

РЕАКЦИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА НА ОРТОПЕДИЧЕСКИЕ КОНСТРУКЦИИ ИЗ СПЛАВОВ, СОДЕРЖАЩИХ НИКЕЛЬ

Рева И.В.^{1,2}, Ким А.Р.^{1,2}, Бочаров В.С.^{1,2}, Толмачёв В.Е.^{1,2}, Рева Г.В.^{1,1;1,2}

¹Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, e-mail: RevaGal@yandex.ru;

^{1,1} Инженерная школа ДВФУ, Владивосток;

^{1,2} Школа биомедицины ДВФУ, Владивосток;

²Международный медицинский научно-образовательный центр, Ниигата, e-mail: avers2@yandex.ru

По международным стандартам (ISO) сплавы, содержащие более 1% никеля, признаны токсичными, тем не менее используемые в медицинской практике ортопедические конструкции в большинстве специальных стоматологических сплавов и нержавеющей сталей содержат более 1% никеля. На современном этапе никель-хромовые сплавы используются в ортопедической стоматологии гораздо чаще, чем благородные сплавы. В области стоматологии никель является основным компонентом никель-хромовых сплавов и нитиноловой проволоки (Ni55Ti45), как и составляющей некоторых припоев белого золота и различных типов стали, используемых в ортодонтической практике. Данные, полученные с помощью иммуногистохимических методов, показали, что, несмотря на отсутствие клинической картины локального воздействия ионов никеля на контактирующие с ортопедическими конструкциями эпителиальные пластинки слизистой оболочки, морфологические показатели по содержанию эффекторных иммунных клеток изменяются.

Ключевые слова: слизистая оболочка, эпителий, полость рта, апоптоз, альтерация, иммунные клетки, стволовые клетки, репаративная регенерация, протезы.

THE ORAL MUCOSA REACTION ON ORTHOPEDIC STRUCTURES ARE CONTAINING NICKEL

Reva I.V.^{1,2}, Kim A.R.^{1,2}, Bocharov V.S.^{1,2}, Tolmachev V.E.^{1,2}, Reva G.V.^{1,1;1,2}

¹Far Eastern Federal University, Vladivostok, e-mail: RevaGal@yandex.ru;

^{1,1}Engineering School FEFU, Vladivostok;

^{1,2}Biomedicine School FEFU, Vladivostok;

²International Medical Research Center (IMERC), Niigata, e-mail: avers2@yandex.ru

According to international standards (ISO) alloys containing more than 1% nickel, are considered toxic, nevertheless used in medical practice in most designs orthopedic special dental alloys and stainless steels contain more than 1% nickel. At the present stage of nickel-chromium alloys are used in prosthetic dentistry is much more common than noble alloys. In the field of dentistry it is the main component of nickel-chromium nickel alloys and Nitinol wire (Ni55Ti45), as part of some white gold solder and various types of steel used in orthodontic practice. The data obtained by immunohistochemistry showed that, despite the lack of local clinical effects of nickel ions on contact with orthopedic plates designs epithelial mucosa, morphological parameters on the content of the effector immune cells unaffected.

Keywords: mucosa epithelium, the oral cavity, apoptosis, alteration, immune cells, stem cells, reparative regeneration, prostheses.

Актуальность. Данные о влиянии зубных протезов на ткани пародонта немногочисленны и касаются в основном проблемы, связанной с ухудшением очистки зубов и полости рта из-за наличия ретенционных пунктов, создаваемых ортопедическими и другими конструкциями [8; 11]. Основные данные влияния на организм сплавов металлов, их коррозионных свойств, скорости всасывания наночастиц получены на основе результатов эндопротезирования суставов [1-4]. Поэтому особую актуальность выполненного исследования обеспечивает тот факт, что общих данных о токсичности, токсикокинетике и токсикодинамике металлов не достаточно, чтобы понять полное воздействие контактного

влияния металлов и их сплавов на механизмы клеточных взаимодействий в системе дифферонов эпителиальных пластинок слизистых оболочек, оценить последствия изменения сигнальных путей и функций клеток [16]. По данным Blinkhorn A, Zadeh-Kabir R. (2003), 88% стоматологов в США используют никель-хромовые ортопедические конструкции по сравнению с 4% в Великобритании [4]. 70% стоматологов США и 3% британских стоматологов считают стоимость ортопедического лечения главным фактором в планировании лечения, которая также диктует различия в более долгосрочных профилактических мерах [9; 14].

