

*Т. Н. Терехова, А. В. Бутвиловский, Е. С. Юркевич*

## **ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СМЕСИ ДЛЯ ПРИОСТАНОВЛЕНИЯ КАРИЕСА ЗУБОВ НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО СОСТАВА ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КОНВЕНЦИОНАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ, ПОЛУЧЕННЫЕ В СУБХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»*

---

*Исследование посвящено изучению влияния предложенной нами экспериментальной смеси для приостановления кариеса зубов на морфологический состав периферической крови лабораторных животных при изучении кумулятивного действия.*

*По результатам исследования влияния экспериментальной смеси на количественный состав форменных элементов периферической крови не установлено.*

*Повторное внутрижелудочное введение экспериментальной смеси для приостановления кариеса зубов не приводит к изменению уровня гемоглобина у опытных животных в сравнении с контролем.*

**Ключевые слова:** *приостановление кариеса зубов, экспериментальная смесь, фторид диамминсеребра, кумулятивное действие, морфологический состав периферической крови.*

*T. N. Terekhova, A. V. Butvilovsky, E. S. Yurkevich*

**THE STUDY OF THE EFFECT OF THE EXPERIMENTAL MIXTURE FOR THE ARRESTING CARIES TREATMENT ON SOME INDICATORS OF THE MORPHOLOGICAL COMPOSITION OF THE PERIPHERAL BLOOD OF CONVENTIONAL ANIMALS OBTAINED IN A SUBCHRONIC EXPERIMENT**

*The research is devoted to the study of the effect of the experimental mixture we have proposed for arresting caries treatment on the morphological composition of the peripheral blood of laboratory animals in the study of the cumulative effect.*

*According to the results of the research, the influence of the experimental mixture on the quantitative composition of the cells and cell fragments of peripheral blood was not established.*

*Repeated intragastric administration of the experimental mixture for arresting caries treatment does not lead to a change in the hemoglobin level in the experimental animals in comparison with the control.*

**Key words:** *arresting caries treatment, experimental mixture, silver diamine fluoride, cumulative effect, morphological composition of peripheral blood.*

В настоящее время наиболее эффективным методом приостановления кариеса временных зубов принято считать применение фторида диамминсеребра (ФДС), вызывающего выраженную стагнацию кариозного процесса, как на уровне эмали, так и дентина [13–15]. Единственным недостатком применения ФДС, ограничивающим его широкое применение в клинической практике, является возникновение окрашивания обработанных твердых тканей зуба [8]. Разработка новых способов применения ФДС, сопровождающихся меньшей вероятностью возникновения окрашивания обработанных зубов и/или его интенсивностью является актуальным направлением научных исследований.

Нами предложен новый способ применения ФДС заключающийся в том, что незамедлительно после нанесения раствора ФДС необходимо провести аппликацию на поверхность зуба 10 %-го раствора повидон-йода [9, 11]. Данный способ апробирован *in vitro* на удаленных зубах с положительным результатом [1]. Также проведены исследования по оценке острой пероральной токсичности экспериментальной смеси (ЭС), состоящей из гидроксиапатита, раствора ФДС и повидон-йода, ее раздражающего действия на кожу и слизистые, сенсibiliзирующего действия и цитотоксического действия *in vitro* [3]. В результате данных исследований установлено, что по параметрам острой внутрижелудочной токсичности ЭС относится к малоопасным химическим соединениям, не оказывает местно-раздражающего действия при однократном эпикутанном нанесении на неповрежденные кожные покровы белых крыс; не обладает ирритативным действием при однократном воздействии на слизистые оболочки глаз кроликов, не обладает сенсibiliзирующим дей-

ствием и цитотоксическим действием в опытах *in vitro* [3]. В ходе изучения кумулятивного действия ЭС в условиях повторного внутрижелудочного введения крысам-отъёмышам обнаружено, что выживаемость лабораторных животных в опыте и контроле составила 100 %, то есть исследуемый образец не обладает кумулятивными свойствами на уровне проявления смертельных эффектов, коэффициент кумуляции более 5 [7]. По окончании 30-суточного эксперимента по изучению кумулятивного действия ЭС различия относительных коэффициентов массы печени, почек, сердца, селезенки и надпочечников в сформированных группах не зафиксированы [7]. Актуальным направлением продолжения начатых токсикологических исследований является оценка влияния ЭС на морфологические показатели периферической крови при изучении кумулятивного действия.

