лейкоцитов в реакции алергениндуцированного 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 2×10^6 в 1мл.

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°C в течение 30 мин. Все пробы дублировали. После инкубации смесь центрифугировали при 1000 об/мин 5 мин, надосадочную жидкость сливают, добавляют 2 капли 0,1% раствора трипанового синего, ресуспендировали и подсчитывали в камере Горяева процент окрашенных лейкоцитов.

Цитотоксический индекс (ЦИ) рассчитывали по формуле 2:

$$(a-b):a \times 100\% \quad (2)$$

где: а – процент окрашенных клеток в опыте после инкубации с аллергеном; б – то же, но в опыте без алергена [1].

Интерпретация результатов

Цитотоксические индексы больше 0,15 или присутствие более 15% поврежденных клеток в опыте по сравнению с контролем, указывают на наличие сенсibilизации лейкоцитов к испытуемому аллергену, т.е. на его алергическую этиологическую роль в данном заболевании.

Диагностика IgE зависимой аллергии с использованием РДТК.

1. Подготовка исследуемой сыворотки.

Кровь больного, взятую путем венепункции, в количестве 5-7 мл обводили по краю стеклянной палочкой, отстаивали до образования сгустка, затем центрифугировали при 1500 об/мин, после этого отбирают сыворотку в пробирку. Сыворотку хранили при -20°C до исследования, не допуская повторно замораживания и отмораживания.

2. Получение тучных клеток мыши.

Мышь декапитировали, в брюшную полость вводили 5-8 мл подогретого до 37°C 0,9 % раствора NaCl , приготовленного на 0,15 М фосфатном буфере рН 7,2, и оставляли мышь на 20 минут периодически массируя ее переднюю брюшную стенку. Затем полойно 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 минуты дважды, добавляя по 2 мл зубуференного 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 толуидинового синего и подсчитывали камере Горяева окрашенные клетки.

3. Приготовление растворов аллергенов в рабочей концентрации.

В качестве аллергенов использовали 0,01% растворы NiCl_2 , CrCl_3 , CoCl_2 и CuCl_2 разведенные раствором Хенкса.

4. Приготовление красителя толуидинового синего 0,025% спиртового раствора: 25 мл краски растворяли в 100 мл 30% этилового спирта, рН которого доводят до 3,2-3,4 добавлением ледяной уксусной кислоты, примерно 0,03-0,04мл 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 снова инкубировали 15 минут при 37°C, а затем вносили по 0,02 мл растворов аллергенов и снова инкубировали при тех же условиях еще 15 минут.

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 3:

$$X = (K - O) : K \times 100\% \quad (3)$$

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%, 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.

Для статистической обработки результатов исследования использована прикладная программа Statistica 6.0.

Анализ результатов диагностики аллергии к Ni²⁺ in vitro и in vivo

В опытную группу (n=20) были включены 5 (25%) пациентов с резкоположительными и 15 (75%) с сильноположительными реакциями к NiCl₂ по данным АП.

По спектру положительных результатов к Ni-HSA в опытной группе IgE-антитела встречались у 12 (60%) пациентов в ИФА, к раствору соли NiCl₂ в РДТК – у 11 (55%), а РАПЛ была положительна у 16 (80%) пациентов (таблица 1).

При этом положительные результаты в РАПЛ и ИФА одновременно наблюдались у 9 (45%) пациентов. IgE-положительными по ИФА и отрицательными в РАПЛ одновременно были 4 (20%) пациента. IgE-отрицательными и положительными по РАПЛ одновременно были 7 (35%) пациентов (таблица 2).

В РАПЛ и РДТК положительными были 8 (40%) пациентов; по РАПЛ положительными и отрицательными по РДТК были 9 (45%) пациентов; по РАПЛ отрицательными и положительными по РДТК были 3 (15%) пациента и у 1 (5%) пациента оба теста были отрицательными.

Результаты РДТК и ИФА были положительными у 10 (50%) пациентов; РДТК отрица-

Таблица 1. Результаты обследования пациентов с непереносимостью металлических изделий на наличие сенсibilизации к Ni²⁺, определяемой в РАПЛ, РДТК и ИФА (n=20)

Методы диагностики in vitro	Положительные реакции n (%)	Отрицательные реакции n (%)
ИФА	12 (60%)	8 (40%)
РДТК	11 (55%)	9 (45%)
РАПЛ	16 (80%)	4 (20%)

тельным и ИФА положительным был 1 (5%) пациент; РДТК положительным и ИФА отрицательным был 1 (5%) пациент; отрицательными в РДТК и ИФА были 8 (40%) пациентов.

При обследовании сывороток крови пациентов контрольной группы IgE-антитела к Ni-HSA выявлены не были; к раствору соли NiCl₂ в РДТК у 1 (5%) пациента; сенсibilизация лейкоцитов к раствору соли NiCl₂ по РАПЛ установлена у 1 (5%) пациента (таблица 3).

Корреляционный анализ полученных данных с Ni²⁺ выявил следующие зависимости: 1) прямую сильную корреляцию РАПЛ и АП с NiCl₂ (3%) (R=0,75; p=0,0001); 2) прямую умеренную корреляцию АП с NiCl₂ (3%) с РДТК (R=0,48; p=0,03) и ИФА (R=0,45; p=0,04); 3) прямую сильную корреляцию РДТК и ИФА (R=0,82; p=0,0001); 4) прямую умеренную корреляцию РАПЛ с РДТК (R=0,61; p=0,004) и с ИФА (R=0,4; p=0,03).

Анализ результатов диагностики аллергии к Cr³⁺ *in vitro* и *in vivo*.

В группу с непереносимостью хрома включены 6 (30%) пациентов с резкоположительными и 14 (70%) пациентов сильноположительными реакциями к раствору соли CrCl₃ по данным АП.

По спектру положительных результатов к Cr-HSA в опытной группе IgE-антитела встречались у 14 (70%) пациентов по ИФА и у 8 (40%) к раствору соли NiCl₂ по РДТК, а РАПЛ была положительна у 17 (85%) пациентов (таблица 4).

При этом положительные результаты в РАПЛ и ИФА одновременно наблюдались у 11 (55%) пациентов. IgE-положительными и отрицательными по РАПЛ одновременно были 3 (15%) пациента. IgE-отрицательными и положительными в РАПЛ одновременно были 6 (30%) пациентов (таблица 5).

Таблица 2. Соотношение результатов обследования пациентов опытной группы на наличие сенсibilизации к Ni²⁺, определяемой в РАПЛ, РДТК и ИФА (n=20)

Методы диагностики <i>in vitro</i>	РАПЛ+ n (%)	РАПЛ- n (%)	ИФА IgE+ n (%)	ИФА IgE- n (%)
ИФА IgE +	9 (45%)	4 (20%)	-	-
ИФА IgE -	7 (35%)	-	-	-
РДТК+	8 (40%)	3 (15%)	10 (50%)	1 (5%)
РДТК-	9 (45%)	1 (5%)	1 (5%)	8 (40%)

Таблица 3. Результаты обследования пациентов контрольной группы на наличие сенсibilизации к Ni²⁺, определяемой в РАПЛ, РДТК и ИФА (n=20)

Методы диагностики <i>in vitro</i>	Положительные реакции n (%)	Отрицательные реакции n (%)
ИФА	0	20 (100%)
РДТК	1 (5%)	19 (95%)
РАПЛ	1 (5%)	19 (95%)

Таблица 4. Результаты обследования пациентов с непереносимостью металлических изделий на наличие сенсibilизации к Cr³⁺, определяемой в РАПЛ, РДТК и ИФА (n=20)

Методы диагностики <i>in vitro</i>	Положительные реакции n (%)	Отрицательные реакции n (%)
ИФА	14 (70%)	6 (30%)
РДТК	8 (40%)	12 (60%)
РАПЛ	17 (85%)	3 (15%)

В РАПЛ и РДТК положительными были 5 (25%) пациентов; по РАПЛ положительными и отрицательными по РДТК были 12 (60%) пациентов; по РАПЛ отрицательными и положительными по РДТК были 2 (10%) пациента и отрицательным по РАПЛ и РДТК был 1 (5%) пациент.

Результаты РДТК и ИФА были положительными у 7 (35%) пациентов; РДТК отрицательным и ИФА положительным были 7 (35%) пациентов; РДТК положительным и ИФА отрицательным был 1 (5%) пациент; отрицательными по РДТК и ИФА были 5 (25%) пациентов.

У пациентов контрольной группы обнаружены IgE-антитела к Cr -HSA методом ИФА у 1 (5%) пациента; сенсibilизация к раствору солей CrCl₃ в РДТК и по РАПЛ обнаружена у 1 (5%) пациента (таблица 6).

Корреляционный анализ полученных данных с Cr³⁺ выявил следующие зависимости: 1) прямую сильную корреляцию РАПЛ и АП с CrCl₃ (3%) (R=0,79; p=0,0002); 2) прямую умеренную корреляцию АП с CrCl₃ (3%) с РДТК

(R=0,44; p=0,04) и ИФА (R=0,49; p=0,02); 3) прямую умеренную корреляцию РДТК и ИФА (R=0,68; p=0,0007); 4) прямую умеренную корреляцию РАПЛ с РДТК (R=0,55; p=0,01) и с ИФА (R=0,052; p=0,01).

Анализ результатов диагностики аллергии к Co²⁺ in vitro и in vivo

В группу пациентов с непереносимостью кобальта вошли ранее обследованные 7 (35%) пациентов с резкоположительными, 8 (40%) пациентов с сильноположительными и 5 (25%) пациентов с положительными реакциями к раствору соли CoCl₂ по данным АП.

Методом ИФА IgE-антитела к Co-HSA выявлены у 11 (55%) пациентов, с помощью РДТК сенсibilизация к раствору соли CoCl₂ обнаружена у 14 (70%) пациентов, а РАПЛ была положительна у 18 (90%) пациентов (таблица 7).

Положительные результаты по РАПЛ и ИФА одновременно наблюдались у 10 (50%) пациентов. IgE-положительными и отрицательными по РАПЛ одновременно были 8 (40%) пациен-

Таблица 5. Соотношение результатов обследования пациентов опытной группы на наличие сенсibilизации к Cr³⁺, определяемой в РАПЛ, РДТК и ИФА (n=20)

Методы диагностики in vitro	РАПЛ+ n (%)	РАПЛ- n (%)	ИФА IgE+ n (%)	ИФА IgE- n (%)
ИФА IgE +	11 (55%)	3 (15%)	-	-
ИФА IgE -	6 (30%)	-	-	-
РДТК+	5 (25%)	2 (10%)	7 (35%)	1 (5%)
РДТК-	12 (60%)	1 (5%)	7 (35%)	5 (25%)

Таблица 6. Результаты обследования пациентов контрольной группы на наличие сенсibilизации к Cr³⁺, определяемой в РАПЛ, РДТК и ИФА (n=20)

Методы диагностики in vitro	Положительные реакции n (%)	Отрицательные реакции n(%)
ИФА	1 (5%)	19 (95%)
РДТК	1 (5%)	19 (95%)
РАПЛ	1 (5%)	19 (95%)

Таблица 7. Результаты обследования пациентов с непереносимостью металлических изделий на наличие сенсibilизации к Co²⁺, определяемой в РАПЛ, РДТК и ИФА (n=20)

Методы диагностики in vitro	Положительные реакции n (%)	Отрицательные реакции n (%)
ИФА	11 (55%)	9 (45%)
РДТК	14 (70%)	6 (30%)
РАПЛ	18 (90%)	2 (10%)

тов. По РАПЛ и ИФА одновременно были 2 (10%) пациента (таблица 8).

По РАПЛ и РДТК положительными были 13 (65%) пациентов; по РАПЛ положительными и отрицательными по РДТК были 4 (20%) пациентов; по РАПЛ отрицательными и положительными по РДТК 1 (5%) пациент и отрицательными по РАПЛ и РДТК были 2 (10%) пациента.

Результаты РДТК и ИФА были положительными у 10 (50%) пациентов; РДТК отрицательным и ИФА положительным были 4 (20%) пациентов; РДТК положительным и ИФА отрицательным были 4 (20%) пациента; отрицательными по РДТК и ИФА были 6 (30%) пациентов.

В контрольной группе пациентов (n=20) IgE-антитела к Co-HSA методом ИФА выявлены не были; к раствору соли CoCl_2 по РДТК сенсibilизация отмечена у 2 (10%) пациентов; по РАПЛ сенсibilизация лейкоцитов к раствору соли CoCl_2 выявлена у 1 (5%) пациента (таблица 9).

Корреляционный анализ полученных данных с Co^{2+} выявил следующие зависимости: 1) прямую сильную корреляцию РАПЛ и АП с CoCl_2 (1%) ($R=0,9$; $p=0,00001$); 2) прямую умеренную корреляцию АП с ИФА ($R=0,45$; $p=0,04$) и АП CoCl_2 (1%) с РДТК ($R=0,55$; $p=0,01$); 3) прямую сильную корреляцию РДТК и ИФА ($R=0,87$; $p=0,0001$); 4) прямую умеренную корреляцию РАПЛ с РДТК ($R=0,57$; $p=0,009$) и РАПЛ с ИФА ($R=0,53$; $p=0,01$).

