

ВЛИЯНИЕ БАЗИСНЫХ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ НА ПОКАЗАТЕЛИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ И АНТИОКСИДАНТНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КРОВИ БЕЛЫХ КРЫС (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

INFLUENCE OF BASIC DENTAL MATERIALS ON INDICATORS OF FREE RADICAL OXIDATION AND ANTIOXIDANT BLOOD'S POTENTIAL OF WHITE RATS (EXPERIMENTAL STUDY)

Виталий С. Кузь, Валентин Н. Дворник, Виталий А. Костенко, Гельфира М. Кузь, Олег Е. Акимов

ВИСШЕЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧЕБНОЕ ЗАВЕДЕНИЕ УКРАИНЫ «УКРАИНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ», ПОЛТАВА, УКРАИНА

Vitalii S. Kuz', Valentyn N. Dvornyk, Vitalii A. Kostenko, Gelfira M. Kuz', Oleh Ye. Akimov

HIGHER STATE EDUCATIONAL INSTITUTION OF UKRAINE "UKRAINIAN MEDICAL STOMATOLOGICAL ACADEMY", POLTAVA, UKRAINE

РЕЗЮМЕ

Введение: Базисные материалы, которые используют в клинике ортопедической стоматологии, являются высокополимерными соединениями и имеют ряд положительных свойств при определенных условиях. Основной группой материалов для изготовления съемных конструкций являются акриловые пластмассы горячей полимеризации. Однако такие материалы иногда могут вызвать ряд осложнений. Использование съемных протезов, изготовленных из акриловых пластмасс, может вызвать развитие аллергической или токсико-химической реакции тканей протезного ложа. В связи с этим в течении многих лет вопрос повышения качества съемного протезирования остается одним из важнейших. Этого пытаются достичь путем разработки новых базисных стоматологических материалов и усовершенствования на различных этапах процесса изготовления съемных пластиночных протезов.

Цель: Исследовать возможное неблагоприятное влияние различных групп базисных стоматологических материалов на показатели крови белых крыс-самцов линии Вистар.

Материалы и методы: Эксперименты выполнены на 20 белых крысах-самцах линии Вистар массой 160-200 грамм. Выбор данного вида животных основывался на данных литературы по использованию белых крыс при изучении биологического действия пластмасс, растворителей, красителей и др. В опытах использовали свежо изготовленные образцы исследуемых материалов, так как максимальное выделение мономера происходит в первые 7 дней после полимеризации. Эвтаназию животных проводили через 7 суток после оперативного вмешательства под гексеналовым наркозом путем забора крови из правого желудочка. Объектом исследования служила венозная кровь экспериментальных животных.

Результаты: Подшивание образцов базисных материалов «Фторакс», «Deflex Acrylato» и «Vertex ThermoSens» внутримышечно в переднюю брюшную стенку белым лабораторным крысам не приводило к выраженной реакции организма животных через 7 суток. Незначительное повышение значения показателя спонтанного гемолиза эритроцитов ($5,8 \pm 0,5\%$) в группе животных, которым подшивали образец материала «Фторакс» по сравнению с контрольной группой ($4,6 \pm 0,3\%$) не имеет статистически достоверного различия. Аналогично наблюдается не существенный прирост накопления ТБК-реактантов в этой группе до величины $4,48 \pm 0,28$ мкмоль/л по сравнению с группой псевдо-оперированных животных ($3,02 \pm 0,41$ мкмоль/л), что не является статистически достоверным. Таким образом, можно констатировать, что по показателям свободно радикального окисления не обнаружено биологической реакции организма животных на инкорпорацию вышеупомянутых материалов.

