



ВПЛИВ ПОКАЗНИКІВ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕННЯ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ПОТЕНЦІАЛУ КРОВІ БІЛИХ ЩУРІВ, ЩО ВИНИКАЮТЬ ПІД ВПЛИВОМ БАЗИСНИХ СТОМАТОЛОГІЧНИХ МАТЕРІАЛІВ

В.С. Кузь, Г.М. Баля, І.М. Мартиненко

Полтавський державний медичний університет



Актуальність

Базисні матеріали, які використовують в клініці ортопедичної стоматології, є високополімерними сполуками і мають ряд позитивних властивостей за певних умов. Основною групою матеріалів для виготовлення знімних конструкцій є акрилові пластмаси гарячої полімеризації. Пластмаси цієї групи легко піддаються фарбуванню, мають високі технологічні властивості, добре з'єднуються з металами і штучними зубами.

Однак такі матеріали можуть викликати ряд ускладнень. З початком використання акрилових пластмас пов'язують виникнення терміну «непереносимість акрилових пластмас», яким позначається комплекс неприємних відчуттів, які можуть проявлятися при використанні таких матеріалів, а саме печіння, сухість у роті, гіперемія слизової оболонки та інше.

Використання знімних протезів, виготовлених з акрилових пластмас, може викликати розвиток алергічної або токсико-хімічної реакції тканин протезного ложа. За даними деяких авторів, гематологічні показники при цьому зазнають певних змін.



Актуальність

Щодо причин виникнення таких ускладнень, то існують різні точки зору. На думку одних авторів, виникнення неприємних відчуттів у роті залежить від індивідуальних особливостей організму. Інші вважають, що причиною цього є комбінований вплив ендо— та екзогенних факторів, соматична патологія організму, а також хіміко-токсична дія акрилових пластмас, зокрема залишкового мономеру, на тканини протезного ложа.

У зв'язку з цим протягом багатьох років питання підвищення якості знімного протезування залишається одним з найважливіших. Його вирішення намагаються досягти шляхом розробки нових базисних стоматологічних матеріалів і вдосконалення на різних етапах процесу виготовлення знімних пластинкових протезів. Це пов'язано з тим, що фізико-механічні властивості базисних матеріалів, що застосовуються в клініці ортопедичної стоматології, в підсумку визначають термін користування пацієнтами даною конструкцією.

Знімні пластинкові протези для слизової оболонки порожнини рота і для організму в цілому є комбінованим механічним, токсичним, алергічним і психологічним подразником. Тому в даний час лікарі стоматологи-ортопеди все частіше використовують безакрилові термопластичні пластмаси, які дозволяють поліпшити функціональні якості повних знімних протезів і уникнути недоліків акрилових пластмас.



Мета дослідження

Дослідити можливий несприятливий вплив різних груп базисних стоматологічних матеріалів на деякі гематологічні показники білих щурів-самців лінії Вістар.



Матеріали та методи

Експерименти виконано на 20 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 160-200 грам. Тварин утримували в умовах акредитованого віварію в оптимальних умовах (з забезпеченням температурного, світлового режиму, повноцінного харчування, захисту від інфекцій, шуму та інших негативних факторів навколишнього середовища) відповідно до «Стандартних правил щодо впорядкування, оснащення та утримання експериментальних біологічних клінік (віваріїв)».

Вибір даного виду тварин ґрунтувався на даних літератури щодо використання білих щурів при вивченні біологічної дії пластмас, розчинників, барвників тощо.



Матеріали та методи

Для утримання тварин використовували просторі клітки, кожна з яких мала відповідну позначку, що свідчило про належність до тієї чи іншої групи досліджуваних тварин. При роботі з тваринами дотримувалися вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експерименті та інших наукових цілях» (Страсбург, 18.03.1986 р.), «Загальних принципів експериментів на тваринах», прийнятих Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2000 р.). Комісією з питань біоетики Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія» порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено. Всі тварини були розділені на 4 групи (таблиця 1).



Матеріали та методи

Таблиця 1

Розподіл експериментальних груп тварин

№	Характеристика груп	К-ть
1	Контрольна (псевдооперовані тварини)	5
2	Дослідна (підшивання зразка «Фторакс»)	5
3	Дослідна (підшивання зразка «Deflex Acrylato»)	5
4	Дослідна (підшивання зразка «Vertex ThermoSense»)	5

Підшивання зразка досліджуваного матеріалу проводили внутрішньом'язово в передню черевну стінку. Оперативні втручання проводили під гексеналовим наркозом з розрахунку 10 мг/кг маси тварини.



Матеріали та методи

У досліджах використовували свіжо виготовлені зразки досліджуваних матеріалів, оскільки максимальне виділення мономеру відбувається в перші 7 днів після полімеризації. В основу розрахунку ваги досліджуваних зразків покладено кількісний пропорційний принцип застосування базисного полімерного матеріалу для виготовлення одного комплекту повного знімного протеза для людини вагою 75 кг, що становить в середньому 15 грам. Для лабораторної щури вагою в середньому 180 грам ця величина становить 0,036 грама, а при десятикратному збільшенні в умовах експерименту – 0,36 грама. Розміри зразків були в межах $0,7 \times 0,7 \times 0,1$ см.

