

ГЕНОТОКСИЧНОСТЬ КОМПОНЕНТОВ ДЕНТАЛЬНЫХ СПЛАВОВ IN VITRO

Титов П.Л., Цвирко О.И., Горбачев А.Н.

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Минск, Беларусь

ortopedstom@bsmu.by

Большое количество исследований указывает на тот факт, что, подвергаясь процессам коррозии и механического износа, металлокерамические конструкции выделяют ионы металлов. Катионы, распределяясь в полости рта, или системно играют ключевую роль в развитии неблагоприятных эффектов дентальных сплавов. Целью настоящего исследования являлось изучение генотоксичности разными концентрациями NiSO₄ в зависимости от времени экспозиции по оценке частоты повреждений ДНК мононуклеаров периферической крови. Полученные нами результаты свидетельствуют о влиянии ионов никеля на частоту разрывов ДНК, а также о существовании значительного варьирования генорезистентности в популяции и разной динамике показателя в группах лиц чувствительных и резистентных.

Ключевые слова: *дентальные сплавы, никель, генотоксичность.*

POTENTIAL GENOTOXICITY EFFECT OF DENTAL ALLOY COMPONENTS IN VITRO

Titov P.L., Tsvirko O.I., Gorbachev A.N.

Belarusian State Medical University

Minsk, Belarus

Frameworks, components of appliances in orthodontics and pediatric dentistry and crowns and fixed bridges. It has been documented in vitro and in vivo, that metallic restorations release metal ions mainly due to corrosion. Our purpose was to study the nickel sulphate genotoxicity in mononuclears of peripheral blood depends of concentration and time of exposition. Our results showed that Fast Micromethod applicable for the measurement of DNA damaging and genotoxicity assesment as well as biomonitoring the negative effects of genotoxins on cells of the immune system. NiSO₄ ions induced DNA damage depends from concentration and time of exposition. Besides, there is an individual variability of genosensitivity/genoresistance in population to the same concentrarations of genotoxins.

Key words: *dental alloys, nickel, genotoxicity.*

Актуальность: Никель широко используется при производстве стоматологических материалов и инструментов. Для изготовления современных эстетических (металлокерамических и металлопластмассовых) конструкций на литых каркасах широко используются сплавы (Ni-Cr, Ni-Cr-Be, Ni-Cr-Mo) содержание никеля и хрома в которых составляет соответственно 62-82% и 11-22%. Биологическая среда полости рта предоставляет практически идеальные условия для поддержания процессов биodeградации дентальных сплавов – частые изменения pH и температуры в широком диапазоне значений, действие различных химических веществ и ферментов полости рта, влияние

оральной микрофлоры. Катионы металлов, распределяясь в полости рта, или системно играют ключевую роль в развитии неблагоприятных эффектов дентальных сплавов.

Цель работы: изучение генотоксичности ионов Ni^{2+} в зависимости от их концентрации и времени экспозиции в отношении ДНК мононуклеаров периферической крови.

Объекты и методы: Материалом для исследования служила периферическая кровь 21 донора. Жизнеспособность лимфоцитов составляла 95- 98%. Культивирование опытных и контрольных проб клеток каждого индивидуума осуществляли в лунках 96 луночных микропланшетах, по три повтора на каждую концентрацию и время экспозиции.

Интенсивность образования одноцепочечных разрывов ДНК (ssDNA, single-stranded DNA) лимфоцитов периферической крови определяли по методике Fast Micromethod® с использованием специального флуоресцирующего красителя – “PicoGreen” (Molecular Probes Inc, США). Учет результатов осуществляли с помощью прибора «Fluoroscan», фирмы LabSystem (Финляндия). Через каждые 20 секунд измеряли флуоресценцию комплексов “PicoGreen”+ДНК и на основе кинетики гашения флуоресценции далее по специальной формуле определяли показатель суммарного коэффициента множественных разрывов ДНК (SSF, Strand Scission Factors). Коэффициент множественных разрывов ДНК представляет собой \log_{10} соотношения содержания разрывов ДНК в опытном образце к содержанию разрывов ДНК в контрольном образце:

$$SSF = \log_{10} (\% ssDNA_{\text{опытного образца}} / \% ssDNA_{\text{контрольного образца}})$$

Таким образом, $SSF=0$ указывает на отсутствие дополнительных разрывов цепочки ДНК в опытном образце по сравнению с контрольным. $SSF<0$ указывает на увеличение частоты разрывов ДНК в опытном образце культуры клеток.