Вывод: Результаты изучения биологического действия базисных стоматологических пластмасс на белых крысах, путем подшивания образцов исследуемых материалов внутримышечно в переднюю брюшную стенку, оценивались по показателям свободно радикального окисления и активностью антиоксидантных ферментов, не выявили статистически достоверных различий по сравнению с контрольной группой животных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: стоматологические пластмассы, показатели крови, «Фторакс», «Deflex Acrylato», «Vertex ThermoSens»

ABSTRACT

Introduction: Basic materials used in the clinic of orthopedic dentistry are high-polymer compounds and have a number of positive properties in certain conditions. The main group of materials for manufacturing of removable dentures is acrylic plastics of hot polymerization. However, such materials can sometimes cause a number of complications. Using removable prostheses, which are made of acrylic plastics can cause the development of an allergic or toxic-chemical reaction of tissues of the prosthetic bed. The question of improving the quality of removable prosthesis is one of the most important problems for many years because of reactions of people's organism they can cause. This aim is achieved by development of new basic dental materials and improvements at various stages of the process of manufacturing removable plate prostheses.

The aim: To investigate the possible adverse effect of various groups of basic dental materials on some hematological parameters of white male rats in the Wistar line.

Materials and methods: Experiments were performed on 20 white male Wistar rats weighing 160-200 grams. The choice of this species was based on the literature data on the use of white rats in the study of the biological effects of plastics, solvents, dyes, and others. Freshly made samples of the studied materials were used in experiments, because the maximum allocation of monomer occurs in the first 7 days after polymerization. Euthanasia of animals was performed 7 days after surgical intervention under hexenal anesthesia by blood transfusion from the right ventricle. The object of the study was the venous blood of experimental animals.

Results: On the seventh day after substrate samples of basic materials Ftorax, Deflex Acrylato and Vertex ThermoSens intramuscularly into the anterior abdominal wall, white laboratory rats did not have results, such as some unnormal reaction of the animal's organism. A slight increase in the value of the index of spontaneous hemolysis of erythrocytes ($5.8 \pm 0.5\%$) in the group of animals, which was sampled with the material "Ftorax" in comparison with the control group ($4.6 \pm 0.3\%$), has no statistically significant difference. Similarly, there is no significant increase in the accumulation of TBC-reactants in this group to a value of $4.48 \pm 0.28 \mu\text{mol/l}$ compared with the group of pseudo-operated animals ($3.02 \pm 0.41 \mu\text{mol/l}$), which is not statistically significant. Thus, it can be stated that according to the parameters of free radical oxidation, the biological reaction of the animal organism to the incorporation of the aforementioned materials was not revealed.

Conclusions: The results of the study of the biological effect of basic dental plastics on white rats by stacking samples of investigated material into the anterior abdominal wall evaluated by free radical oxidation and activity of antioxidant enzymes did not reveal statistically significant differences comparing with the control group of animals.

KEY WORDS: dental plastics, blood counts, «Ftorax», «Deflex Acrylato», «Vertex ThermoSens»

Wiad Lek 2018, 71, 2 cz. II, 319-322

ВВЕДЕНИЕ

Базисные материалы, которые используют в клинике ортопедической стоматологии, является высокополимерными соединениями и имеют ряд положительных свойств при определенных условиях. Основной группой материалов для изготовления съемных конструкций являются акриловые пластмассы горячей полимеризации. Пластмассы этой группы легко поддаются окраске, имеют высокие технологические свойства, хорошо соединяются с металлами и искусственными зубами [1, 2, 3].

Однако такие материалы могут вызвать ряд осложнений. С началом использования акриловых пластмасс связывают возникновение термина «непереносимость акриловых пластмасс», которым обозначается комплекс неприятных ощущений, которые могут проявляться при использовании таких материалов, а именно жжение, сухость во рту, гиперемия слизистой оболочки и прочее [4, 5].

Использование съемных протезов, изготовленных из акриловых пластмасс, может вызвать развитие аллергической или токсико-химической реакции тканей протезного ложа. По данным Л.Д. Гожей (1998), гематологические показатели при этом претерпевают определенных изменений [2].

Что касается причин возникновения таких осложнений, то существуют различные точки зрения. По мнению одних авторов [4, 6], возникновение неприятных ощущений во рту зависит от индивидуальных особенностей организма. Другие считают, что причиной этого является комбинированное воздействие эндо- и экзогенных факторов, соматическая патология организма, а также химико-токсическое действие акриловых пластмасс, в частности остаточного мономера, на ткани протезного ложа [5].

