УДК 615.46:616.31:54-124:611.018.5

ВЛИЯНИЕ МОНОМЕРОВ КОМПОЗИТНЫХ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛЕТОК КРОВИ

[1]Гильмияров Э.М., [1]Радомская В.М., [1]Гильмиярова Ф.Н., [1]Мякишева Ю.В., [2]Быков И.М., [3]Доменюк Д.А., [1]Гильмиярова И.Е., [1]Свечникова М.В., [1]Волков Е.Д., [1]Филиппова М.Д.

[1]ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, e-mail: bio-sam@yandex.ru;

[2]ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Краснодар, e-mail: ilyamb@ksma.ru;

[3]ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ставрополь, e-mail:domenyukda@mail.ru

Проведено изучение влияния полимерных стоматологических материалов на основе метакриалата и оксирана на гематологические показатели клинически здоровых лиц в условиях in vitro. Выявлены изменения структурно-функциональных характеристик клеток крови, свидетельствующие о мембраноповреждающем действии мономеров композитов. Показано, что инкубация крови с неполимеризованными материалами вызывает выраженную деформацию мембран, агрегацию эритроцитов. Композиты на основе метакрилата вследствие биодеградации обладают более выраженным негативным потенциалом, что требует строгого соблюдения режимов полимеризации. Материалы на основе оксирана после полимеризации биоинертны, что позволяет рекомендовать их для более широкого применения. Проведенное исследование показало возможность использования разработанной экспериментальной модели для биотестирования стоматологических пломбировочных материалов.

Ключевые слова: мономеры, стоматологические композиты, биосовместимость, кровь, эритроциты

INFLUENCE MONOMERS OF DENTAL COMPOSITES ON STRUCTURAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF BLOOD CELLS

[1]Gilmiyarov E.M., [1]Radomskaya V.M., [1]Gilmiyarova F.N., [1]Myakisheva Y.V., [2]Bykov I.M., [3]Domenuk D.A., [1]Gilmiyarova I.E., [1]Svechnikova M.V., [1]Volkov E.D., [1]Filippova M.D.

[1]Samara State Medical University of Ministry of health care, Samara, e-mail: bio-sam@yandex.ru;

[2]Kuban State Medical University of Ministry of health care, Krasnodar, e-mail: ilyamb@ksma.ru;

[3]Stavropol State Medical University of Ministry of health care, Stavropol, e-mail: domenyukda@mail.ru

A research of the influence of polymer dental materials based on methacrylate and oxirane on the hematological parameters of clinically healthy individuals was conducted according to IN VITRO conditions. The identified changes of structural and functional characteristics of blood cells indicate that the membrane damage is caused by the monomeric composites. It is shown that incubation of blood with unpolymerized materials causes a pronounced deformation of the membrane, the erythrocyte aggregation. Methacrylate-based composites have a more pronounced negative potential due to biodegradation, which requires a strict compliance with the polymerization procedures. Oxirane-based materials are biologically inert after polymerization, this allows them to be recommended for a wider range of applications. The study showed a possibility of use of the developed experimental model for biological testing of dental filling materials.

Keywords: monomers, resin dental composites, biocompatibility, blood, erythrocytes

В настоящее время композиты составляют одну из наиболее важных групп материалов в стоматологической практике. Они используются при пломбировании всех групп зубов, герметизации фиссур, для фиксации ортопедических конструкций, в качестве облицовочных композитов [3]. Наибольшее распространение получили материалы, органическая матрица которых представляет собой сополимер акриловых и эпоксидных смол, одним из основных мономеров которого является бисфенол – глицидилметакрилат (Bis-GMA) [5], комономерами выступают триэтиленгликольдиметакрилат (TEGDMA) и уретандиметилметакрилат (UDMA). Соотношение и состав мономеров варьируются в зависимости от специфики использования, а также от производителя полимера [2, 9, 10]. Принципиально новыми по химическому строению являются композиты Tet-Sil на основе оксиранов и силоранов – мономеров с открытыми кольцами, не содержащих метакриловые группы. Данные пломбировочные материалы разработаны для уменьшения и преодоления полимеризационной усадки. Очевидно, что различия типов мономеров в составе композита определяют свойства материала, оказывают влияние на степень его полимеризации, биодеградации, химической реактивности [11].