Анализ результатов диагностики аллергии к Au-HSA и CuCl_2 in vitro и in vivo

Известно, что золото инертно по своей биологической сути и не может вызывать аллергических реакций, однако входящая в состав его сплавов медь (до 6%), чаще всего является причинной в возникновении аллергических реакций к золотому сплаву. Поэтому целью данного раздела явилось определение сенсibilизации к меди, у пациентов с непереносимостью изделий из сплавов золота, с одновременным определением IgE-антитела к Au-HSA методом ИФА для установления причинных аллергенов в развитии непереносимости у пациентов, пользующихся золотыми изделиями.

В данную группу вошли пациенты с непереносимостью изделий из сплавов золота по анамнезу и по данным объективного обследования, из которых у 1(5%) пациента отмечена резкоположительная реакция, 7(35%) пациентов сильноположительные и 12(60%) пациентов положительные реакции к раствору соли CuCl_2 in vivo.

С использованием РДТК сенсibilизация к раствору соли CuCl_2 обнаружена у 11(55%) пациентов, а РАПЛ была положительна у 15 (75%) пациентов (таблица 10).

По РАПЛ и РДТК положительными были 5 (25%) пациентов; по РАПЛ положительными и

Таблица 8. Соотношение результатов обследования пациентов опытной группы на наличие сенсibilизации к Co^{2+} , определяемой в РАПЛ, РДТК и ИФА (n=20)

Методы диагностики in vitro	РАПЛ+ n (%)	РАПЛ- n (%)	ИФА IgE+ n (%)	ИФА IgE- n (%)
ИФА IgE +	11 (55%)	-	-	-
ИФА IgE -	8 (40%)	1 (5%)	-	-
РДТК+	13 (65%)	1 (5%)	10 (50%)	4 (20%)
РДТК-	4 (20%)	2 (10%)	-	6 (30%)

Таблица 9. Результаты обследования пациентов контрольной группы на наличие сенсibilизации к Co^{2+} , определяемой в РАПЛ, РДТК и ИФА (n=20)

Методы диагностики in vitro	Положительные реакции n (%)	Отрицательные реакции n (%)
ИФА	0	20 (100%)
РДТК	2 (10%)	18 (90%)
РАПЛ	1 (5%)	19 (95%)

отрицательными по РДТК были 10 (50%) пациентов; по РАПЛ отрицательными и положительными по РДТК были 3 (15%) пациента и 1 (5%) пациент с отрицательными реакциями по РАПЛ и РДТК (таблица 11).

В контрольной группе по РДТК и по РАПЛ сенсibilизация к раствору соли CuCl_2 выявлена у 1 (5%) пациента (таблица 12).

Методом ИФА IgE-антитела к Au-HSA были выявлены у 1(5%) пациента, а в контрольной группе пациентов IgE-антитела выявлены не были.

Корреляционный анализ полученных данных с CuCl_2 и Au-HSA выявил следующие зависимости: 1) прямую умеренную корреляцию РАПЛ и АП ($R=0,67$; $p=0,001$); 2) отсутствие корреляции АП с CuCl_2 (0,5%) и РДТК ($R=0,18$; $p=0,44$) и ИФА(Au-HSA) ($R=0,02$; $p=0,95$); 3) отсутствие корреляции РДТК и ИФА(Au-HSA) ($R= -0,44$; $p=0,55$); 4) отсутствие корреляции РАПЛ с РДТК ($R= -0,18$; $p=0,32$) и с ИФА (Au-HSA) ($R=0,08$; $p=0,72$).

Совокупность результатов, полученных в ходе выполнения работы по диагностике аллергии на металлы у пациентов позволило обнаружить у больных наличие в аппликационных пробах смешанной замедленной и немедленной аллергии *in vitro* на ионы металлов. Это подтверждено прямой корреляцией аппликационных проб с методами *in vitro*, а именно: с реакцией аллергениндуцированного повреждения лейкоцитов $\text{NiCl}_2 - R=0,75$; $p=0,0001$, $\text{CrCl}_3 - R=0,79$; $p=0,0002$, $\text{CoCl}_2 - R=0,9$; $p=0,00001$, $\text{CuCl}_2 - R=0,67$; $p=0,001$; с непрямой реакцией дегрануляции тучных клеток $\text{NiCl}_2 - R=0,48$; $p=0,03$, $\text{CrCl}_3 - R=0,44$; $p=0,04$, $\text{CoCl}_2 - R=0,55$; $p=0,01$; с результатами иммуноферментного анализа на наличие IgE-антител $\text{Ni}^{2+} - R= 0,41$; $p=0,03$, $\text{Cr}^{3+} - R=0,49$; $p=0,02$, $\text{Co}^{2+} - R= 0,45$; $p=0,04$.