Несмотря на то что биологические эффекты наночастиц металлов широко изучены на растениях, микроорганизмах, экспериментальных животных, токсикологическая их характеристика для человека далека от завершения, поэтому исследования, проводимые в данной области, являются, несомненно, актуальными [5; 12; 17; 21].

В связи с этим целью нашей работы является установить особенности реакций иммунного гомеостаза слизистой оболочки полости рта на ортопедические конструкции из сплавов, содержащих никель.

Материал и методы

Клинические исследования. Обследованы 118 пациентов мужского пола (для исключения влияния гормональных циркадных ритмов) в возрасте от 20 до 85 лет.

Группу контроля составили 28 мужчин в возрасте от 20 до 25 лет, без сопутствующей патологии, с локальной адентией в ранние сроки после травмы. При клиническом осмотре использовали индекс гигиены полости рта Силнес–Лое, индекс подвижности зубов Миллера, индекс кровоточивости десен Мюллемана с целью определения степени выраженности воспалительных явлений в пародонте. Регистрировали наличие очагов гиперемии, отечности протезного ложа и слизистой оболочки полости рта. Для оценки состояния тканей пародонта использовались пробу Шиллера–Писарева. Весь спектр клинических обследований слизистой оболочки полости рта проводился в динамике - в процессе установки ортопедических конструкций различного химического состава.

Все пациенты были условно разделены на группы, с учётом возрастной классификации периодизации Г. Крайга: ранняя зрелость – 20–39 лет, средняя зрелость – 40–59 лет, поздняя зрелость – 60 лет и более; по классификации зубных рядов на основе локализации и характеру дефектов в соответствии с классификацией Е.И. Гаврилова; а также по характеру и степени атрофии беззубых челюстей в соответствии с классификациями Келлера и Шредера (табл. 1).

Таблица 1

Распределение материала по группам

Возраст по Крайгу	20-39 лет		40-59 лет	60 и более лет
	контроль	группа исследования		
Количество пациентов	28	35	54	29
Дефекты зубных рядов	1,5+0,025	6,3+0,22	7,9+0,31	11,7+0,09
Степень атрофии челюстей	118°	120°	122°	126° и более

Более наглядно распределение пациентов по возрастным группам представлено в диаграмме на рис. 1.



Рис. 1. Распределение пациентов по возрастным группам

Использовались ортопедические конструкции несъемных ортопедических систем: коронки, виниры, вкладки и мосты, фиксированные на опорных естественных зубах или на вживленных титановых имплантатах «Симпламир» (Россия), Astra Tech (Швеция), Alfa-Bio (Израиль) (табл. 2).

Таблица 2

Распределение материала по виду установленных ортопедических конструкций

	Виды ортопедических конструкций			
	11	9	21	7
На основе сплавов золота	11	9	21	7
Хромоникелевые	12	18	22	13
Оксид циркония	5	8	11	9
Общее количество пациентов	28	35	54	29
Установка на собственные зубы или импланты	23/5	27/8	43/11	9/20

Критериями исключения являлись возраст меньше 18 и более 85 лет; расстройства психики, эндокринные и онкологические заболевания; системные заболевания в стадии

декомпенсации, хронические заболевания слизистой оболочки полости рта.

Все пациенты обследованы согласно протоколу с заполнением медицинской карты стоматологического больного формы № 043/у.

Для морфологического исследования при удалении зубов или их корней, по клиническим показаниям при травматических утратах и хирургической экстирпации зубов, имплантации и микрохирургических пародонтологических операциях иссекались фрагменты слизистой оболочки десны объемом 1 мм³. Забор материала производился как после хирургического удаления зубов, так и в динамике установки ортопедических конструкций на импланты. Всего изучено 211 биопсий.