Евтаназію тварин проводили через 7 діб після оперативного втручання під гексеналовим наркозом шляхом забору крові з правого шлуночка. Об'єктом дослідження була венозна кров експериментальних тварин. Показники, які вивчалися, наведені в таблиці 2.



Матеріали та методи

Таблиця 2

Біохімічні методи дослідження

Параметр, який вивчається	Автори методу, літературні джерела
Спонтанний гемоліз еритроцитів	Покровський О.О., Аббаров А.А. (1964)
ТБК-реагенти	Кайдашев І.П. і співавт. (2003)
СОД	БРУСОВ О.С. ТА СПІВАВТ. (1976)
Каталаза	Кайдашев І.П. і співавт. (2003)
Церулоплазмін	Кайдашев І.П. і співавт. (2003)



Матеріали та методи

Визначення спонтанного гемолізу еритроцитів. Готують суспензію еритроцитів шляхом змішування 0,1 мл крові з 7,5 мл забуферованого ізотонічного розчину хлориду натрію. Двічі відмивають шляхом центрифугування. У три пробірки для центрифуги наливають по 1 мл суспензії; у перші дві пробірки додають по 4 мл забуферованого ізотонічного розчину хлориду натрію, а в третю – 4 мл дистильованої води (для повного гемолізу). Проби перемішують і ставлять на 2 години в термостат при температурі 38°C.

Після закінчення інкубації вміст пробірок перемішують, центрифугують 10 хв при 1000 об/хв і вимірюють екстинкцію всіх проб проти дистильованої води при 540 нм в кюветі товщиною 1 см.

Розрахунок проводять за формулою:

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

де: x – ступінь гемолізу, %; E_1 і E_2 – екстинкція першої та другої проб;

E_3 – екстинкція третіх проб.



Матеріали та методи

Визначення концентрації ТБК-реактантів. Концентрацію ТБК-реактантів визначали тіобарбітуровим методом. Принцип методу базується на здатності 2-тіобарбітурової кислоти (ТБК) утворювати стійкий забарвлений комплекс з малоновим діальдегідом та іншими проміжними оксопродуктами ПОЛ. Приріст концентрації ТБК-реактантів при 1,5-годинній інкубації тканин дає інформацію про стан АОС.

Визначення активності супероксиддисмутази. Визначення активності супероксиддисмутази (СОД) проводили за методом О.С. Брусової та співавт. Принцип методу полягає в тому, що СОД інгібує автоокислення адреналіну. За різницею швидкості реакції без додавання біологічного матеріалу і з його додаванням обчислюють активність ферменту.



Матеріали та методи

Визначення активності каталази. Визначення активності каталази проводили за методом О. Архіпової, в основі якого лежить здатність каталази, що міститься в біоматеріалі, розкласти пероксид водню. Кількість пероксиду водню, що залишилася в пробі, визначають титруванням 0,1 н розчином калію перманганату.

Визначення церулоплазміну. Принцип методу: церулоплазмін здатний окислювати діамін. Окислений діамін дає рожеве забарвлення при реакції з дифенілпарафенілендіаміном, інтенсивність якого пропорційна ферментній активності.

Виконання дослідження відбувається за схемою, представленою в таблиці 3.



Матеріали та методи

Таблиця 3

Схема виконання дослідження

Дослідження	Контроль
3 мл буферного розчину	3 мл буферного розчину
0,1 мл сироватки крові	0,1 мл сироватки крові
1 мл 0,9% хлориду натрію	1 мл 0,1% азиду натрію
Проби перемішати і витримати при кімнатній температурі 20 хвилин. Додати в обидві проби по 1 мл дифенілпарафенілендіаміну, після чого витримати в термостаті 30 хвилин при температурі 37°C.	
1 мл 0,1% азиду натрію	1 мл 0,9% хлориду натрію

Проби колориметрують на СФ при довжині хвилі 530 нм в кюветах товщиною 10 мм проти дистильованої води.

Розрахунок: $(E_{\text{дослідження}} - E_{\text{контролю}}) \times 100 = \text{од. активності.}$



Результати та їх обговорення

Підшивання зразків досліджуваних матеріалів проводили внутрішньом'язово в передню черевну стінку білим лабораторним щурам. Оперативні втручання проводили під гексеналовим наркозом з розрахунку 10 мг/кг маси тварини. В експериментах використовували свіжовиготовлені зразки досліджуваних матеріалів, оскільки максимальне виділення мономеру відбувається в перші 7 днів після полімеризації. Контрольну групу склали псевдооперовані тварини, яким виконували аналогічні оперативні втручання без підшивання досліджуваних зразків.

Результати впливу внутрішньом'язової імплантації зразків матеріалів «Фторакс», «Deflex Acrylato» і «Vertex ThermoSense» на показники вільнорадикального окислення в крові піддослідних тварин представлені в таблиці 4.