В связи с этим в течение многих лет вопрос повышения качества съемного протезирования остается одним из важнейших. Его решение пытаются достичь путем разработки новых базисных стоматологических материалов и усовершенствования на различных этапах процесса изготовления съемных пластиночных протезов. Это свя-

зано с тем, что физико-механические свойства базисных материалов, применяемых в клинике ортопедической стоматологии, в итоге определяют срок пользования пациентами данной конструкцией [3, 5].

Съемные пластиночные протезы для слизистой оболочки полости рта и для организма в целом являются комбинированным механическим, токсическим, аллергическим и психологическим раздражителем [9]. Поэтому в настоящее время врачи стоматологи-ортопеды все чаще используют безакриловые термопластические пластмассы, которые позволяют улучшить функциональные качества полных съемных протезов и избежать недостатков акриловых пластмасс [6].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследовать возможное неблагоприятное влияние различных групп базисных стоматологических материалов на некоторые гематологические показатели белых крыс-самцов линии Вистар.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на 20 белых крысах-самцах линии Вистар массой 160-200 грамм. Животных содержали в условиях аккредитованного вивария в оптимальных условиях (с обеспечением температурного, светового режима, полноценного питания, защиты от инфекций, шума и других негативных факторов окружающей среды) согласно «Стандартным правилам по упорядочению, оснащению и содержанию экспериментальных биологических клиник (вивариев)».

Выбор данного вида животных основывался на данных литературы по использованию белых крыс при изучении биологического действия пластмасс, растворителей, красителей и др.

Для содержания животных использовали просторные клетки, каждая из которых имела соответствующую отметку, что свидетельствовало о принадлежности к той или иной

Таблица I. Распределение экспериментальных групп животных

№	Характеристика групп	К-во
1	Контрольная (псевдо-оперированные животные)	5
2	Опытная (подшивание образца «Фторакс»)	5
3	Опытная (подшивание образца «Deflex Acrylato»)	5
4	Опытная (подшивание образца «Vertex ThermoSens»)	5

Таблица II. Биохимические методы исследования

Параметр, который изучается	Авторы метода, литературные источники
Спонтанный гемолиз эритроцитов	Покровский А.А., Абраров А.А. (1964)
ТБК-реактанты	Кайдашев И.П. и співавт. (2003)
СОД	Брусков О.С. и соавт. (1976)
Каталаза	Кайдашев И.П. и співавт. (2003)
Церулоплазмин	Кайдашев И.П. и співавт. (2003)

Таблица III. Схема выполнения исследования

Исследование	Контроль
3 мл буферного раствора	3 мл буферного раствора
0,1 мл сыворотки крови	0,1 мл сыворотки крови
1 мл 0,9% хлорида натрия	1 мл 0,1% азида натрия
Пробы перемешать и выдержать при комнатной температуре 20 минут. Добавить в обе пробы по 1 мл дифенилпарафенилэндиамин, после чего выдержать в термостате 30 минут при температуре 37°C.	
1 мл 0,1% азида натрия	1 мл 0,9% хлорида натрия

группе исследуемых животных. При работе с животными придерживались требований «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в эксперименте и других научных целях» (Страсбург, 18.03.1986 г.), «Общих принципов экспериментов на животных», принятых Первым национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2000). Комиссией по вопросам биоэтики Высшего государственного учебного заведения Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия» нарушений морально-этических норм при проведении научно-исследовательской работы не выявлено. Все животные были разделены на 4 группы (таблица I).

Подшивание образца исследуемого материала проводили внутримышечно в переднюю брюшную стенку. Оперативные вмешательства проводили под гексеналовым наркозом из расчета 10 мг/кг массы животного.