Результаты применения у больных различных тестов *in vitro* не были идентичными. Однако, доказано наличие прямой корреляции результатов выявления сенсibilизации к метал-

Таблица 10. Результаты обследования пациентов с непереносимостью металлических изделий на наличие сенсibilизации к раствору соли CuCl_2 , определяемой в РДТК и РАПЛ (n=20)

Методы диагностики <i>in vitro</i>	Положительные реакции n (%)	Отрицательные реакции n (%)
РДТК	11(55%)	9(45%)
РАПЛ	15 (75%)	5(25%)

2, определяемой в РАПЛ и РДТК (n=20)

Методы диагностики <i>in vitro</i>	Положительные реакции n (%)	Отрицательные реакции n (%)
РДТК+	7 (35%)	5 (25%)
РДТК-	7 (35%)	1 (5%)

Методы диагностики <i>in vitro</i>	Положительные реакции n (%)	Отрицательные реакции n (%)
РДТК	1 (5%)	19 (95%)
РАПЛ	1 (5%)	19 (95%)

лам с использованием не прямой реакции дегрануляции тучных клеток и иммуноферментного анализа: с Ni^{2+} ($R=0,82$; $p=0,0001$), с Cr^{3+} ($R=0,68$; $p=0,0007$) и с Co^{2+} ($R=0,87$; $p=0,0007$). Результаты выявления сенсibilизации к растворам солей с применением реакции аллергениндуцированного повреждения лейкоцитов прямо умеренно коррелировали с результатами не прямой реакции дегрануляции туч-

ных клеток: с $NiCl_2$ ($R=0,61$; $p=0,004$), с $CrCl_3$ ($R=0,55$; $p=0,01$), с $CoCl_2$ ($R=0,57$; $p=0,009$). Выявлена прямая умеренная корреляция результатов выявления сенсibilизации к ионам металлов с применением реакции аллергениндуцированного повреждения лейкоцитов и иммуноферментного анализа: с Ni^{2+} ($R=0,4$; $p=0,03$), с Cr^{3+} ($R=0,52$; $p=0,01$), с Co^{2+} ($R=0,53$; $p=0,01$).

1. Lygre H. Prosthodontic biomaterials and adverse reactions: a critical review of the clinical and research literature. Acta Odontol. Scand. 2002; Vol.60, №1: 1-9.
2. Wataha J.C., Messer R.L. Casting alloys. Dent. Clin. North. Am. 2004; Vol.48, №2: 499-512.
3. Максимовский Ю.М., Гринин В.М., Горбов С.И. Биосовместимость сплавов, используемых в стоматологии. Стоматология 2000; №4: 73-76
4. Beneko V. Nickel: a review of its occupational and environmental toxicology. Epidemiol. Microbiol. Immunol. 1983; Vol.27: 237-247.
5. Plaque formation in vitro on wires by gram-negative oral microorganisms (Veillonella) / H. Bladen, G. Hageage, F. Pollock et al. Arch. Oral. Biol. 1970; Vol.15, №2: 127-133.
6. Wise M.D Dykema R.W. The plaque-retaining capacity of four dental materials. J. Prosthet. Dent. 1975; Vol.33, №2: 178-190.

7. Новиков Д.К., Новикова В.И. Оценка иммунного статуса. Витебск, 1996, 282 с.
8. Новиков Д.К., Сергеев Ю.В., Новиков П.Д. Лекарственная аллергия. М., 2001, 311 с.
9. Новиков П.Д. Иммуноаллергодиагностика. Витебск, 2006, 250 с.
10. Новиков Д.К. Клиническая иммунопатология. М., 2009, 480 с.
11. Хаитов Р.М., Ильина Н.И. Аллергология и иммунология. Национальное руководство. ГЭОТАР-Медиа, 2009, 380 с.
12. Alanko K., Kanerva L., Jolanki R. et al. Oral mucosal disease investigated by patch testing with a dental screening series. Contact Dermatitis 1996; Vol. 34: 263-267.

Сведения об авторах:

Карпук Иван Юрьевич – доцент кафедры общей стоматологии с курсом ортопедической стоматологии.

Контакты: 210029, Республика Беларусь, г. Витебск, ул. Правды, д. 66, кв. 112., тел. раб.: +375 212 22-53-80, тел. моб.: +375 29 711-97-36, e-mail: iкаrpuk@mail.ru, Карпук Иван Юрьевич.

Поступила 19.05.2014 г.