Результати та їх обговорення

Таблиця 4

Вплив внутрішньом'язової імплантації зразків матеріалів «Фторакс», «Deflex Acrylato» і «Vertex ThermoSense» на показники вільного радикального окислення в крові піддослідних тварин ($M \pm m$, $n=20$)

Показники	Контрольна група	Досвідчені групи (підшивання зразка матеріалу)		
		Фторакс	Deflex Acrylato	Vertex ThermoSense
Спонтанний гемоліз еритроцитів (%)	$4,6 \pm 0,3$	$5,8 \pm 0,5$ $p > 0,05$	$5,4 \pm 0,3$ $p > 0,05$	$4,9 \pm 0,4$ $p > 0,05$
ТБК-реактанти до інкубації, мкмоль/л	$20,5 \pm 0,6$	$23,1 \pm 0,6$ $p > 0,05$	$21,1 \pm 0,7$ $p > 0,05$	$22,4 \pm 0,3$ $p > 0,05$
ТБК-реактанти після інкубації, мкмоль/л	$23,5 \pm 0,6$	$27,6 \pm 0,8$ $p > 0,05$	$23,3 \pm 0,6$ $p > 0,05$	$24,5 \pm 0,5$ $p > 0,05$
Приріст ТБК-реактантів, мкмоль/л	$3,02 \pm 0,41$	$4,48 \pm 0,28$ $p > 0,05$	$2,1 \pm 0,2$ $p > 0,05$	$2,06 \pm 0,28$ $p > 0,05$

Примітка: порівняння проведено з показниками контрольної групи тварин.



Результати та їх обговорення

Як видно з даних таблиці 4, на сьому добу після підшивання зразків базисних матеріалів «Фторакс», «Deflex Acrylato» і «Vertex ThermoSense» внутрішньом'язово в передню черевну стінку білим лабораторним щурам не призвело до вираженої реакції організму тварин. Незначне підвищення значення показника спонтанного гемолізу еритроцитів ($5,8 \pm 0,5\%$) у групі тварин, яким підшивали зразок матеріалу «Фторакс», порівняно з контрольною групою ($4,6 \pm 0,3\%$) не має статистично достовірної відмінності. Аналогічно спостерігається не істотний приріст накопичення ТБК-реактантів у цій групі до величини $4,48 \pm 0,28$ мкмоль/л у порівнянні з групою псевдооперованих тварин ($3,02 \pm 0,41$ мкмоль/л), що не є статистично достовірним. Таким чином, можна констатувати, що за показниками вільного радикального окислення не виявлено біологічної реакції організму тварин на інкорпорацію вищезазначених матеріалів.

Результати впливу внутрішньом'язової імплантації зразків матеріалів «Фторакс», «Deflex Acrylato» і «Vertex ThermoSense» на показники активності ферментів антиоксидантного захисту в крові піддослідних тварин представлені в таблиці 5.



Результати та їх обговорення

Таблиця 5

Вплив внутрішньом'язової імплантації зразків матеріалів «Фторакс», «Deflex Acrylato» і «Vertex ThermoSense» на показники активності ферментів антиоксидантного захисту в крові піддослідних тварин ($M \pm m$, $n=20$)

Показники	Контрольна група	Досвідчені групи (підшивання зразка матеріалу)		
		Фторакс	Deflex Acrylato	Vertex ThermoSense
СОД (од. акт.)	$1,81 \pm 0,02$	$2,01 \pm 0,03$ $p > 0,05$	$1,90 \pm 0,03$ $p > 0,05$	$1,88 \pm 0,03$ $p > 0,05$
Каталаза (мкат/л)	$0,95 \pm 0,02$	$1,24 \pm 0,04$ $p > 0,05$	$1,11 \pm 0,09$ $p > 0,05$	$1,09 \pm 0,05$ $p > 0,05$
Церулоплазмін (мг/л)	$23,5 \pm 0,7$	$25,8 \pm 0,6$ $p > 0,05$	$23,9 \pm 0,5$ $p > 0,05$	$24,5 \pm 0,8$ $p > 0,05$

Примітка: порівняння проведено з показниками контрольної групи тварин.



Результати та їх обговорення

Як видно з даних таблиці 4, на сьому добу після інкорпорації зразків базисних матеріалів «Фторакс», «Deflex Acrylato» і «Vertex ThermoSense» внутрішньом'язово в передню черевну стінку білим лабораторним щурам не призвело до вираженої реакції організму тварин, оцінку якої проводили за показниками активності антиоксидантних ферментів.



Висновки

Результати вивчення біологічної дії базисних стоматологічних пластмас на білих щурах, шляхом підшивання зразків досліджуваних матеріалів внутрішньом'язово в передню черевну стінку, оцінювалися за показниками вільного радикального окислення та активністю антиоксидантних ферментів, не виявили статистично достовірних відмінностей у порівнянні з контрольною групою тварин.