В опытах использовали свежо изготовленные образцы исследуемых материалов, так как максимальное выделение мономера происходит в первые 7 дней после полимеризации [2]. В основу расчета веса исследуемых образцов положен количественный пропорциональный принцип применения базисного полимерного материала для изготовления одного комплекта полного съемного протеза для человека весом 75 кг, что составляет в среднем 15 грамм. Для лабораторной крысы весом в среднем 180 грамм эта величина составляет 0,036 грамма, а при десятикратном увеличении в условиях эксперимента - 0,36 грамм. Размеры образцов были в пределах 0,7×0,7×0,1 см.

Эвтаназию животных проводили через 7 суток после оперативного вмешательства под гексеналовым наркозом путем забора крови из правого желудочка. Объектом исследования служила венозная кровь экспериментальных животных. Показатели, которые изучались, приведены в таблице II.

Определение спонтанного гемолиза эритроцитов.

Готовят суспензию эритроцитов путем смешивания 0,1 мл крови с 7,5 мл забуференного изотонического раствора хлорида натрия. Дважды отмывают путем центрифугирования. В три пробирки для центрифуги наливают по 1 мл суспензии; в первые две пробирки добавляют по 4 мл забуференного изотонического раствора хлорида натрия, а в третью - 4 мл дистиллированной воды (для полного гемолиза). Пробы перемешивают и ставят на 2 часа в термостат при температуре 38°C.

По окончании инкубации содержимое пробирок перемешивают, центрифугируют 10 мин при 1000 об/мин и измеряют экстинкцию всех проб против дистиллированной воды при 540 нм в кювете толщиной 1 см.

Расчет проводят по формуле:

$$\chi = \frac{(E_1 + E_2)100}{2E_3},$$

де: χ - степень гемолиза, %;

E_1 и E_2 - экстинкция первой и второй проб;

E_3 - экстинкция третьей пробы [8].

Таблица IV. Влияние внутримышечной имплантации образцов материалов «Фторакс», «Deflex Acrylato» и «Vertex ThermoSens» на показатели свободно радикального окисления в крови подопытных животных ($M \pm m$, $n=20$)

Показатели	Контрольная группа	Опытные группы (подшивание образца материала)		
		Фторакс	Deflex Acrylato	Vertex ThermoSens
Спонтанный гемолиз эритроцитов (%)	4,6±0,3	5,8±0,5 $p > 0,05$	5,4±0,3 $p > 0,05$	4,9±0,4 $p > 0,05$
ТБК-реактанты до инкубации, мкмоль/л	20,5±0,6	23,1±0,6 $p > 0,05$	21,1±0,7 $p > 0,05$	22,4±0,3 $p > 0,05$
ТБК-реактанты после инкубации, мкмоль/л	23,5±0,6	27,6±0,8 $p > 0,05$	23,3±0,6 $p > 0,05$	24,5±0,5 $p > 0,05$
Прирост ТБК-реактантов, мкмоль/л	3,02±0,41	4,48±0,28 $p > 0,05$	2,1±0,2 $p > 0,05$	2,06±0,28 $p > 0,05$

Таблица V. Влияние внутримышечной имплантации образцов материалов «Фторакс», «Deflex Acrylato» и «Vertex ThermoSens» на показатели активности ферментов антиоксидантной защиты в крови подопытных животных ($M \pm m$, $n=20$)

Показатели	Контрольная группа	Опытные группы (подшивание образца материала)		
		Фторакс	Deflex Acrylato	Vertex ThermoSens
СОД (ед. акт.)	1,81±0,02	2,01±0,03 $p > 0,05$	1,90±0,03 $p > 0,05$	1,88±0,03 $p > 0,05$
Каталаза (мкат/л)	0,95±0,02	1,24±0,04 $p > 0,05$	1,11±0,09 $p > 0,05$	1,09±0,05 $p > 0,05$
Церулоплазмин (мг/л)	23,5±0,7	25,8±0,6 $p > 0,05$	23,9±0,5 $p > 0,05$	24,5±0,8 $p > 0,05$

Примечание: сравнение проведено с показателями контрольной группы животных

Определение концентрации ТБК-реактантов.