Основным методом морфологического исследования явилось иммуногистохимическое фенотипирование на основе кластеров дифференцировки (Cluster of Differentiation – CD) клеток Лангерганса (CD68⁺), интерстициальных макрофагов (CD163⁺), Т-лимфоцитов (CD4⁺/CD8⁺). Интенсивность пролиферативных процессов в эпителиальной пластинке оценивалась по митотическому индексу посредством маркера Ki-67: количество митозов на 100 клеток. Аргентофильные белки, ассоциированные с областью ядрышкового организатора, ответственны за активизацию и контроль транскрипции рибосомных генов в клетке, поэтому количественные параметры аргентофилии ядрышка отражают пролиферативную активность клеток. Отличительным свойством этих белков является их способность выявляться методом окрашивания гистологических препаратов 50% AgNO₃.

Иммуноморфологическое исследование проводили в лаборатории патоморфологии университета г. Ниигата (Япония) и Международном медицинском научно-образовательном центре (IMERC, Ниигата, Япония).

Кроме того, при анализе биопсий использовалась рутинная методика окраски гематоксилином и эозином.

В дополнение к биопсийному анализировался и цитологический материал – мазки-отпечатки слизистой оболочки протезного ложа.

Изучение гистологических срезов и мазков-отпечатков осуществлялось с помощью микроскопа Olympus BX52 с оригинальным программным обеспечением для морфометрии.

Статистическая обработка полученных данных, проверка статистической значимости различий между группами по параметрам распределения и сравнение групп выборок проведено с применением методов вариационной статистики, параметрических и непараметрических методов корреляционного анализа.

Для анализа взаимосвязи нормально распределенных данных по показателям иммунного гомеостаза слизистой оболочки протезного ложа двух групп выборок применялся метод корреляционного анализа Пирсона; для признаков, не являющихся нормально

распределенными, при исследовании корреляции использовались непараметрические методы корреляции.

Результаты исследования и их обсуждение

На основании результатов морфологического исследования биоптатов слизистой оболочки протезного ложа пациентов контрольной группы и пациентов была составлена модель, характеризующая состояние локального иммунного гомеостаза до начала ортопедического лечения (табл. 3).

Таблица 3

Показатели иммунного гомеостаза слизистой оболочки протезного ложа в исследуемых группах пациентов до начала ортопедического лечения

Возраст, лет	Кол-во клеток в поле зрения (M±m)						Суммарная площадь ЯОР, мкм ² в поле зрения
	CD4 ⁺ /8 ⁺	CD68	CD163	CD34	МИ по активност и Кi67(на 100 клеток)	Апоптоз кератиноцито в (на 100 клеток)	
20–39	1,09±0,0 3	1,44±0,0 7	1,93±0,1 1	0	6,21±0,24	4,56±0,11	5,27±0,24
40–59	1,37±0,0 9	1,64±0,0 5	2,24±0,0 9	5,37±0,3	5,33±0,32	6,03±0,18	3,59±0,12
60 и более	1,08±0,0 7	0,99±0,0 8	1,78±0,1 3	11,46±1,0	4,18±0,15	5,16±0,29	2,18±0,15
Контроль 20-25 лет	1,09±0,0 3	0,84±0,0 7	1,43±0,1 1	0	2,21±0,24	3,56±0,11	5,3±0,24

* p<0,01.

Данные таблиц были преобразованы в диаграммы, соотносящие количественные показатели к единице площади срезов СОПР (рис. 2).

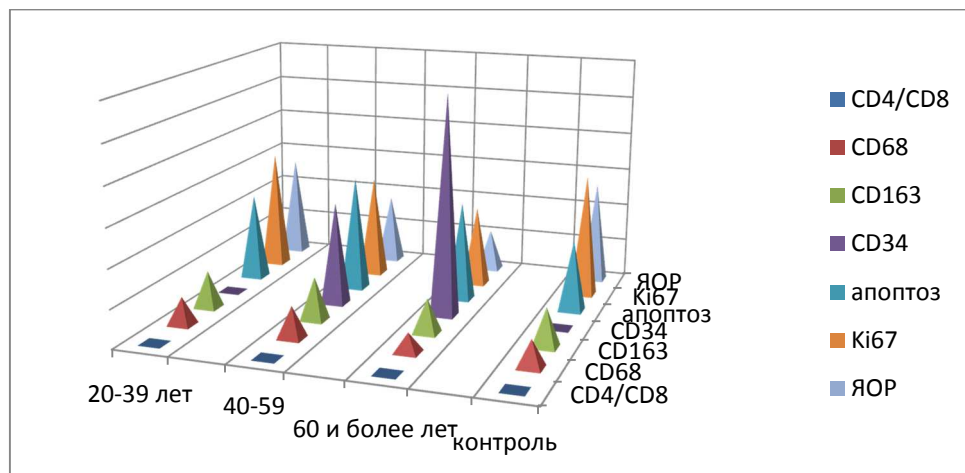


Рис. 2. Показатели иммунного гомеостаза (ИГ) слизистой оболочки рта в контрольной и исследуемых группах до начала ортопедического лечения