Цель исследования: изучить влияние экспериментальной смеси (ЭС) для приостановления кариеса зубов на морфологический состав периферической крови лабораторных животных при изучении кумулятивного действия.

Задачи исследования:

1. Оценить влияние ЭС на количество форменных элементов крови (эритроциты, лейкоциты, тромбоциты) у крысят-отъёмышей при изучении кумулятивного действия в условиях повторного интрагастрального введения.

2. Сравнить содержание гемоглобина у опытных и контрольных животных по окончании 30-суточного эксперимента по изучению кумулятивного действия ЭС.

**Материалы и методы.** Объектом исследования служили здоровые рандомизированные белые крысята-

отъемыши (самцы) массой 120–130 г, возраст 8–12 недель. Животные проходили акклиматизацию к лабораторным условиям в течение 5 дней до начала эксперимента. После акклиматизации животные методом случайной выборки были разделены на группы по 9 особей и помещены в отдельные клетки. Для содержания животных использовались полипропиленовые ящики, покрытые сверху сеткой из нержавеющей стали. В качестве подстилки использовали чистые опилки, подвергнутые автоклавированию. Каждая клетка была снабжена стеклянной бутылкой для воды с насадкой из нержавеющей стали. Животные содержались в стандартных условиях: температура в помещении варьировала в диапазоне  $22 \pm 3$  °С, относительная влажность 30–70 %, освещение – искусственное (световой режим: 12 часов освещения, 12 часов темноты). Для кормления была использована стандартная лабораторная диета без ограничения питьевой воды. Животных идентифицировали путем нанесения индивидуальной метки при помощи пикриновой кислоты. На каждом ящике также была бирка с указанием номера исследования, названия исследуемого вещества, количества животных, группы, даты исследования, дозы. Предмет исследования: количественный состав гематологических показателей периферической крови (эритроциты, гемоглобин, лейкоциты, тромбоциты).

Для оценки кумулятивного действия животным повторно (20-кратно) внутрижелудочно с помощью иглы-зонда вводили разработанную нами экспериментальную смесь в виде 50 %-ой водной взвеси в дозах, составляющих 1/10, 1/20 и 1/50 от DL50 (более 5000 мг/кг); контрольные животные получали дистиллированную воду в эквивалентных количествах в течение 30 суток [4].

В состав смеси включены гидроксипатит (AC371260010, «Acros Organics»), препарат ФДС («Аргенат однокомпонентный», «ВладМиВа») и 10 % раствор повидон-йода («Бетадин», «EGIS») в соотношении 1 грамм гидроксипатита, 0,3 мл раствора ФДС и 10,97 мл раствора йода [3, 11].

Наблюдение за общим состоянием животных, их поведением и клинической картиной токсического воздействия проводили ежедневно, в одно и то же время, в период максимального проявления ожидаемых эффектов после введения вещества, с обязательной регистрацией в журнале результатов осмотра индивидуально для каждого животного. Кроме того, два раза в день животных осматривали на предмет выявления заболеваемости и/или гибели [4].

По завершению эксперимента определяли содержание эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов и гемоглобина в периферической крови унифициро-

ванными (импедансными) методами клинической гематологии. Определение гемоглобина проводили гемоглобинцианидным методом с помощью набора реактивов НТК «Анализ X» (Республика Беларусь) [5].

Полученные результаты обработаны методами описательной статистики, описание количественных переменных представлено в виде медианы, нижнего и верхнего квантиля Me [Q1; Q3]. Достоверность различий при множественном сравнении определена по критерию Н (Краскела-Уоллиса), при апостериорных сравнениях – по критерию U (Манна-Уитни) с поправкой Бонферрони и критерию z (с критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез равном 0,008) [2, 6, 12].

**Результаты и обсуждение.** Содержание эритроцитов в периферической крови у опытных и контрольных животных показано на рисунке 1.

При множественном сравнении по содержанию эритроцитов у крысят в сформированных группах ( $N = 3,833$ ;  $p = 0,2796$ ) и апостериорном анализе по данному показателю значимые отличия отсутствовали ( $p > p_{\text{крит}}$ ). Содержание эритроцитов в группе контроля составило 7,49 [7,14; 7,58] трлн/л, в группе 1/10 – 7,28 [6,99; 7,74] трлн/л, в группе 1/20 – 7,43 [6,88; 7,98] трлн/л и в группе 1/50 – 6,97 [6,89; 7,32] трлн/л. Результаты апостериорных сравнений групп по данному показателю представлены в таблице 1.

При множественном сравнении групп по содержанию гемоглобина (рисунок 2) значимые отличия не обнаружены ( $N = 5,813$ ;  $p = 0,1194$ ). В группе 1/10 содержание гемоглобина составило 151 [144; 152] г/л, в группе 1/20 – 147 [143; 161,5] г/л,

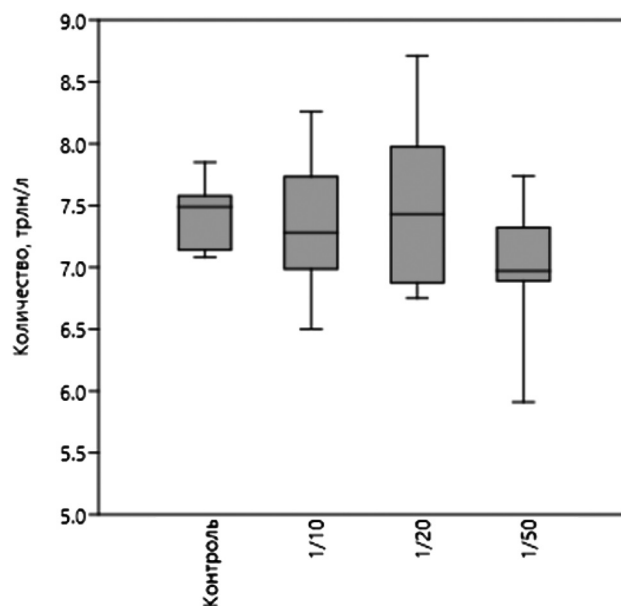


Рисунок 1. Содержание эритроцитов в периферической крови лабораторных животных в сформированных группах

Таблица 1. Результаты попарных сравнений сформированных групп по содержанию эритроцитов

Группа	Контроль	1/10	1/20	1/50
Контроль		0,8251	0,9647	0,0339
1/10	37,5		0,9296	0,1851
1/20	40,5	39		0,2883
1/50	16	25	28	

Примечание. Здесь и далее в нижнем левом углу представлены значения критерия U, в верхнем правом углу – вероятность безошибочного прогноза.

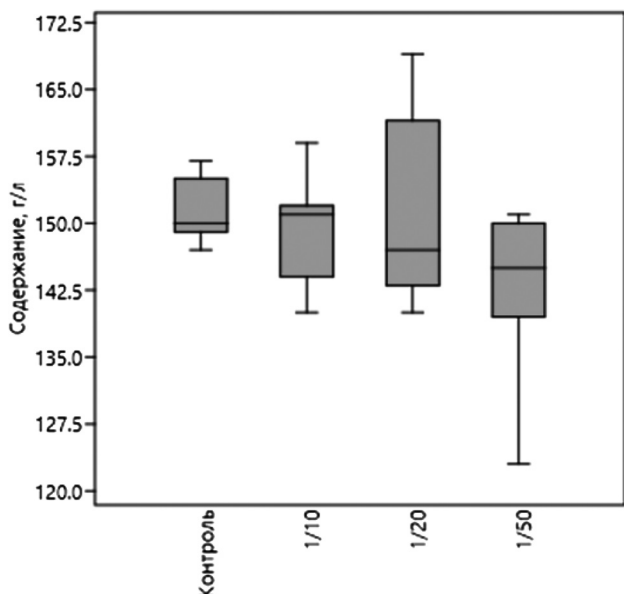


Рисунок 2. Содержание гемоглобина в периферической крови лабораторных животных в сформированных группах

Таблица 2. Результаты попарных сравнений сформированных групп по содержанию гемоглобина

Группа	Контроль	1/10	1/20	1/50
Контроль		0,3291	0,3740	0,0185
1/10	29		0,9647	0,1198
1/20	30	39,5		0,2687
1/50	13,5	22,5	27,5	

в группе 1/50 – 145 [139,5; 150] г/л, в контрольной группе – 150 [149; 155] г/л. При попарном сравнении (таблица 2) случаи  $p < p_{\text{крит}}$  не обнаружены.

При множественном сравнении содержания лейкоцитов в группах (рисунок 3) установлено, что значимые отличия отсутствуют ( $N = 3,344$ ;  $p = 0,3415$ ). В группе 1/10 данный показатель составил 21,40 [18,60; 24,10] млрд/л, группе 1/20 – 18,30 [15,10; 22,80] млрд/л, в группе 1/50 – 17,00 [13,20; 22,85] млрд/л и в контрольной группе – 14,80 [14,25; 23,35] млрд/л. В ходе попарных сравнений (таблица 3) значимые отличия не обнаружены.

При дисперсионном анализе содержания тромбоцитов (рисунок 4) установлено, что значимые раз-

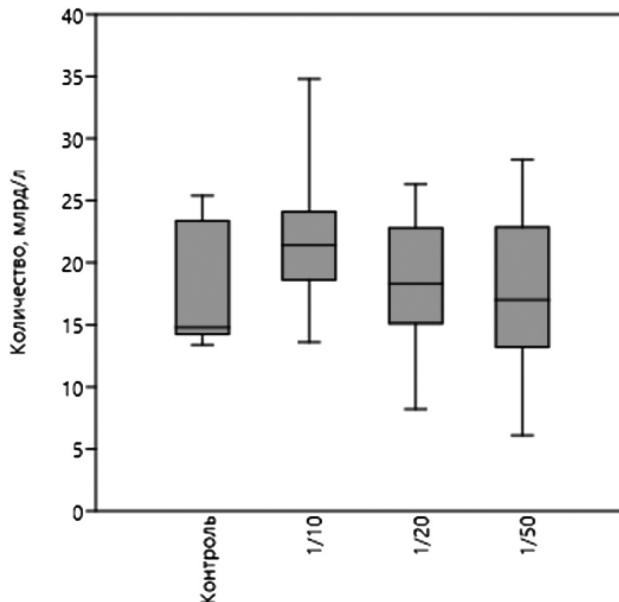


Рисунок 3. Содержание лейкоцитов в периферической крови лабораторных животных в сформированных группах

Таблица 3. Результаты попарных сравнений сформированных групп по содержанию лейкоцитов

Группа	Контроль	1/10	1/20	1/50
Контроль		0,2161	0,4797	0,7910
1/10	26		0,1853	0,1333
1/20	32	25		0,6588
1/50	37	23	35	

личия сравниваемых групп по данному показателю ( $N = 9,836$ ;  $p = 0,020$ ). Наибольшее содержание тромбоцитов отмечено в группе 1/10 (768 [744; 927,5] млрд/л), а наименьшее – в контрольной группе (681 [616; 755,5] млрд/л). В группе 1/20

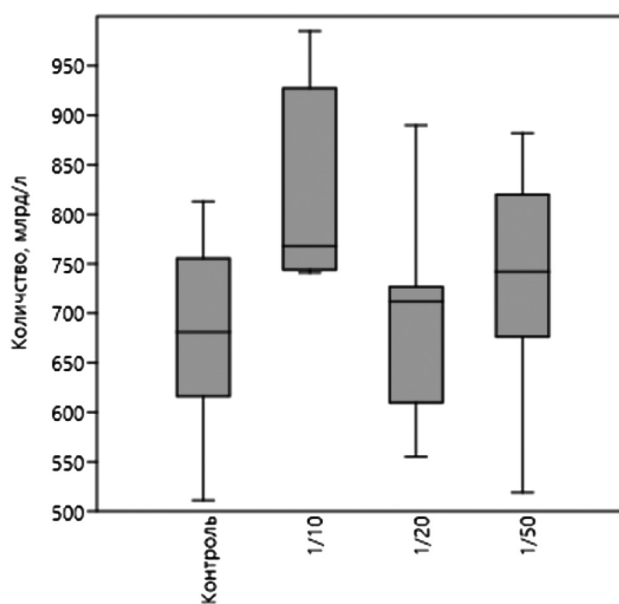


Рисунок 4. Содержание тромбоцитов в периферической крови лабораторных животных в сформированных группах

данный показатель оказался равным 712 [609,5; 727] млрд/л, в группе 1/50 – 742 [676; 820] млрд/л.

При апостериорном анализе сформированных групп по содержанию тромбоцитов (таблица 4) установлено значимое ( $p < p_{\text{крит}}$ ) различие между группами 1/10 и 1/20 ( $U = 7$ ;  $p = 0,0036$ ). Значимые отличия опытных групп от контрольной группы не зафиксированы.

Таблица 4. Результаты попарных сравнений сформированных групп по содержанию тромбоцитов

Группа	Контроль	1/10	1/20	1/50
Контроль		0,0134	0,7570	0,2508
1/10	12		0,0036	0,1449
1/20	36,5	7		0,4799
1/50	27	23,5	32	

Примечание. Серым цветом выделены ячейки, где  $p < p_{\text{крит}}$

Поскольку результаты множественного сравнения по критерию Н (Краскела-Уоллиса) и апостериорных сравнений – по критерию U (Манна-Уитни) с поправкой Бонферрони существенно отличаются, нами был вычислен критерий z (таблица 5).

Таблица 5. Результаты попарных сравнений (по критерию z) сформированных групп по содержанию тромбоцитов

Группа	Контроль	1/10	1/20	1/50
Контроль		0,0052	0,8579	0,2538
1/10	2,797		0,0088	0,0978
1/20	0,179	2,618		0,3360
1/50	1,141	1,656	0,9622	

Таким образом, по критерию z подтверждены значимые различия по содержанию тромбоцитов между опытной группой и группой, получавшей ЭС в дозе 1/10 от DL50 на 12,8 %, не выходящие за пределы физиологической нормы для беспородных белых крыс [10]. Следует отметить, что во всех остальных случаях результаты попарных сравнений по критериям U и z совпадали.

### Выводы

1. При изучении кумулятивного действия в условиях повторного интрагастрального введения экспериментальной смеси для приостановления кариеса зубов влияния на количественный состав форменных элементов периферической крови не установлено.

2. Повторное внутрижелудочное введение экспериментальной смеси для приостановления кариеса зубов не приводит к изменению уровня гемоглобина у опытных животных в сравнении с контролем.

### Литература

1. Бутвиловский, А. В. Изучение изменения химического состава твердых тканей пораженных кариесом временных зубов после аппликации 38 %-ного фторида диамминсеребра и препарата йода // Медицинский журнал. – 2015. – № 4. – С. 55–57.
2. Гржибовский, А. М. Анализ трех и более независимых групп данных / А. М. Гржибовский // Экология. – 2008. – № 3. – С. 50–58.
3. Изучение биологического действия экспериментальной смеси для приостановления кариеса временных зубов в рамках первичной токсикологической оценки / Т. Н. Терехова [и др.] // Военная медицина. – 2019. – № 4.
4. Инструкция 1.1.11-12-35-2004. Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 14.12.2004. – Минск., 2004. – 43 с.
5. Меншиков, В. В. Лабораторные методы исследования в клинике / Справ. под ред. проф. В. В. Меншикова. – М.: Медицина, 1987. – С. 107–125.
6. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – М.: Медиасфера, 2002. – 312 с.
7. Терехова, Т. Н. Влияние экспериментальной смеси для приостановления кариеса зубов на динамику биометрических показателей конвенциональных экспериментальных животных в субхроническом эксперименте / Т. Н. Терехова, А. В. Бутвиловский, Е. С. Юркевич // Стоматология (Узбекистан). – 2019. – № 3.
8. Терехова, Т. Н. Возможности применения препаратов фторида диамминсеребра в детской стоматологии / Т. Н. Терехова, А. В. Бутвиловский, Ж. М. Бурак // Современная стоматология. – 2009. – № 1. – С. 57–59.
9. Терехова, Т. Н. Способ приостановления кариеса зубов с помощью фторида диамминсеребра / Т. Н. Терехова, А. В. Бутвиловский, В. В. Хрусталева // Современная стоматология. – 2019. – № 3.
10. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных / Справочник; сост. Т. В. Абрашова [и др.]; под ред. В. Г. Макарова, М. Н. Макаровой. – СПб.: Изд-во «ЛЕМА», 2013. – 116 с.
11. Химическое моделирование взаимодействия препаратов серебра с твердыми тканями зуба и иодидами / А. В. Бутвиловский [и др.] // Медицинские новости. – 2019. – № 3.
12. Hammer, O. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis / O. Hammer, D. A. T. Harper, P. D. Ryan // Palaeontologia Electronica. – 2001. – Vol. 4(1). – P. 1–9.
13. Horst, J. A. UCSF Protocol for Caries Arrest Using Silver Diamine Fluoride: Rationale, Indications and Consent / J. A. Horst, H. Ellenikiotis, P. L. Milgrom // CDA J. – 2016. – Vol. 44 (1). – P. 17–28.
14. Pediatric Dentists' Silver Diamine Fluoride Education, Knowledge, Attitudes, and Professional Behavior: A National Survey / M. B. Antonioni [et al.] // Journal of Dental Education. – 2018. – Vol. 83 (2). – P. 173–182.
15. Silver diamine fluoride: A review and current applications / S. Shah [et al.] // JoAOR. – 2014. – Vol. 5(1). – P. 25–35.

Поступила 05.09.2019 г.