Концентрацию ТБК-реактантов определяли тиобарбитуровым методом [7]. Принцип метода основан на способности 2-тиобарбитуровой кислоты (ТБК) образовывать устойчивый окрашенный комплекс с малоновым диальдегидом и прочими промежуточными оксопродуктами ПОЛ. Прирост концентрации ТБК-реактантов при 1,5-часовой инкубации тканей дает информацию о состоянии АОС.

Определение активности супероксиддисмутазы.

Определение активности супероксиддисмутазы (СОД) проводили по методу А.С. Брусовой и соавт. [1]. Принцип метода заключается в том, что СОД ингибирует автоокисление адреналина. По разнице скорости реакции без добавления биологического материала и с его добавлением вычисляют активность фермента.

Определение активности каталазы.

Определение активности каталазы проводили по методу О. Архиповой [7], в основе которого находится способность каталазы, содержащейся в биоматериале, раскладывать пероксид водорода. Количество пероксида водорода, оставшегося в пробе, определяют титрованием 0,1 н раствором калия перманганата.

Определение церулоплазмينا.

Принцип метода: церулоплазмин способен окислять диамин. Окисленный диамин дает розовую окраску при реакции с дифенилпарафенилэндиамином, интенсивность которого пропорциональна ферментной активности.

Выполнение исследования происходит по схеме, представленной в таблице III.

Пробы колориметрируют на СФ при длине волны 530 нм в кюветках толщиной 10 мм против дистиллированной воды.

Расчет: $(E \text{ исследования} - E \text{ контроля}) \times 100 = \text{ед. активности}$ [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ДИСКУССИЯ

Подшивание образцов исследуемых материалов проводили внутримышечно в переднюю брюшную стенку белым лабораторным крысам. Оперативные вмешательства проводили под гексеналовым наркозом из расчета 10 мг/кг массы животного. В опытах использовали свежо изготовленные образцы исследуемых материалов, так как максимальное выделение мономера происходит в первые 7 дней после полимеризации. Контрольную группу составили псевдо-оперированные животные, которым выполняли аналогичные оперативные вмешательства без подшивки исследуемых образцов.

Результаты воздействия внутримышечной имплантации образцов материалов «Фторакс», «Deflex Acrylato» и «Vertex ThermoSens» на показатели свободно радикального окисления в крови подопытных животных представлены в таблице IV.

Как видно из данных таблицы III, на седьмые сутки после подшивания образцов базисных материалов

«Фторакс», «Deflex Acrylato» и «Vertex ThermoSens» внутримышечно в переднюю брюшную стенку белым лабораторным крысам не привело к выраженной реакции организма животных. Незначительное повышение значения показателя спонтанного гемолиза эритроцитов ($5,8 \pm 0,5\%$) в группе животных, которым подшивали образец материала «Фторакс» по сравнению с контрольной группой ($4,6 \pm 0,3\%$) не имеет статистически достоверного отличия. Аналогично наблюдается не существенный прирост накопления ТБК-реактантов в этой группе до величины $4,48 \pm 0,28$ мкмоль/л по сравнению с группой псевдо-оперированных животных ($3,02 \pm 0,41$ мкмоль/л), что не является статистически достоверным. Таким образом, можно констатировать, что по показателям свободно радикального окисления не обнаружено биологической реакции организма животных на инкорпорацию вышеупомянутых материалов.

Результаты воздействия внутримышечной имплантации образцов материалов «Фторакс», «Deflex Acrylato» и «Vertex ThermoSens» на показатели активности ферментов антиоксидантной защиты в крови подопытных животных представлены в таблице 5.

Как видно из данных таблицы 4, на седьмые сутки после инкорпорации образцов базисных материалов «Фторакс», «Deflex Acrylato» и «Vertex ThermoSens» внутримышечно в переднюю брюшную стенку белым лабораторным крысам не привело к выраженной реакции организма животных, оценку которой проводили по показателям активности антиоксидантных ферментов.