В результате хирургического удаления зубов и подготовки протезного ложа к установке ортопедических конструкций анализ образцов биоптатов, исследованных на содержание эффекторных иммунокомпетентных клеток, показал увеличение количества антигенпрезентирующих клеток CD68, фагоцитарного звена иммуноцитов CD163. Пролиферативная активность статистически достоверно повышалась (табл. 4, рис. 3).

Таблица 4

Показатели иммунного гомеостаза слизистой оболочки протезного ложа в исследуемых группах пациентов после ортопедического лечения

Возраст, лет	Кол-во клеток в поле зрения (M±m)						Суммарная площадь ЯОР, мкм ² в поле зрения
	CD4 ⁺ /8 ⁺	CD68	CD163	CD34 (по локализации в эндотелии сосудов)	МИ по активности и Ki67(на 100 клеток)	Апоптоз кератиноцитов (на 100 клеток)	
20–39	2,09±0,1 3	3,44±0,1 1	3,93±0,2 3	3,93±0,19	9,09±0,32	3,56±0,21	8,27±0,24
40–59	1,99±0,1 4	2,64±0,1 8	3,01±0,1 5	4,71±0,17	8,45±0,39	4,09±0,22	5,44±0,16
60 и более	1,37±0,2 3	2,03±0,2 6	2,83±0,2 0	9,46±0,49	5,54±0,28	4,71±0,31	3,56±0,27
Контроль 20-25 лет	2,21±0,1 6	1,94±0,1 7	2,39±0,2 2	1,32±0,11	3,22±0,15	4,02±0,13	6,3±0,51

* p<0,01.

Данные таблиц были преобразованы в диаграммы, соотносящие количественные показатели к единице площади срезов СОПР (рис. 3).

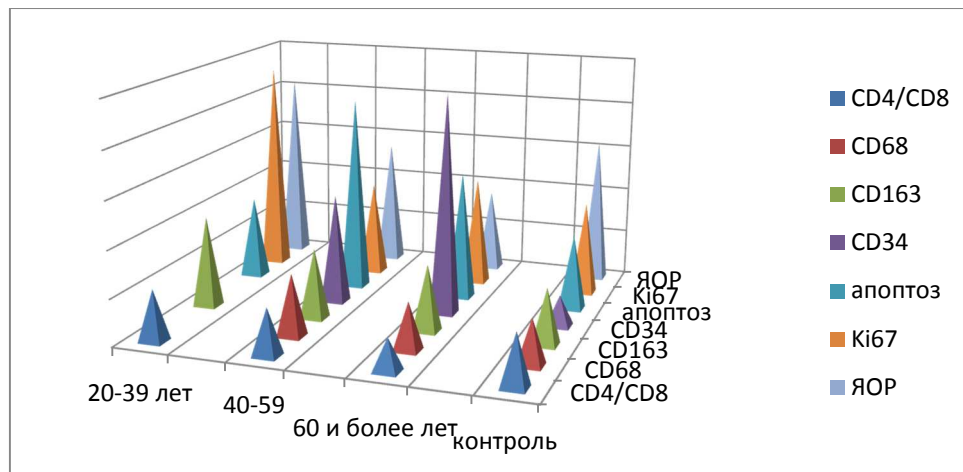


Рис. 3. Показатели иммунного гомеостаза (ИГ) слизистой оболочки рта в контрольной и исследуемых группах после ортопедического лечения

Иммунный ответ в данном случае был первоначально реализован в результате повреждающих действий за счёт хирургического вмешательства. Эти данные согласуются с литературными ссылками о малом влиянии ортопедических конструкций из сплавов металлов в связи с тем, что даже в случае коррозии конструкций из сплавов никеля с другими металлами за счёт быстрого всасывания ионов металлов, местные локальные реакции клинически не проявляются. Увеличение количества эффекторных иммунцитов гипотетически может сопровождать ослабление иммунного ответа в других топографических зонах организма с последующей клиникой в зависимости от повреждения [16].