Результаты: Проведенное исследование свидетельствует о некотором повышении частоты разрывов ДНК лимфоцитов периферической крови при культивировании клеток в присутствии 250 мМ $NiSO_4$ в течение трех часов и 50 мМ при 6 часовом воздействии. Был проведен анализ эффекта длительности экспозиции и концентрации сульфата никеля на уровень разрывов ДНК лимфоцитов в зависимости от их индивидуальной чувствительности, обусловленной, как правило, стабильностью/нестабильностью генома индивидуума в целом и эффективностью его систем репарации. Для этих целей среди исследованных лиц были выделены три группы с низким (<0.035), средним (0.035-0.06) и высоким (>0.06) ответом лимфоцитов на воздействие соли никеля. Полученные данные свидетельствуют, что у первой группы доноров с низким показателем разрывов при 3-х часовом культивировании отмечается некоторое повышение показателя разрывов при увеличении концентрации соли, в то время как при 6-ти часовой инкубации при повышении концентрации соли никеля и длительности экспозиции определенной динамики не отмечается. У лиц второй группы со средними значениями SSF как при 3-х, так и при 6-ти часовой инкубации он практически не изменялся ($p>0,05$). В 3-ей группе лиц с высокими исходными значениями показателя SSF при 3-часовой инкубации по

мере повышения концентрации отмечается тенденция к снижению, а при 6-ти часовой инкубации к его увеличению в зависимости от концентрации NiSO₄ (p<0.05). Полученные результаты указывают на повышение частоты одноцепочечных разрывов ДНК мононуклеаров периферической крови под влиянием возрастающих концентраций ионов Ni²⁺ и времени экспозиции, что в свою очередь указывает на его потенциальную генотоксичность.

Заключение: Полученные нами результаты по определению повреждений ДНК методикой Fast Micromethod[®] свидетельствуют о влиянии разных концентраций ионов Ni²⁺ и времени экспозиции на частоту разрывов ДНК, а также о существовании значительного варьирования геночувствительности/генорезистентности в популяции и разной динамике показателя в группах лиц чувствительных и резистентных. Применение в этих целях количественного определения одноцепочечных разрывов ДНК лимфоцитов по показателям SSF позволяет устранить многие методические проблемы, повышает стандартизуемость исследований. Используемый нами метод (Fast Micromethod[®]) может найти широкое применение как при оценке генотоксического эффекта компонентов разрабатываемых дентальных сплавов, так и при индивидуальном подборе стоматологических материалов и в решении вопроса их индивидуальной биосовместимости.

Список литературы

1. Мойсейчик П.Н., Скепьян Н.А., Соколов С.М., Федорович С.В. Аллергия в стоматологической практике. – Минск, БУТ. – 2001.
2. Cotelle S., Ferard J.F. // Environ. Mol. Mutagen. 1999. Vol. 34. N. 4. P. 246-55.
3. Garhammer P., Schmalz G., Hiller H.A., Reitinger T., Stolz W. // Clin. Oral. Invest. 2001. Vol. 5. P. 240
4. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans: chromium, nickel and welding, vol. 49. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, IARC; 1990.
5. Tice R.R., Agurell E., Anderson D., Burlinson B., Hartmann A., Kobayashi H., Miyamae Y., Rojas E., Ryu J.C., Sasaki Y.F. // Environ. Mol. Mutagen. 2000. Vol. 35. N. 3. P. 206-21.