ВЫВОДЫ

Результаты изучения биологического действия базисных стоматологических пластмасс на белых крысах, путем подшивания образцов исследуемых материалов внутримышечно в переднюю брюшную стенку, оценивались по показателям свободно радикального окисления и активностью антиоксидантных ферментов, не выявили статистически достоверных различий по сравнению с контрольной группой животных.

REFERENCES

1. Gozhaya L.D. Allergicheskiye zabolevaniya v ortopedicheskoy stomatologii [Allergic diseases in orthopedic dentistry]. M.: Meditsina. 1988; 160.
2. Kuz' V.S., Dvornik V.N., Teslenko A.I. i dr. Povysheniye kachestva polnogo s'yemnogo protezirovaniya stomatologicheskikh bol'nykh putem ispol'zovaniya novykh bazisnykh materialov [Upgrading of complete removable prosthetic appliance of stomatological patients by the use of new base materials]. *Widomości Lekarskie: Czasopismo Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*. 2016; LXIX:2(II): 197-203.
3. Kuz' V.S., Dvornik V.M., Kuz' H.M. Vykorystannya suchasnykh bezakrylovykh bazysnykh materialiv u klinitsi ortopedychnoyi stomatolohiyi [Use of modern non-acrylic basic materials in the clinic of orthopedic dentistry]. *Ukrayins'kyy stomatolohichnyy al'manakh*. 2016; 3:2: 40-46.

4. Kuz' V.S., Dvornik V.M., Kuz' H.M., Akimov O.YE. Vplyv bazysnykh stomatolohichnykh plastmas na pokaznyky krovi bilykh shchuriv (eksperimental'ne doslidzhennya) [Effect of Basic Dental Plastics on Blood Ratio of White Rats (experimental study)]. *Ukrayins'kyy stomatolohichnyy al'manakh*. 2017; 4: 5-8.
5. Machohan V.R., Pudyak V.YE., Machohan R.R. Vplyv bazysnykh stomatolohichnykh plastmas na hematolohichni pokaznyky krovi tvaryn [Effect of basic dental plastics on hematological blood count of animals]. *Klinichna stomatolohiya*. 2015; 1: 21-23.
6. Shcherbakov A.S., Gavrilov Ye.N., Trezubov V.N., Zhulev Ye.N. *Ortopedicheskaya stomatologiya [Orthopedic dentists]*. SPb. 1997; 566.
7. Pokrovskiy A.A., Abrarov A.A. K voprosu o perekisnoy rezistentnosti eritrotsitov. *Voprosy pitaniya [To the question of peroxidative resistance of erythrocytes]*. 1964; 6: 44-46.
8. Kaydasheva I.P., Berkalo L.V., Bobovych O.V. ta in. *Metody klinichnykh ta eksperymental'nykh doslidzhen' v medytsyni [Methods of clinical and experimental research in medicine]*. Poltava. 2003; 320.
9. Brusov O.S., Gerasimov A.M., Panchenko L.F. Vliyaniye prirodnikh ingibitorov radikal'nykh reaktsiy na avtookisleniye adrenalina. *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsyny [Effect of natural inhibitors of radical reactions on autooxidation of adrenaline. Bulletin of Experimental Biology and Medicine]*. 1976; 1: 33-35.

Данная работа выполнена в рамках НИР: «Применение современных технологий диагностики и лечения для реабилитации стоматологических больных ортопедическими методами» государственная регистрация № 0117U004778. 2016-2021 гг. Подразделение, которое выполняет НИР: кафедра ортопедической стоматологии с имплантологией ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия». Руководитель НИР: д.мед.н., профессор Дворник В.Н.

АДРЕС ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ

Виталий Кузь

Кафедра ортопедической стоматологии с имплантологией ВГУЗУ «УМСА», ул. Шевченко 23, 36011, Полтава, Украина
тел: +38 (099) 7312060
e-mail: www.dantistwww@gmail.com

Прислана: 02.12.2017

Утверждена: 10.04.2018