Заключение

Анализ полученных данных с помощью методов выявления эффекторных иммунцитов и активности гена Ki67 и ЯОР показал неоднородность пролиферативной активности у пациентов различных возрастных групп, а также зависимость этих показателей от состояния иммунного гомеостаза слизистой оболочки полости рта у пациентов. Это свидетельствует о необходимости применения количественной патоморфологической диагностики для уточнения диспластических процессов в результате воздействия ортопедических конструкций из сплавов, содержащих никель. Патологический симптомокомплекс, связанный с реакцией на зубные протезы, диагностируемый как «непереносимость», объясняется только недостаточными знаниями о причинах и механизмах заболеваний, обусловленных материалами зубных протезов [13; 15; 19; 20]. «Непереносимость» следует рассматривать как собирательный диагноз, основанный на многообразии жалоб и клинических состояний [7; 10]. В настоящее время его можно считать только предварительным, который после дифференциальной диагностики следует заменить диагнозом, соответствующим конкретной нозологической форме [6; 18]. Полученные нами данные позволяют объективно оценить реакцию слизистой оболочки на ортопедические

конструкции из сплавов, содержащих никель, для предварительной оценки возможности их применения.

Выводы

В области металлокерамики никель-хромовые сплавы можно считать недорогой альтернативой благородным сплавам. В случае с достаточно большой концентрацией хрома (более 20%) они химически стабильны и, таким образом, устойчивы к коррозии в полости рта. Поэтому при протезировании должны применяться только никель-хромовые сплавы с содержанием хрома, превышающим 20%.

В случае выявленной аллергии на один или более компонентов сплава их применение не рекомендуется. Данная рекомендация применима и для всех других сплавов.

Работа выполнена при поддержке научного фонда ДВФУ, в рамках государственного задания 2014/36 от 03.02.2014 г. и Международного гранта ДВФУ (соглашение № 13-09-0602-м от 6 ноября 2013 г.).

Список литературы

1. Attari N., Roberts J.F. Restoration of primary teeth with crowns: a systematic review of the literature // Eur Arch Paediatr Dent. - 2006. - Jun; 7(2):58-62; discussion 63. Review.
2. Baumann B., Hendrich C., Barthel T., Bockholt M., Walther M., Eulert J., Rader C.P. 9- to 11-year results of cemented titanium mueller straight stem in total hip arthroplasty // Orthopedics. - 2007. - Jul; 30(7):551-7.
3. Baur W., Hönle W., Willert H.G., Schuh A. Pathological findings in tissue surrounding revised metal/metal articulations // Orthopade. - 2005. - Mar; 34(3):225-6, 228-33. German.
4. Blinkhorn A., Zadeh-Kabir R. Dental care of a child in pain -- a comparison of treatment planning options offered by GDPs in California and the North-west of England // Int J Paediatr Dent. - 2003. - May; 13(3):165-71.
5. Canet F., Baril Y., Brailovski V., Petit Y., Bissonnette G., Laflamme G.Y. Force relaxation and sprinback of novel elastic orthopedic cables // Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. - 2011; 2011:5758-61. doi: 10.1109/IEMBS.2011.6091425.
6. Dobiecki K., Zietek P., Kołodziej L., Brzosko M., Bohatyrewicz A., Kedzierski M. The influence of hypersensitivity to nickel, chrome and cobalt on the process of fracture healing in patients treated operatively by stable osteosynthesis // Chir Narzadow Ruchu Ortop Pol. - 2009. - Jan-Feb; 74(1):46-9.

7. Donaldson N., Baviskar P., Cunningham J., Wilson D. The permeability of silicone rubber to metal compounds: relevance to implanted devices // *J Biomed Mater Res A*. - 2012. - Mar; 100(3):588-98. doi: 10.1002/jbm.a.33257. Epub 2011 Dec 30.
8. Ferreira M.B., Barão V.A., Faverani L.P., Hipólito A.C., Assunção W.G. The role of superstructure material on the stress distribution in mandibular full-arch implant-supported fixed dentures. A CT-based 3D-FEA // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. - 2014. - Feb 1; 35:92-9. doi: 10.1016/j.msec.2013.10.022. Epub 2013 Oct 31.
9. Ge J., Wang X.Z., Feng H.L. Influence of different post core materials on the color of Empress 2 full ceramic crowns // *Chin Med J (Engl)*. - 2006. - Oct 20; 119(20):1715-20.
10. Hofer J.K., Ezzet K.A. A minimum 5-year follow-up of an oxidized zirconium femoral prosthesis used for total knee arthroplasty // *Knee*. - 2014. - Jan; 21(1):168-71. doi: 10.1016/j.knee.2013.08.015. Epub 2013 Aug 28.
11. Kelly J.R., Rungruanganunt P., Hunter B., Vailati F. Development of a clinically validated bulk failure test for ceramic crowns // *J Prosthet Dent*. - 2010. - Oct; 104(4):228-38. doi: 10.1016/S0022-3913(10)60129-1.
12. Kılınc H.İ., Kesim B., Gümüş H.Ö., Dinçel M., Erkaya S. Effects of metal surface grinding at the porcelain try-in stage of fixed dental prostheses // *J Adv Prosthodont*. - 2014. - Aug; 6(4):317-24. doi: 10.4047/jap.2014.6.4.317. Epub 2014 Aug 14.
13. Klimek L., Palatyńska-Ulatowska A. Scanning electron microscope appearances of fretting in the fixed orthodontic appliances // *Acta Bioeng Biomech*. - 2012; 14(3):79-83.
14. Latta M.A., Kelsey W.P., Murdock C.M. Effects of adhesive liner and provisional cement on the bond strength of nickel/chrome/beryllium alloy cemented to dentin // *Quintessence Int*. - 2005. - Nov-Dec; 36(10):817-23.
15. Lützner J., Dinnebier G., Hartmann A., Günther K.P., Kirschner S. Study rationale and protocol: prospective randomized comparison of metal ion concentrations in the patient's plasma after implantation of coated and uncoated total knee prostheses // *BMC Musculoskelet Disord*. - 2009. - Oct 14; 10:128. doi: 10.1186/1471-2474-10-128.
16. Machet L., Le Dû S., Bernez A., Pillette-Delarue M., Lelièvre G., Hoarau C., Hüttenberger B., Vaillant L. The value of allergy survey in a retrospective series of 40 patients with burning-mouth syndrome (stomatodynia) // *Ann Dermatol Venereol*. - 2008. - Feb; 135(2):105-9. doi: 10.1016/j.annder.2007.11.009. Epub 2008 Feb 1. French.
17. Oh J.W., Song K.Y., Ahn S.G., Park J.M., Lee M.H., Seo J.M. Effects of core characters and veneering technique on biaxial flexural strength in porcelain fused to metal and porcelain veneered zirconia // *J Adv Prosthodont*. - 2015. - Oct; 7(5):349-57. doi: 10.4047/jap.2015.7.5.349. Epub 2015 Oct 28.

18. Song H., Yin W., Ma Q. Allergic palmoplantar pustulosis caused by cobalt in cast dental crowns: a case report // *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* - 2011. - Jun; 111(6):e8-10. doi: 10.1016/j.tripleo.2010.12.013.
19. Thienpont E., Berger Y. No allergic reaction after TKA in a chrome-cobalt-nickel-sensitive patient: case report and review of the literature // *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* - 2013. - Mar; 21(3):636-40. doi: 10.1007/s00167-012-2000-z. Epub 2012 Apr 10. Review.
20. Williams S., Tipper J.L., Ingham E., Stone M.H., Fisher J. In vitro analysis of the wear, wear debris and biological activity of surface-engineered coatings for use in metal-on-metal total hip replacements // *Proc Inst Mech Eng H.* - 2003. - 217(3):155-63.
21. Xu M., Yang F., Wang R.F. Evaluation of marginal adaptation of three different copings of metal-ceramic crowns // *Shanghai Kou Qiang Yi Xue.* - 2012. - Apr; 21(2):154-6. Chinese.