Для оценки потенциального риска возникновения неблагоприятных реакций, обусловленных стоматологическими материалами, изучают преимущественно физические, химические и механические свойства полимера [8, 12]. С целью определения биосовместимости на доклиническом этапе в настоящее время используют изучение цитотоксичности на культуре клеток мышиных фибробластов, контактные тесты полимеров с базофилами цельной крови человека для выявления выброса гистамина, имплантацию композита в ткани полости рта лабораторных животных [1, 4, 6, 7, 9, 13, 14]. Данные методы являются трудоемкими, дорогостоящими, требуют наличия специального оборудования и не дают возможности определить индивидуальную реакцию организма на пломбировочный материал в конкретной клинической ситуации. В этом плане актуально создание новых in vitro тестов для изучения биосовместимости полимерных стоматологических материалов, оптимизации клинического выбора композита.

Цель исследования: изучить характер влияния композитов на структурно-функциональные свойства клеток крови в модельных опытах для определения биосовместимости стоматологических материалов.

Материалы и методы исследования

В исследовании принимали участие 60 соматических здоровых лиц с санированной полостью рта в возрасте от 18 до 21 года. Материалом служила венозная кровь, взятая стандартным методом. Контрольную группу составили 22 человека, экспериментальную – 38 человек. Влияние метакрилата и оксирана изучали в двух подгруппах, действуя на образцы крови неполимеризованным и полимеризованным материалом.

Исследование структурно-функциональных характеристик клеток крови осуществлялось с использованием автоматического гематологического анализатора Sismex KX-21 до и после 30-минутной инкубации с композитами. Также после предварительного окрашивания по методу Лейшмана проводилась ультрамикроскопия препаратов крови на микроскопе Zeiss Axiostar (×1500). Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью компьютерной программы «ANOVA».

Таблица 1

Влияние неполимеризованного и полимеризованного материала на основе метакрилата на гематологические показатели (M ± St.dev.)

№ п/п	Показатели	Контрольная группа (n = 22)	Экспериментальная группа, неполимеризованный материал (n = 19)	Экспериментальная группа, полимеризованный материал (n = 19)
1	Лейкоциты (WBC, × 10^9/л)	6,10 ± 0,45	5,97 ± 0,40	6,18 ± 0,56
2	Эритроциты (RBC, × 10^{12}/л)	4,90 ± 0,15	5,06 ± 0,15	5,27 ± 0,14*
3	Гемоглобин (HGB, × 10 г/л)	14,33 ± 0,44	15,34 ± 0,54*	15,74 ± 0,41*
4	Гематокрит (HCT, %)	43,11 ± 1,29	45,79 ± 1,44*	46,29 ± 1,28*
5	Средний объем эритроцитов (MCV, фл)	88,01 ± 0,57	88,40 ± 0,58	87,86 ± 0,70
6	Среднее объемного содержания гемоглобина в эритроците (MCH; пг)	29,21 ± 0,18	30,25 ± 0,32	29,88 ± 0,27
7	Среднее содержание гемоглобина (MCHC; г/л)	33,26 ± 0,18	34,22 ± 0,28	34,03 ± 0,27
8	Тромбоциты (PLT, ×10^9/л)	248,06 ± 20,03	247,08 ± 22,22	237,94 ± 19,61*
9	Лимфоциты (LYM, %)	34,56 ± 2,04	33,36 ± 1,93	33,03 ± 2,29
10	Клетки среднего размера(MXD, %)	10,79 ± 1,13	11,21 ± 2,35	8,78 ± 1,82*
11	Нейтрофилы (NEUT, %)	55,48 ± 3,89	56,24 ± 4,68	60,88 ± 4,33*
12	Абсолютное число лейкоцитов в/мкл цельной крови (LYM)	2,09 ± 0,16	1,96 ± 0,15	2,00 ± 0,19
13	Абсолютное число базофилов, эозинофилов и моноцитов в/мкл цельной крови (MXD)	0,74 ± 0,09	0,70 ± 0,13	0,67 ± 0,15
14	Абсолютное число нейтрофилов в/мкл цельной крови(NEUT)	3,92 ± 0,45	3,82 ± 0,47	4,20 ± 0,69
15	Взвешенное распределение тромбоцитов (PDW, фл)	13,79 ± 0,42	13,82 ± 0,49	14,57 ± 0,56
16	Средний объем тромбоцита (MPV, фл)	10,89 ± 0,23	10,86 ± 0,22	11,28 ± 0,24

Примечание. *p = 0,01.

