

Наеждин С.В., Половнева Л.В., Чуев В.П., Бузов А.А.
ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ
БИОПЛАСТ ДЕНТ КОМПАНИИ «ВЛАДМИВА» МЕТОДАМИ IN VITRO

АО «Опытно-экспериментальный завод «ВладМиВа», г. Белгород
НИУ «БелГУ», г. Белгород

В настоящее время остеопластические материалы различных видов широко используются в современной стоматологии. Поскольку эти изделия имеют прямой контакт с тканями и клетками организма человека, они должны обладать не только оптимальными

физико-химическими свойствами, но и не быть цитотоксичными. Среди тестов на биосовместимость, цитотоксичность в опытах *in vitro* является предпочтительным тестом для оценки медицинских изделий, поскольку он прост, быстр, имеет высокую чувствительность и низкую себестоимость. В 2023 году на производстве медицинских изделий компании «ВладМиВа» для контроля качества был внедрен тест на цитотоксичность с учетом рекомендаций ГОСТа ISO 10993-5-2023 «Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 5. Исследования на цитотоксичность методами *in vitro*».

Для оценки биосовместимости остеопластических материалов «Биопласт Дент» применяется метод прямого контакта **цель** которого – оценить цитотоксичность как качественно, так и количественно.

Материалы и методы. Исследование выполнено с использованием мезенхимных стволовых клеток (МСК) человека, полученных из жировой ткани (ООО «БиолоТ», РФ), клетки культивировали по общепринятой методике в питательной среде DMEM/F12 (ООО «ПанЭко», РФ) с 10% ЭТС в CO₂ инкубаторе при 37°C, 5% CO₂, 100% влажности в течении 72 часов. МСК в количестве 0,02x10⁶ наносили на остеопластические материалы помещенные в лунки 96 луночного культурального планшета: группа №1. Биопласт-Дент/крошка 200 – 1000 мкм/0,5 см³ по 0,01 грамма; группа №2. Биопласт-Дент/крошка 200 – 1000 мкм/0,5 см³ рентгеноконтрастная по 0,01 грамма; группа №3. Биопласт-Дент/крошка 200 – 1000 мкм/0,5 см³ депротейнезированная по 0,01 грамма, контролем явились лунки 96 луночного культурального планшета изготовленного из материала не обладающего цитотоксичностью.

Качественную оценку цитотоксичности проводили при помощи инвертированного микроскопа (MI52-N, Micro-shot Technology, Китай). Количественную оценку цитотоксичности остеопластических материалов оценивали с использованием реагента МТТ (Servicebio, Китай) с помощью фотометра при длине волны 540 нм, референс длина волны 630 нм (Микропланшетный ридер AMR-100, Allsheng, Китай). Метод исследования основан на измерении жизнеспособности клеток через их метаболическую активность. Желтый водорастворимый реагент МТТ – 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолий бромида в процессе метаболизма в жизнеспособных клетках превращается в сине-фиолетовый формазан. Количество жизнеспособных клеток соответствует интенсивности цвета, определяемой фотометрическими измерениями после растворения формазана в ДМСО. Значения оптической плотности среды в которой находились остеопластические материалы с МСК сравнивали между собой, полученные результаты обрабатывали с помощью ПО Statistica.

Результаты исследования. В ходе качественной оценки состояния МСК через микроскоп было установлено, что во всех экспериментальных группах МСК имеют типичную морфологию и представлены веретеновидными фибробластоподобными клетками см. таблицу 1, рисунок 1.

№ группы	Уровень, баллы	Реактивность	Описание зоны реактивности
Контроль	0	Отсутствует	Наблюдаемая зона вокруг образца или под ним отсутствует.
№1, №2, №3	0	Отсутствует	Наблюдаемая зона вокруг образца или под ним отсутствует. Дискретные интрацитоплазматические гранулы, лизис клеток отсутствуют, снижения роста клеток не наблюдается.

Таблица 1. Шкала реактивности МСК при прямом контакте с остеопластическими материалами

