

8. Streszczenie

Współcześnie stosowane komponenty stałych aparatów cienkołukowych produkowane są z wykorzystaniem materiałów polimerowych, ceramiki oraz stopów metali. W dostępnym piśmiennictwie istnieje wiele publikacji poświęconych badaniom porównawczym poszczególnych produktów w odniesieniu do właściwości materiałów, z których zostały wykonane.

Jak dotąd, mimo wysiłków podejmowanych przez producentów i zespoły badawcze, nie udało się stworzyć materiałów ortodontycznych spełniających wszystkie wymagania klinicystów.

W przypadku materiałów stosowanych w leczeniu ortodontycznym, których zadaniem nie jest deponowanie leków i czynników biostymulujących, niezwykle pożądaną cechą jest wysoka stabilność chemiczna uniemożliwiająca lub istotnie redukująca uwalnianie do środowiska zewnętrznego potencjalnie szkodliwych biologicznie komponentów, w tym jonów pierwiastków metalicznych.

Celem pracy była ocena bezpieczeństwa biologicznego elementów stałych aparatów ortodontycznych w warunkach *in vitro*.

W pierwszym etapie badania oceniono uwalnianie do roztworów wodnych jonów chromu, miedzi, żelaza, molibdenu, niklu, tytanu i wanadu z zamków oraz łuków ortodontycznych.

Materiał badawczy stanowiło 60 próbek, po 5 dla każdego rodzaju materiału, tj. trzech rodzajów zamków ortodontycznych, 3 rodzajów łuków wykonanych ze stali nierdzewnej, 3 rodzajów łuków wykonanych ze stopów niklowo – tytanowych oraz 3 rodzajów łuków wykonanych ze stopów tytanowo – molibdenowych.

Oceniane materiały przechowywano w roztworach wodnych w temperaturze 37°C przez 1 godzinę, 24 godziny, 7 dni oraz 30 dni. Po każdym z okresów obserwacji zbierano eluaty z próbek i dokonywano w nich oznaczeń stężenia jonów pierwiastków metalicznych. Po zebraniu roztworów próbki zalewano nowym medium wymywającym.

Oznaczenie pierwiastków w eluatach zostało wykonane metodą optycznej atomowej spektroskopii emisyjnej z indukcyjnie wzbudzaną plazmą (ang. ICP – OES) z wykorzystaniem spektrometru emisyjnego z indukcyjnie wzbudzoną plazmą argonową Optima 7300DV (Perkin Elmer, USA).

W drugim etapie doświadczenia poddano analizie wpływ roztworów sporządzonych na podstawie profili uwalniania jonów sporządzonych w poprzednim etapie dla poszczególnych materiałów na metabolizm komórek fibroblastów mysich 3T3.

Oceniano kolejno:

- stopień koncentracji komórek w hodowlach,

- żywotność komórek za pomocą testy barwienia błękitem trypanu

oraz aktywność metaboliczną komórek wykorzystując do tego celu test MTT.

Normalność rozkładu danych ilościowych weryfikowano wizualnie na histogramach oraz za pomocą testu W Shapiro-Wilka. Ze względu na znaczne odchylenia rozkładu od normalności, zmienne ilościowe przedstawiono za pomocą mediany, zakresu międzykwartylowego (czyli rozrzutu 50% środkowych wartości) oraz zakresu.

Analizę zmian stężeń pierwiastków w czasie wykonano za pomocą testu Friedmana, a porównania między różnymi typami materiałów wykonano z użyciem testu H Kruskala-Wallisa. W przypadku stwierdzenia statystycznie istotnych różnic grupy porównywano parami za pomocą testu post-hoc Dunn. Zależność między stężeniami jonów a wynikami testów żywotności mierzono za pomocą współczynnika korelacji rang Spearmana (r_s).

Po 1 godzinie obserwacji istotnie najwyższą zawartość chromu oznaczono w eluatach zamków ortodontycznych oraz łuków stalowych na poziomie wartości środkowych wynoszących odpowiednio 0.185 oraz 0.127 mg/kg.

W kolejnych okresach obserwacji powyższe grupy materiałów emitowały istotnie większe ilości oznaczanego pierwiastka na poziomie odpowiednio 0.241 i 0.142 mg/kg po 24 godzinach oraz 0.004 i 0.030 mg/kg po 7 dniach obserwacji.

W eluatach uzyskanych po 30 dniach przechowywania próbek materiałów ortodontycznych w środowisku wodnym, nie zidentyfikowano obecności jonów chromu, za wyjątkiem pojedynczej próbki pochodzącej z łuku stalowego.

Łuki niklowo – tytanowe emitowały do środowiska zewnętrznego największe ilości niklu po 1 godzinie i 24 godzinach inkubacji próbek tj. odpowiednio 0.657, 0.553 mg/kg natomiast po 7 i 30 dniach odpowiednio dniach, 0.227 i 0.194 mg/kg.

Po 7 dniach obserwacji jonów niklu nie oznaczono w roztworach otrzymanych z łuków tytanowo – molibdenowych natomiast po 30 dniach doświadczenia łuki NiTi były jedyną grupą materiałów, w której eluatach potwierdzono obecność wspomnianego pierwiastka.

W przypadku komórek uzyskanych na drodze II pasażu, statystycznie istotne zmniejszenie żywotności fibroblastów 3T3 odnotowano w przypadku inkubacji komórek z mieszaninami jonów metali odpowiadającym profilom emisyjnym łuków NiTi firmy Ortho Technology, łuków stalowych firmy Dentaurem oraz łuków stalowych i niklowo – tytanowych rozpatrywanych jako grupy materiałowe.

Podczas badania prowadzonych z wykorzystaniem komórek III pasażu jedynymi roztworami jonów, które nie redukowały w sposób statystycznie istotny żywotności fibroblastów były mieszaniny sporządzone na podstawie analizy eluatów łuków beta – tytanowych firmy 3M oraz łuków stalowych firmy Dentaurem.

W przypadku fibroblastów uzyskanych w IV pasażu, materiałami, których eluaty w sposób istotny nie redukowały żywotności komórek były zamki Victory (a) i Discovery, oraz łuki TMA firm 3M i Dentaurem.

Po 24 godzinach inkubacji komórek z roztworami zawierającymi profile jonowe charakterystyczne dla ocenianych materiałów i grup materiałowych, statystycznie istotną redukcję procesów metabolicznych fibroblastów 3T3 obserwowano w przypadku łuków NiTi firmy Ortho Technology, łuków TMA i NiTi firmy 3M, łuków stalowych oraz łuków TMA.

Po 48 godzinach doświadczenia, większość mieszanin jonów upośledzała w sposób istotny funkcje metaboliczne komórek. Wyjątek stanowiły wzorce eluatów zamków Integra, drutów Beta Force, łuków Beta III Titanium, drutów Rematitan Lite, łuków Remanium Ideal Arch oraz zamków ortodontycznych.

W kolejnym okresie obserwacji tj. po 72 godzinach hodowli z dodatkiem mieszanin jonów metali odnotowano, że statystycznie istotną redukcję dynamiki procesów metabolicznych komórek

fibroblastów 3T3 powodowały wszystkie roztwory sporządzone na podstawie profili uwalniania jonów charakterystycznych dla ocenianych materiałów, z wyjątkiem zamków firmy Dentaurum, łuków stalowych firmy 3M, łuków NiTi oraz TMA firmy Dentaurum, oraz łuków TMA ocenianych jako grupa materiałów.

Po 7 dniach doświadczenia istotną redukcję procesów metabolicznych zachodzących w hodowlach komórkowych zaobserwowano w przypadku inkubacji fibroblastów z mieszaninami jonów charakterystycznych dla zamków firm RMO oraz 3M, drutów NiTi i TMA firmy Ortho Technology oraz wszystkich grup materiałów za wyjątkiem łuków opartych na stopach tytanowo – molibdenowych.

W przypadku oceny korelacji pomiędzy stężeniami poszczególnych pierwiastków metalicznych a żywotnością komórek ocenianą za pomocą testu barwienia błękitem tryptanu zidentyfikowano silną ujemną korelację pomiędzy stężeniem jonów miedzi a żywotnością komórek we wszystkich trzech pasażach.

Stężenie jonów molibdenu i niklu pozostawało zaś w umiarkowanie silnej, ujemnej korelacji z żywotnością komórek III i IV pasażu.

Zbadano także istnienie zależności pomiędzy stężeniem jonów metali a aktywnością metaboliczną hodowli komórkowych ocenianą za pomocą testu MTT.

We wszystkich przedziałach czasowych stężenie jonów molibdenu było silnie ujemnie skorelowane z aktywnością metaboliczną komórek, co oznacza, że im większa ilość pierwiastka znajdowała się w hodowli, tym bardziej upośledzała pracę mitochondriów fibroblastów 3T3.

Istnienie podobnych korelacji potwierdzono w przypadku jonów miedzi po 1 dniu oraz 3 i 7 dniach obserwacji hodowli komórkowych.

Analiza wyników testów statystycznych świadczy również o tym, że wzrost stężenia jonów wanadu upośledzał procesy metaboliczne komórek o 3 i 7 dniach inkubacji komórek 3T3 z roztworami jonów pierwiastków metalicznych.

Analiza wyników badania pozwoliła na sformułowanie następujących wniosków:

1. Elementy stałych aparatów ortodontycznych pozostają niestabilne chemicznie w warunkach przeprowadzonego badania.
2. Dynamika uwalniania poszczególnych jonów metali zależna jest od czasu inkubacji w środowisku wodnym, rodzaju produktu oraz grupy materiałowej.
3. Uwolnione do środowiska zewnętrznego jony metali w różnym stopniu oddziałują na żywotność oraz dynamikę procesów metabolicznych linii komórkowej wykorzystanej w badaniu.
4. W warunkach przeprowadzonego badania pierwiastki metaliczne lub ich kompleksy uwalniane z zamków oraz łuków ortodontycznych mogą wywierać niekorzystne działanie biologiczne na poziomie komórkowym.