

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МАТЕРИАЛОВ «PRO ROOT MTA» И «РЕСТАПЕКСА» НА МАРКЕРЫ МИНЕРАЛИЗАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ ЧЕЛЮСТИ И ВОСПАЛЕНИЯ

Доц. О. В. Любченко

Харьковская медицинская академия последипломного образования

В эксперименте на 80-ти крысах изучено влияние отечественного материала «Рестапекс» для пломбирования корневых каналов в сравнении с зарубежным «Pro Root MTA» на маркеры минерализации костной ткани и воспаления. Определяли маркеры минерализации костной ткани — активность кислой и щелочной фосфатаз, эластазы, общую протеолитическую активность; маркеры воспаления — активность кислой фосфатазы, эластазы, содержание малонового диальдегида, активность каталазы.

Биохимический анализ костной ткани челюстей крыс показал, что «Рестапекс» не уступает по своим свойствам зарубежному «Pro Root MTA», а по некоторым параметрам превосходит его.

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ МАТЕРІАЛІВ «PRO ROOT MTA» ТА «РЕСТАПЕКСА» НА МАРКЕРИ МІНЕРАЛІЗАЦІЇ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ЩЕЛЕПИ ТА ЗАПАЛЕННЯ

Доц. О. В. Любченко

В експерименті на 80-ти щурах вивчено вплив вітчизняного матеріалу «Рестапекс» для пломбування корневих каналів у порівнянні з іноземним «Pro Root MTA» на маркери мінералізації кісткової тканини щелепи і запалення. Вивчали маркери мінералізації — активність кислої та лужної фосфатази, еластази, загальну протеолітичну активність; маркери запалення — активність кислої фосфатази, еластази, вміст малонового диальдегіду, активність каталази.

Біохімічний аналіз кісткової тканини щелеп щурів показав, що «Рестапекс» не поступається за своїми властивостями закордонному «Pro Root MTA», а за деякими навіть переважає його.

STUDY OF INFLUENCE OF MATERIAL «PRO ROOT MTA» AND «RESTAPEKSA» MARKERS OF MINERALIZATION OF JAW BONE TISSUE AND INFLAMMATION

O. V. Lubchenko

Experiment at 80 rats has studied the effect of home root canal filling material «Restapeks» compared with foreign «Pro Root MTA» on markers of mineralization of bone tissue and inflammation. The markers of mineralization of bone tissue: activity of acid and alkaline phosphatase, common proteolytic activity elastase; markers of inflammation, they are the activity of acid phosphatase, elastase, the content of malonic dealdehyde, the activity of catalase. Biochemical analysis of jaw bone tissue rats has shown d that «Restapeks» is not inferior in its properties foreign «Pro Root MTA», and in some ways even surpasses it.

Проблема obturации корневого канала, особенно при наличии деструктивных процессов в периодонте, по-прежнему остается актуальной. Для оптимизации эндодонтического лечения инфицированных корневых каналов нами совместно с лабораторией ООО «Стома-технология» (г. Харьков) был разработан цемент гидравлический для пломбирования корневых каналов — «Рестапекс». Ближайшим аналогом «Рестапекса» является материал «Pro Root MTA» (Dentsply).

Цель работы — изучение влияния материалов «Pro Root MTA» и «Рестапекса» на маркеры минерализации костной ткани челюсти и воспаления в эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проведен в соответствии с принципами Европейской конвенции о защите позвоночных животных (Страсбург, 1986) и «Общими принципами экспериментов на животных», одобренными I Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001) [5] на 80-ти самцах крыс линии Вистар стадного разведения 6-месячного возраста средней массой 259 ± 34 г. У животных, за исключением интактной группы, удаляли правый верхний моляр под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг). Сразу после удаления зуба лунку заполняли соответствующим материалом (около 10 мг) и закрывали циакрином.

Все животные в зависимости от применяемого материала были разделены на 4 группы по 20 крыс в каждой:

1-я — интактный контроль без удаления зуба;
2-я — контроль, удаление моляра без применения материала;

3-я — удаление моляра с заполнением лунки удаленного зуба «Рестапексом»;

4-я — удаление моляра с заполнением лунки удаленного зуба «Pro Root МТА».

На протяжении всего эксперимента крыс содержали в обычных условиях и на стандартном рационе вивария. Животных выводили из эксперимента в два этапа (по 10 крыс из каждой группы): через 10 дней и через 3 месяца после удаления моляра и заполнения лунки удаленного зуба исследуемым материалом. Выведение из эксперимента осуществляли под тиопенталовым наркозом (40 мг/кг) путем кровопускания из сердца. Для биохимических исследований препарировали верхние челюсти, отсекали участок десны и альвеолярного отростка челюсти в зоне удаления моляра. В гомогенатах костной ткани (75 мг/мл цитратного буфера рН 6,1) определяли маркеры минерализации: активность кислой и щелочной фосфатаз (КФ

и ЩФ, соответственно) [4], общей протеолитической активности ОПА [1], эластазы [7]. В гомогенатах десны (20 мг/мл трис-НСІ буфера рН 7,6) проводили определение маркеров воспаления: активность КФ [4], эластазы [7], содержание МДА [6] и активность каталазы [2, 3].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Получены результаты исследования биохимических показателей, характеризующих степень воспаления в тканях десны экспериментальных животных на первом этапе исследования. Приведенные данные показывают, что через 10 дней после удаления моляра — как без заполнения лунки удаленного зуба, так и после ее заполнения изучаемым материалом — не выявлены существенные изменения активности КФ, эластазы и каталазы, а также концентрации МДА в участке десны, прилегающем к удаленному зубу. Отсутствие изменений, возможно, связано со сроком исследования, по истечении которого воспалительные процессы в тканях десны крыс, возникшие сразу после удаления зуба, нивелированы в результате функционирования адаптационно-трофических механизмов защиты в полости рта животных (табл. 1).

Таблица 1

Влияние материалов на показатели воспаления в тканях десны в области удаленного моляра крыс через 10 дней

| Группа крыс | Активность КФ, нкат/г | Активность эластазы, нкат/г | Содержание МДА, мкмоль/г | Активность каталазы, нкат/г |
|------------------------------|---|---|--|---|
| 1-я — интактная | 2,64 ± 0,23 | 22,9 ± 1,7 | 51,78 ± 6,3 | 8,06 ± 0,91 |
| 2-я — контроль без материала | 2,37 ± 0,19 p > 0,4 | 26,8 ± 3,0 p > 0,25 | 48,9 ± 5,1 p > 0,7 | 10,15 ± 1,24 p > 0,2 |
| 3-я — «Рестапекс» | 2,73 ± 0,25 p > 0,8 p ₁ > 0,25 | 25,4 ± 2,7 p > 0,4 p ₁ > 0,7 | 54,2 ± 6,0 p > 0,8 P ₁ > 0,3 | 9,34 ± 0,83 p > 0,2 p ₁ > 0,25 |
| 4-я — «Pro Root МТА» | 2,59 ± 0,27 p > 0,8 p ₁ > 0,5 | 23,1 ± 1,8 p > 0,8 p ₁ > 0,3 | 58,3 ± 6,5 p > 0,4 p ₁ > 0,25 | 8,72 ± 0,76 p > 0,7 p ₁ > 0,4 |

Примечания: p — достоверность отличий от показателей в интактной группе; p₁ — достоверность отличий от показателей во 2-й группе (контроль без материала).

Исследования костной ткани челюсти показали, что через 10 дней после удаления моляра наблюдаются выраженные метаболические сдвиги в участке костной ткани, прилегающем к лунке удаленного зуба. Результаты этого исследования свидетельствуют о том, что удаление моляра у крыс 2-й группы (контроль без материала) вызывает в костной ткани локальную активацию остеокластов, о чем судили по достоверному повышению активности КФ и эластазы — маркеров остеобластов. Достоверное повышение ОПА в костной ткани на этом этапе исследования говорит об интенсивном синтезе основного белка костной ткани — коллагена, поскольку известно, что повышение активности этой группы ферментов связано с активными процессами регенерации костной ткани после травмы. А увеличение активности ЩФ в костной ткани

альвеолярного отростка, возможно, является компенсаторной реакцией костной ткани на травму, связанную с удалением зуба, изменение метаболизма и минерального обмена в частности (табл. 2).

Заполнение лунок удаленного зуба изучаемым материалом предупреждало установленные нарушения в участке костной ткани, прилегающем к лунке удаленного моляра. Так, активность КФ достоверно снизилась во всех опытных группах по сравнению со значениями во 2-й (контроль без материала) группе: в 1,95 раза после применения «Рестапекса» и в 1,79 раз после «Pro Root МТА». При этом активность КФ во всех опытных группах животных, лунки удаленного моляра которых заполняли исследуемыми материалами, была на достоверно не отличимом уровне от соответствующих значений у интактных крыс (табл. 2).

Таблиця 2

Влияние материалов на биохимические показатели в костной ткани челюсти в области удаленного моляра крыс через 10 дней

| Группа крыс | Активность КФ, нкат/г | Активность ЩФ, нкат/г | ОПА, нкат/г | Активность эластазы, нкат/г |
|------------------------------|--|--|--|---|
| 1-я — интактная | 11,3 ± 1,5 | 105,4 ± 12,3 | 285,3 ± 19,6 | 3,07 ± 0,24 |
| 2-я — контроль без материала | 21,3 ± 1,9 $p < 0,001$ | 176,3 ± 19,8 $p < 0,01$ | 418,4 ± 36,2 $p < 0,002$ | 5,86 ± 0,21 $p < 0,001$ |
| 3-я — «Рестапекс» | 10,9 ± 1,4 $p > 0,8$ $p_1 < 0,001$ | 198,5 ± 24,2 $p < 0,002$ $p_1 > 0,4$ | 425,8 ± 29,5 $p < 0,001$ $p_1 > 0,8$ | 2,91 ± 0,32 $p > 0,7$ $p_1 < 0,001$ |
| 4-я — «Pro Root МТА» | 11,9 ± 1,3 $p > 0,8$ $p_1 < 0,001$ | 170,7 ± 16,2 $p < 0,01$ $p_1 > 0,8$ | 391,9 ± 34,3 $p < 0,01$ $p_1 > 0,6$ | 2,87 ± 0,24 $p > 0,6$ $p_1 < 0,001$ |

Примечания: p — достоверность отличий от показателей в интактной группе; p_1 — достоверность отличий от показателей во 2-й группе (контроль без материала).

Значения другого показателя, характеризующего активацию остеокластов, активность эластазы в опытных группах также была достоверно снижена по сравнению с показателем в контроле без применения материалов и соответствовала значениям у интактных животных. Под влиянием исследуемых материалов в костной ткани крыс активность эластазы в 3-й группе снизилась на 50,3 % и в 4-й группе — на 51,0 % (табл. 2). Полученные результаты уменьшения активности КФ и эластазы в костной ткани крыс через 10 дней после удаления моляров свидетельствуют о высокой эффективности всех использованных материалов, способствующих существенному торможению остеокластической резорбции, вызванной травмой.

Активность ЩФ, фермента, характеризующего функциональную активность остеобластов костной ткани, повышенная через 10 дней после удаления зуба во 2-й группе (контроль без материала), сохранялась на высоком уровне и во всех опытных группах, лунки которых заполняли после удаления моляров исследуемым материалом. Так, значения активности ЩФ в костной ткани челюстей животных из всех опытных групп были на уровне показателя в контроле без материала ($p_1 > 0,4-0,8$) и достоверно ниже значений в интактной группе ($p < 0,01-0,001$).

Аналогичным образом изменялась и ОПА костной ткани челюстей наблюдаемых крыс после удаления зубов. В контрольной группе через 10 дней после травмы активность протеаз (ОПА) достоверно выросла в участке удаления моляра ($p < 0,002$). Высокие значения ОПА зарегистрированы в костной ткани челюстей животных всех опытных групп ($p > 0,4-0,8$ и $p_1 < 0,001$).

Обобщая результаты исследования, полученные через 10 дней после удаления зубов у крыс, можно сделать заключение об отсутствии в тканях десны воспаления на этом этапе. В участке костной ткани, прилегающем к травме, установлено активное протекание процессов резорбции (активность КФ и эластазы) наряду с интенсивными процессами регенерации (активность ЩФ и ОПА).

Заполнение лунки удаленного зуба исследуемым материалом оказало позитивное влияние на проходящие процессы в костной ткани вокруг этих лунок: торможение интенсивности резорбции (снижение активности КФ и эластазы) и сохранение на высоком уровне процессов регенерации (высокий уровень ОПА и активности ЩФ).

Поскольку на первом этапе исследования, проведенном через 10 дней после удаления моляров, в участках тканей десны, прилегающих к месту травмы, нам не удалось обнаружить признаков воспаления по нашим тестам, на следующем этапе — через 3 месяца — маркеры воспаления в тканях десны крыс не определяли. Через 3 месяца провели изучение только состояния костной ткани челюсти (табл. 3).

Результаты исследования свидетельствуют, что тенденция к повышенной активности всех изучаемых ферментов в костной ткани челюсти сохранилась у животных 2-й группы, которым удаляли моляры без последующего заполнения лунки. Это свидетельствует о продолжении процессов регенерации костной ткани после нанесенной травмы. Применение исследуемых материалов для заполнения лунок удаленных моляров оказало позитивное влияние на метаболические процессы в костной ткани челюсти.

Активность одного из маркеров остеокластов КФ во всех опытных группах на этом этапе исследования была низкой и соответствовала показателю у интактных крыс (табл. 3). После заполнения лунок удаленных моляров «Рестапексом» активность КФ одновременно была достоверно ниже значений, зарегистрированных в контрольной группе без применения материалов ($p > 0,1-0,4$ и $p_1 < 0,01-0,002$). А после использования силера «Pro Root МТА» активность КФ в костной ткани челюсти крыс занимала промежуточный уровень между значениями в интактной и контрольной группах ($p > 0,7-0,8$ и $p_1 > 0,1-0,2$). Это говорит о менее выраженном торможении костной резорбции под влиянием «Pro Root МТА» и об эффективном

Таблиця 3

Влияние материалов на биохимические показатели в костной ткани челюсти в области удаленного моляра крыс через 3 месяца

| Группы крыс | Активность КФ, нкат/г | Активность ЩФ, нкат/г | ОПА, нкат/г | Активность эластазы, нкат/г |
|------------------------------|--|--|---|---|
| 1-я — интактная | 12,6 ± 1,1 | 110,3 ± 9,6 | 257,1 ± 20,6 | 2,87 ± 0,33 |
| 2-я — контроль без материала | 16,2 ± 1,5 p < 0,05 | 151,7 ± 14,8 p < 0,02 | 370,4 ± 27,1 p < 0,002 | 4,25 ± 0,37 p < 0,01 |
| 3-я — «Рестапекс» | 9,8 ± 1,2 p > 0,1 p ₁ < 0,002 | 174,9 ± 19,6 p < 0,01 p ₁ > 0,4 | 415,2 ± 34,8 p < 0,001 p ₁ > 0,3 | 3,06 ± 0,24 p > 0,6 p ₁ < 0,01 |
| 4-я — «Pro Root МТА» | 12,9 ± 1,4 p > 0,8 p ₁ > 0,1 | 127,6 ± 8,2 p > 0,3 p ₁ < 0,002 | 237,8 ± 31,0 p > 0,6 p ₁ < 0,002 | 3,41 ± 0,29 p > 0,25 p ₁ > 0,1 |

Примечания: p — достоверность отличий от показателей в интактной группе; p₁ — достоверность отличий от показателей во 2-й группе (контроль без материала).

ингибировании этого процесса после заполнения лунок удаленных моляров «Рестапексом» (табл. 3).

Подтверждением более эффективного торможения процессов резорбции костной ткани под влиянием «Рестапекса» явились результаты изучения активности эластазы — фермента участвующего в гидролизе коллагена. После заполнения лунок удаленных зубов перечисленными силерами активность эластазы костной ткани через 3 месяца после травмы полностью соответствовала уровню здоровых интактных животных, что говорит о прекращении резорбционных процессов, связанных с травмой (p > 0,4 — 0,6 и p₁ < 0,01 — 0,001). Использование материала «Pro Root МТА» способствовало сохранению активности эластазы на более высоком уровне с промежуточными значениями между показателями в интактной и контрольной группах, что может свидетельствовать о наличии остаточных процессов резорбции костной ткани после удаления моляров.

Кроме того, активность ферментов, участвующих в восстановлении костной ткани, ЩФ и ОПА, в челюстях 4-й группы крыс после применения «Pro Root МТА» соответственно была несколько ниже, чем после заполнения лунок удаленных моляров материалом «Рестапекс». Эти результаты свидетельствуют о том, что под влиянием корневого

герметика «Рестапекс» процессы костной регенерации идут гораздо интенсивнее, чем после применения «Pro Root МТА».

ВЫВОДЫ

1. На ранних сроках после удаления моляров у крыс исследование показало позитивное влияние изучаемых материалов на костную ткань челюсти после травмы, заключающееся в торможении процессов усиленной резорбции и одновременном сохранении на высоком уровне процессов регенерации костной ткани.

2. Биохимический анализ костной ткани челюстей крыс через 3 месяца выявил, что корневой герметик «Рестапекс» не уступает по своим свойствам «Pro Root МТА» и даже имеет преимущество в более выраженном торможении резорбции после травмы наряду с более эффективным течением регенерации в участке костной ткани челюсти, прилегающем к лунке удаленного моляра.

3. Проведенное исследование не обнаружило признаков воспаления в тканях десны крыс на первом этапе эксперимента на основании выбранных маркеров.

Полученные данные подтверждают перспективность разработки и глубоких экспериментальных и клинических исследований отечественных материалов для пломбирования корневых каналов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барабаш Р. Д. Казеинолитическая и БАЭЭ-эстеразная активность слюны и слюнных желез у крыс в поставленном онтогенезе / Р. Д. Барабаш, А. П. Левицкий // Бюлл. Экспер. Биол. — 1973. — № 8. — С. 65–67.
2. Каролук М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Каролук, Л. И. Иванова, Н. Т. Майорова, К. Е. Токарев // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16–18.
3. Левицкий А. П. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, О. В. Деньга: метод. рекомендации. — К.: ГФЦ МЗ Украины, 2005. — 36 с.
4. Левицкий А. П. Сравнительная оценка трех методов определения активности фосфатаз слюны / А. П. Левицкий, А. И. Марченко, Т. Л. Рыбак // Лаб. дело. — 1973. — № 10. — С. 624–625.
5. Общие этические принципы экспериментов на животных: материалы I Национального конгресса по биоэтике. — К.: НАНУ, 2001. — 16 с.
6. Стальная И. Д. Современные методы в биохимии / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили. — М.: Медицина. — 1977. — 68 с.
7. Visser L. The use of p-nitrophenil-N-test-butyl-oxycarbonyl-l-alaninate as substrate for elastase / L. Visser, E. R. Blout // Biochem. Of biophys. Acta. — 1972. — Vol. 268, № 1. — P. 275–280.