Результаты исследования и их обсуждение

При анализе полученных результатов выявлено, что после инкубации цельной крови с неполимеризованным материалом на основе метакрилата имеется тенденция к увеличению содержания гемоглобина, гематокрита, что, вероятно, обусловлено склеиванием и агрегацией эритроцитов, изменением формы клеток, что отражается на детекции (табл. 1).

Полученные данные подтверждаются при проведении ультрамикроскопии изучаемых образцов. Так, при микроскопии препаратов крови контрольной группы обнаружены эритроциты обычной формы с центральным просветлением (рис. 1, А). В препаратах крови после инкубации с неполимеризованным материалом на основе метакрилата заметно склеивание, агрегация эритроцитов (++++), выраженная деформация мембраны, которая приобретает бугристую форму (рис. 1, Б).

Под влиянием полимеризованного метакрилата происходит более выраженное увеличение концентрации гемоглобина (+ 10,0%, $p = 0,01$), значения гематокрита (+ 7,4%, $p = 0,01$), которое, вероятно, обусловлено агрегацией эритроцитов, что отчетливо наблюдается при микроскопии данных образцов (рис. 1, В). Кроме того, выявлены явления склеивания, агрегации эритроцитов, так называемые «монетные столбики», определяется сгущение и увеличение количества эритроцитов в поле зрения, обнаруживается явление пойкилоцитоза (овалоцитоза).

Также выявлено влияние исследуемого материала на показатели лейкоцитарного ряда. Отмечается выраженное снижение количества клеток MXD-группы – моноцитов, эозинофилов, базофилов на 18,6% относительно значения в контроле ($p = 0,01$), увеличение количества нейтрофилов на 9,7% ($p = 0,01$), отражающее сдвиги в лейкоцитарной формуле. Обнаружена тенденция к снижению количества тромбоцитов (табл. 1).

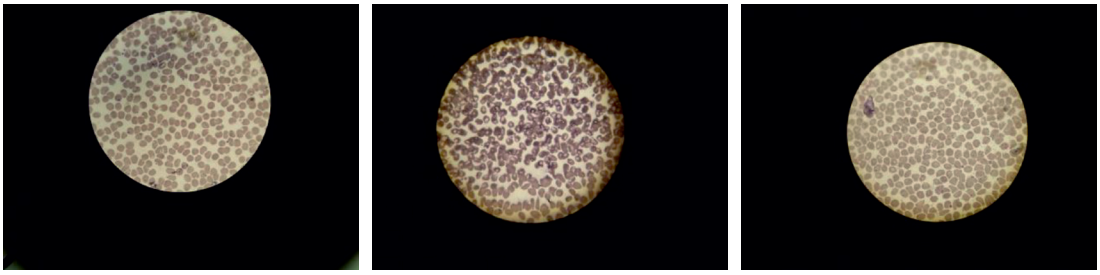
При оценке показателей клеточного состава крови, инкубированной с материалом на основе оксирана, выявлено увеличение содержания гемоглобина (+ 13,0%; $p \leq 0,01$), тенденция к увеличению гематокрита (+ 9,0%, $p = 0,01$) (табл. 2).

При микроскопии в образцах крови после инкубации с неполимеризованным материалом на основе оксирана определяется изменение формы и усиление агрегации эритроцитов с большим количеством агрегатов (++++) (рис. 2, Б).

При сравнении гематологических показателей после инкубации с полимеризованными порциями материала с показателями контрольной группы определяется тенденция к увеличению гематокрита (+ 8,2%; $p = 0,01$), количества эритроцитов, содержания гемоглобина (+ 8,1% и + 12,3% соответственно; $p = 0,01$) (табл. 2).

Выявляются также изменения в лейкоцитарной формуле, проявляющиеся в снижении количества MXD-клеток на 15,3% ($p = 0,01$), увеличении количества нейтрофилов на 10,6% ($p = 0,01$), тенденции к снижению числа лимфоцитов. Данные изменения, вероятно, обусловлены фиксацией клеток в белковом монослое, образующемся на поверхности полимера при его взаимодействии с кровью.

Примечательным является тот факт, что при микроскопии образцов крови после инкубации с полимеризованным материалом на основе оксирана картина приближена к норме. Определяется монослой эритроцитов без выраженной агрегации (рис. 2, В).



А) *Б)* *В)*

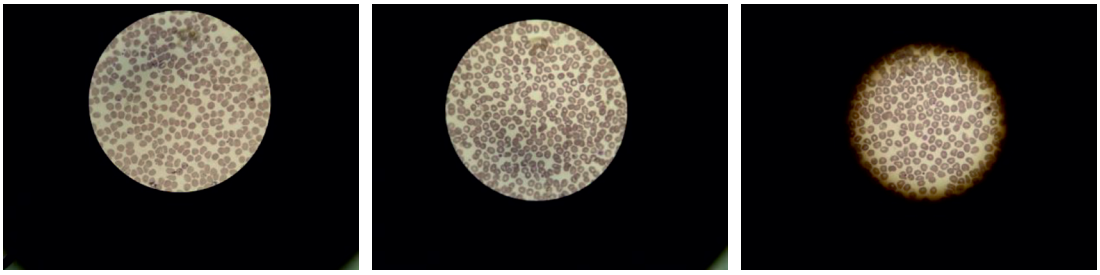
Рис. 1. Препараты крови, инкубированной с композитом на основе метакрилата: А – контрольный образец, Б – препарат крови, инкубированной с неполимеризованным материалом, В – препарат крови, инкубированной с полимеризованным материалом

Таблица 2

Влияние неполимеризованного и полимеризованного материала на основе оксирана на показатели клеточного состава крови (M ± St.dev.)

№ п/п	Показатели	Контрольная группа (n = 22)	Экспериментальная группа, неполимеризованный материал (n = 19)	Экспериментальная группа, полимеризованный материал (n = 19)
1	Лейкоциты (WBC, × 10^9/л)	6,10 ± 0,45	5,96 ± 0,46	6,12 ± 0,53
2	Эритроциты (RBC, × 10^{12}/л)	4,90 ± 0,15	5,31 ± 0,14	5,30 ± 0,14*
3	Гемоглобин (HGB, × 10 г/л)	14,33 ± 0,44	16,20 ± 0,52*	16,09 ± 0,52*
4	Гематокрит (HCT, %)	43,11 ± 1,29	46,98 ± 1,30*	46,65 ± 1,29*
5	Средний объем эритроцитов (MCV, фл)	88,01 ± 0,57	88,54 ± 0,58	87,98 ± 0,69
6	Среднее объемного содержания гемоглобина в эритроците (MCH; пг)	29,21 ± 0,18	30,49 ± 0,34	30,33 ± 0,36
7	Среднее содержание гемоглобина (MCHC; г/л)	33,26 ± 0,18	34,44 ± 0,28	34,46 ± 0,30
8	Тромбоциты (PLT, ×10^9/л)	248,06 ± 20,03	243,42 ± 23,65	226,35 ± 19,71*
9	Лимфоциты (LYM, %)	35,15 ± 2,04	33,90 ± 1,61	33,31 ± 2,21*
10	Клетки среднего размера (MXD, %)	12,12 ± 1,41	12,74 ± 1,75	10,27 ± 2,65*
11	Нейтрофилы (NEUT, %)	50,75 ± 4,79	52,30 ± 4,28	56,15 ± 4,57*
12	Абсолютное число лейкоцитов в/мкл цельной крови (LYM)	2,09 ± 0,16	1,99 ± 0,15	2,03 ± 0,18
13	Абсолютное число базофилов, эозинофилов и моноцитов в/мкл цельной крови (MXD)	0,71 ± 0,12	0,79 ± 0,11	0,75 ± 0,20
14	Абсолютное число нейтрофилов в/мкл цельной крови (NEUT)	3,90 ± 0,57	3,73 ± 0,59	3,63 ± 0,55
15	Взвешенное распределение тромбоцитов (PDW, фл)	13,79 ± 0,42	13,85 ± 0,46	14,48 ± 0,53
16	Средний объем тромбоцита (MPV, фл)	10,89 ± 0,23	11,07 ± 0,23	11,26 ± 0,25
17	Отношение (%) объема крупных тромбоцитов ко всему объему тромбоцитов (P-LCR)	32,29 ± 1,90	33,44 ± 1,88	35,24 ± 2,03

Примечание. *p = 0,01.



А) *Б)* *В)*

Рис. 2. Препараты крови, инкубированной с композитом на основе оксирана: А – контрольный образец, Б – препарат крови, инкубированной с неполимеризованным материалом, В – препарат крови, инкубированной с полимеризованным материалом

Заключение

Таким образом, полученные результаты позволяют использовать разработанную экспериментальную модель для определения биосовместимости полимерных стоматологических материалов, осуществлять индивидуальный подбор композита в каждом конкретном клиническом случае. Применение данных in vitro тестов выявило мембраноповреждающее действие метакрилата и оксирана, отражающееся в изменениях структурно-функциональных характеристик клеток крови. Причем метакрилат обладает более выраженным повреждающим потенциалом по сравнению с оксираном. Негативное действие композита вследствие биодеградации после полимеризации требует тщательного соблюдения режимов окончательной обработки пломб. Полимеризованные композиты на основе оксирана биоинертны, что дает возможность рекомендовать их для более широкого применения.

Список литературы

1. Байриков И.М. Влияние пористых трехмерных имплантатов из нитинола на культуру мультипотентных мезенхимных стромальных клеток / И.М. Байриков, С.Е. Волчков, И.В. Шишковский // КТТИ. – 2013. – № VIII (1). – С. 51–56.

2. Николаев А.И. Практическая терапевтическая стоматология: учеб. пособие / А.И. Николаев, Л.М. Цепов. – 9-е изд., перераб. и доп. – М. : МЕДпресс-информ, 2010. – 928 с.

3. Тлустенко В.П. Метаболические процессы в полости рта больных с несъемными протезами, опирающимися на имплантат и облицованными материалом «Artglass» / В.П. Тлустенко, Е.С. Тлустенко, Э.М. Гильмияров // Клиническая стоматология. – 2000. – № 3. – С. 72–73.

4. Babakhin A.A. Histamine releasing activity of dental materials as the indicator of their biocompatibility / A.I. Volozhin, L.V. Dubova [et al.] // Stomatologiia (Mosk.). – 2008. – № 87 (1). – P. 8–17.

5. Carmichael A.J. Allergic contact dermatitis to bisphenol-Aglycidyldimethacrylate (BIS-GMA) dental resin associated with sensitivity to epoxy resin / A.J. Carmichael, J.J. Gibson, A.W. Walls // Br. Dent. J. – 1997. – № 183. – P. 297–298.

6. Hauman C.H.J. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review / C.H.J. Hauman, R.M. Love // International Endodontic Journal. – 2003. – Vol. 36, Issue 2. – P. 75–85.

7. Moharamzadeh K. Biocompatibility of Resin – based / K. Moharamzadeh, I.M. Brook, R. Van Noort // Dental Materials. – 2009. – № 2. – P. 514–548.

8. Mousavinasab S.M. Biocompatibility of composite resins / S.M. Mousavinasab // Dent. Res. J. (Isfahan). – 2011. – № 8 (Suppl. 1). – P. 21–29.

9. Ruyter I.E. Composites for use in posterior teeth: composition and conversion / I.E. Ruyter, H. Oysaed // J. Biomed. Mater. Res. – 1987. – № 21. – P. 11–23.

10. Ruyter I.E. Monomers and filler content of resin-based crown and bridge materials / I.E. Ruyter, I.J. Sjovik-Kleven // Dent. Mater. – 1987. – № 3. – P. 315–321.

11. Santerre J.P. Relation of dental composite formulations to their degradation and the release of hydrolyzed polymeric-resin-derived products / J.P. Santerre, L. Shajii, B.W. Leung // Crit. Rev. Oral Biol. Med. – 2001. – № 12. – P. 136–151.

12. Schedle A. Do adverse effects of dental materials exist? What are the consequences, and how can they be diagnosed and treated? Bernhard Gottlieb University Clinic of Dentistry, Central Research Unit, Medical University of Vienna, Vienna, Austria / A. Schedle, U. Ortengren, N. Eidler [et al.] // Clin. Oral Implants Res. – 2007. – № 18, Suppl. 3. – P. 232–256.

13. Stanford J.W. Recommendations for determining biocompatibility and safety for the clinical use of metals in dentistry / J.W. Stanford // Int. Dent. J. – 1986. – № 36(1). – P. 45–48.

14. Wendt S.L. Indirect cytotoxic evaluation of dental materials. Department of Restorative Dentistry and Endodontology, University of Connecticut Health Center, School of Dental Medicine, Farmington / S.L. Wendt, T.L. Ziemiecki, L.S. Spangberg // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. – 1993. – № 75 (3). – P. 353–356.

References

1. Bajrikov I.M. Vlijanie poristyh trehmernyh implantatov iz nitinola na kul'turu mul'tipotentnyh mezenhimnyh stromal'nyh kletok / I.M. Bajrikov, S.E. Volchkov, I.V. Shishkovskij // KTTI. 2013. no. VIII (1). pp. 51–56.

2. Nikolaev A.I. Prakticheskaja terapevticheskaja stomatologija: ucheb. posobie / A.I. Nikolaev, L.M. Cepov. 9-e izd., pererab. i dop. M. : MEDpress-inform, 2010. 928 p.

3. Tlustenko V.P. Metabolicheskie processy v polosti rta bol'nyh s nesemnymi protezami, opirajushhimisja na implantat i oblicovannymi materialom «Artglass» / V.P. Tlustenko, E.S. Tlustenko, Je.M. Gilmijarov // Klinicheskaja stomatologija. 2000. no. 3. pp. 72–73.

4. Babakhin A.A. Histamine releasing activity of dental materials as the indicator of their bio-compatibility / A.I. Volozhin, L.V. Dubova [et al.] // Stomatologiia (Mosk.). 2008. no. 87 (1). pp. 8–17.

5. Carmichael A.J. Allergic contact dermatitis to bisphenol-Aglycidyldimethacrylate (BIS-GMA) dental resin associated with sensitivity to epoxy resin / A.J. Carmichael, J.J. Gibson, A.W. Walls // Br. Dent. J. 1997. no. 183. pp. 297–298.

6. Hauman C.H.J. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review / C.H.J. Hauman, R.M. Love // International Endodontic Journal. 2003. Vol. 36, Issue 2. pp. 75–85.

7. Moharamzadeh K. Biocompatibility of Resin based / K. Moharamzadeh, I.M. Brook, R. Van Noort // Dental Materials. 2009. no. 2. pp. 514–548.

8. Mousavinasab S.M. Biocompatibility of composite resins / S.M. Mousavinasab // Dent. Res. J. (Isfahan). 2011. no. 8 (Suppl. 1). pp. 21–29.

9. Ruyter I.E. Composites for use in posterior teeth: composition and conversion / I.E. Ruyter, H. Oysaed // J. Biomed. Mater. Res. 1987. no. 21. pp. 11–23.

10. Ruyter I.E. Monomers and filler content of resin-based crown and bridge materials / I.E. Ruyter, I.J. Sjovik-Kleven // Dent. Mater. 1987. no. 3. pp. 315–321.

11. Santerre J.P. Relation of dental composite formulations to their degradation and the release of hydrolyzed polymeric-resin-derived products / J.P. Santerre, L. Shajii, B.W. Leung // Crit. Rev. Oral Biol. Med. 2001. no. 12. pp. 136–151.

12. Schedle A. Do adverse effects of dental materials exist? What are the consequences, and how can they be diagnosed and treated? Bernhard Gottlieb University Clinic of Dentistry, Central Research Unit, Medical University of Vienna, Vienna, Austria / A. Schedle, U. Ortengren, N. Eidler [et al.] // Clin. Oral Implants Res. 2007. no. 18, Suppl. 3. pp. 232–256.

13. Stanford J.W. Recommendations for determining biocompatibility and safety for the clinical use of metals in dentistry / J.W. Stanford // Int. Dent. J. 1986. no. 36(1). pp. 45–48.

14. Wendt S.L. Indirect cytotoxic evaluation of dental materials. Department of Restorative Dentistry and Endodontology, University of Connecticut Health Center, School of Dental Medicine, Farmington / S.L. Wendt, T.L. Ziemiecki, L.S. Spangberg // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 1993. no. 75 (3). pp. 353–356.

Рецензенты:

Тлустенко В.П., д.м.н., профессор, заведующая кафедрой ортопедической стоматологии ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России, г. Самара;

Кретова И.Г., д.м.н., профессор, заведующая кафедрой безопасности жизнедеятельности и физического воспитания ФГБОУ ВПО «Самарский государственный университет», г. Самара.