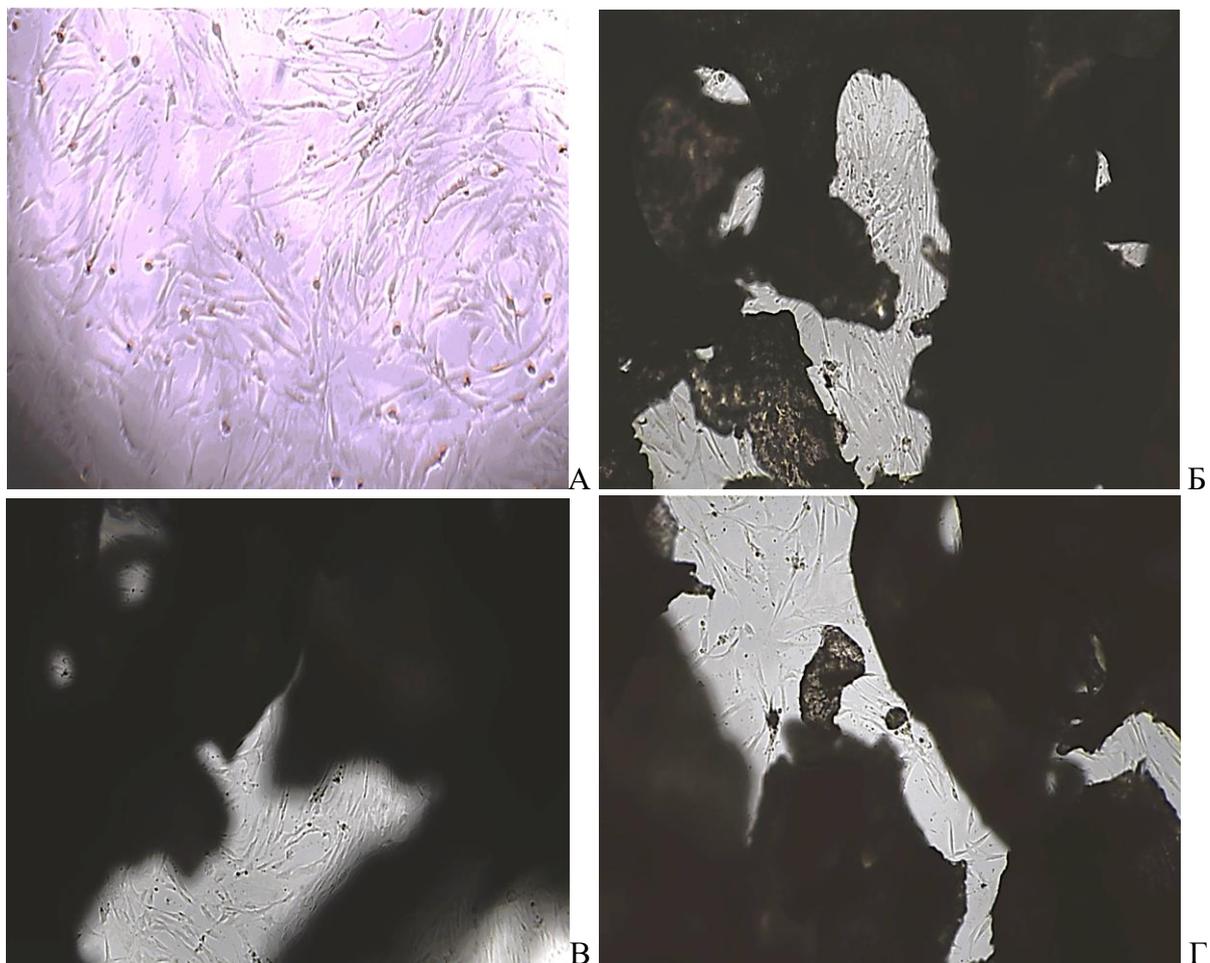


Рисунок 1. Реактивность Мезенхимных стволовых клеток при прямом контакте с остеопластическими материалами: А – контроль; Б – образец из группы №1, В – образец из группы №2, Г - образец из группы №3, Ув. X100

Результаты количественной оценки состояния МСК подтвердили результаты качественной оценки, так оптическая плотность в опытных группах не имела достоверных различий по сравнению с контролем см. таблицу 2. Изменение оптической плотности напрямую коррелирует с количеством образовавшегося сине-фиолетового формазана при регистрации оптической плотности раствора.

Жизнеспособность клеток по сравнению с контролем вычисляли по формуле: Жизнеспособность % = $\frac{ОПо}{ОПк} \times 100\%$, где

ОПо - среднее значение измеренной оптической плотности 100 % исследуемых образцов опытной группы;

ОПк - среднее значение измеренной оптической плотности группы контроля.

№ группы	Средне знач.	Станд. отклон.
контроль	0.134	0.06
№1	0.122	0.05
№2	0.113	0.04
№3	0.115	0.05

Таблица 2. Оптическая плотность раствора формазана в экспериментальных группах

Согласно рекомендациям ГОСТа ISO 10993-5-2023 если жизнеспособность клеток снижается до $< 70\%$ от контрольного образца то объект исследования обладает цитотоксичностью. В ходе определения жизнеспособности МСК при прямом контакте с

остеопластическими материалами жизнеспособность составила: группа №1 – 91,04%, группа №2 – 84,33%, группа №3 – 85,82%.

Таким образом, исследуемые образцы остеопластических материалов не обладают цитотоксичностью и являются биосовместимыми, что позволяет их использовать для восстановления структурной целостности костных дефектов и повышения остеогенного потенциала костной ткани в хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии.