

Оценка цитотоксичности материалов на основе силикатов кальция

Терехова Т.Н., Бутвиловский А.В.,

Пыко Т.А., Залевская О.С.

УО Белорусский государственный медицинский университет (Минск)

Актуальность и литературная справка по проблеме.

Минерал триоксид агрегат (МТА), как материал на основе силикатов кальция, используется в стоматологии более 30 лет для прямого и непрямого покрытия пульпы, закрытия перфораций, ретроградного пломбирования, а также при пломбировании каналов в технике апикальной пробки [1, 2, 3]. Данная техника применяется при эндодонтическом лечении постоянных зубов с несформированными корнями и в иных случаях широкого (более 060 по ISO) верхушечного отверстия (например, при резорбции верхушки корня при апикальном периодонтите).

Обоснованием выбора кальций – силикатных материалов для создания апикальных пробок является, в первую очередь, стимуляция образования дентина, цемента и костной ткани, а также хороший герметизм, что обеспечивает профилактику апикальной перколяции [1]. При этом не менее важна и их биосовместимость [2], поскольку они будут находиться в непосредственном контакте с периапикальными тканями.

В Республике Беларусь в настоящее время зарегистрировано большое количество материалов на основе силикатов кальция, однако их сравнительному анализу посвящены единичные исследования [4, 5], в том числе цитотоксичности, что и определяет актуальность работы в этом направлении.

Цель исследования – оценить цитотоксичность материалов на основе силикатов кальция.

Материалы и методы исследования.

Объектами исследования являлись материалы на основе силикатов кальция: Триоксидент (ВладМиВа, Россия), Dia-Root Bio MTA (DiaDent,

Корея), Bio MTA (Cerkamed, Польша), Канал МТА (Omega Dent, Россия), Sure-Seal Root Sealer (Sure dent corporation, Корея), Dia-Root Bio Sealer (DiaDent, Корея).

В качестве положительного контроля использовалась культура клеток без добавления материалов, в качестве отрицательного контроля – материал на основе эпоксидной смолы BJM Root Canal Sealer (BJM LAB, Израиль).

Исследования проводились на перевиваемой эпителиальной культуре клеток Vero-E6. Для определения цитотоксичности образцов использовали питательную среду DMEM (Elabscience, США).

Для культивирования клеточную суспензию вносили в культуральный флакон (25см²) с ростовой питательной средой DMEM, включающей 10% фетальную бычью сыворотку, D-Glucose, HEPES, L-Glutamin и 100 мкг/мл гентамицина. При пассировании среду выливали, клетки 2 раза промывали раствором Версена, затем заливали смесью растворов трипсина и Версена (1:4) и помещали в термостат для инкубации при 37°C до отхождения клеток от поверхности флакона. Клетки, потерявшие контакт с пластиковой поверхностью, отбирали с помощью автоматической пипетки и считали в счетчике клеток Countess 3FL.

Для оценки цитотоксичности материалов клеточную суспензию Vero – E6 высевали на 6 – луночные культуральные планшеты в концентрации 400-600 тысяч клеток на лунку. Клетки культивировали в CO₂ – инкубаторе при 37°C и 90% влажности 24 часа.

Скорость роста и характер формирования монослоя контролировали при помощи инвертированного микроскопа NIKON Eclipse TS100 – F (увеличение 4x). По окончании формирования сплошного монослоя клеток в 6-луночных планшетах ростовую среду удаляли.

Исследуемый материал готовили в соответствии с инструкциями производителя и в количестве 100 мг вносили в лунки 2% питательную среду DMEM в объеме 2 мл, содержащую исследуемые образцы, и помещали в CO₂–

инкубатор при 37°C и 90% влажности для наблюдения в течение 72 часов. Каждая точка эксперимента проставлялась в 3 повторах.

После инкубации исследуемых образцов в CO₂- инкубаторе в течение 72 часов проводили визуальную оценку при помощи инвертированного микроскопа NIKON Eclipse TS100-F (увеличение 4х).

Количественное определение жизнеспособности проводили путем оценки процента неокрашенных (живых) клеток при подсчете на автоматическом счетчике клеток Countess 3FL (Thermo Fisher Scientific, США).

Для разделения живых и мертвых клеток использовалась окраска трипановым синим (Invitrogen, США), который проникает через поврежденную мембрану погибших клеток, окрашивая их в синий цвет, при этом живые клетки (с неповрежденной мембраной) не окрашиваются. Для этого смешивали 10 мкл клеточной суспензии с 10 мкл 0,4% трипанового синего красителя. Хорошо перемешивали пробу, пипетируя ее несколько раз. Аккуратно с помощью пипетки переносили 10 мкл пробы в зону загрузки пробы одноразового слайда для подсчета клеток Countess. После отстаивания пробы в течение 30 секунд вставляли слайд в адаптер для слайдов автоматического счетчика клеток Countess 3FL (рис. 1).

Степень цитотоксичности исследуемого материала оценивали по следующей шкале: не цитотоксично (не более 5% мёртвых клеток), умеренная цитотоксичность (от 6% до 25% мёртвых клеток), средняя цитотоксичность (от 26% до 75% мёртвых клеток), значительная цитотоксичность (от 76% до 100% мёртвых клеток).



Рисунок 1. График с результатами количественного определения жизнеспособности культуры клеток Vero–Е6

Результаты исследования.

Результаты количественного определения жизнеспособности культуры клеток в присутствии исследуемых материалов представлены в таблице 1.

Установлено, что все исследуемые материалы на основе силикатов кальция обладают умеренной цитотоксичностью на культуру клеток Vero–Е6, а средняя цитотоксичность свойственна материалу на основе эпоксидной смолы BJM Root Canal Sealer.

В случае положительного контроля (рис. 2) монослой культуры клеток был сохранен. При наличии умеренной цитотоксичности исследуемого образца (рис. 3) клетки приобретали округлую форму и морфологически отличались от клеточного контроля, в присутствии исследуемого образца с цитотоксичностью средней степени (рис. 4) в лунках наблюдалось частичное или полное разрушение клеточного монослоя.

Результаты оценки цитотоксичности исследуемых материалов

Исследуемый образец	Живые клетки, %	Мертвые клетки, %	Степень цитотоксичности
Триоксидент	81	19	Умеренная
Dia-Root Bio MTA	83	17	Умеренная
Bio MTA	83	17	Умеренная
Канал МТА	82	18	Умеренная
Sure-Seal Root Sealer	79	21	Умеренная
Dia-Root Bio Sealer	84	16	Умеренная
BJM Root Canal Sealer	57	43	Средняя

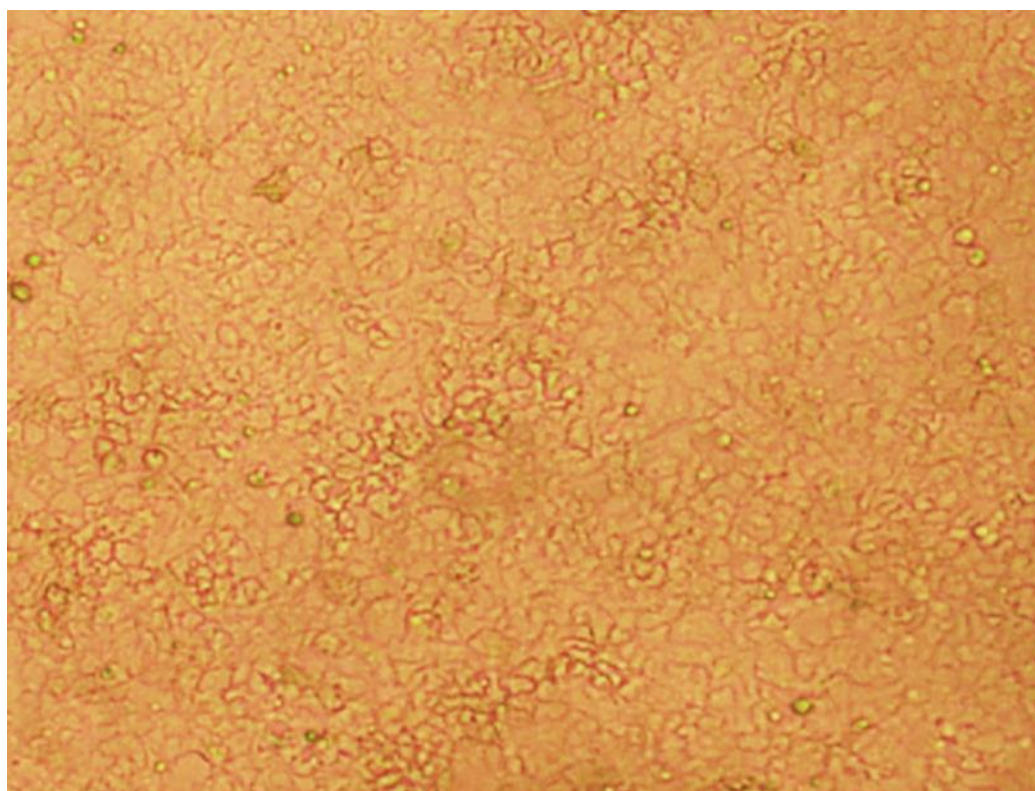


Рисунок 2. Образец положительного контроля



Рисунок 3. Образец с умеренной цитотоксичностью

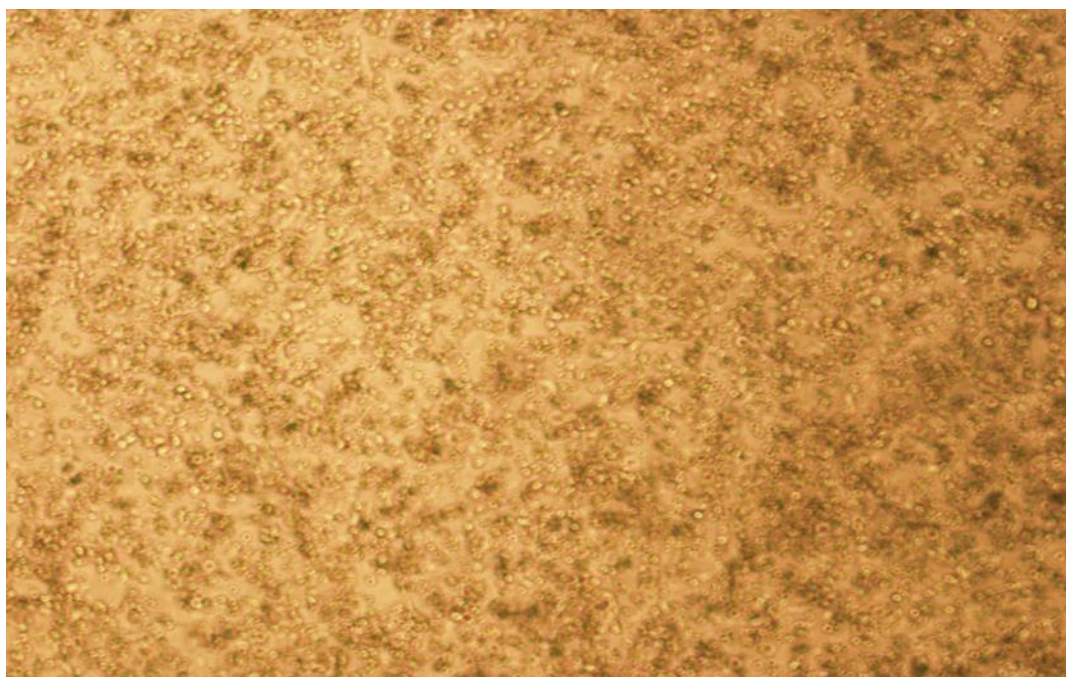


Рисунок 4. Образец со средней цитотоксичностью

Выводы:

1. Все исследуемые материалы на основе силикатов кальция (Триоксидент, Dia-Root Bio MTA, Bio MTA, Канал MTA, Sure-Seal Root Sealer,

Dia-Root Bio Sealer) обладают умеренной цитотоксичностью на эпителиальную культуру клеток Vero–Е6 (от 79 до 84% живых клеток).

2. Материалу на основе эпоксидной смолы BJM Root Canal Sealer свойственна средняя цитотоксичность.

Список литературы

1. Бутвиловский А.В., Володкевич Д.Л. Техника апикальной пробки с использованием минерал триоксид агрегата в практике врача-стоматолога. *Стоматология. Эстетика. Инновации*. 2019; 2: 190-195.
2. Camilleri J., Ford T.R.P. Mineral trioxide aggregate: a review of the constituents and biological properties of the material. *Int. End. J.* 2006; 39: 747-754.
3. Torabinejad M., Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *J. Endod.* 1999; 25: 197-205.
4. Терехова Т.Н., Бутвиловский А.В., Пыко Т.А. Оценка эффективности различных материалов при создании апикальных пробок. *Современная стоматология*. 2024; 1: 69-73.
5. Химический состав препаратов минерал триоксид агрегата представленных в Республике Беларусь, по данным рентгенофлуоресцентного анализа. Володкевич Д.Л. [и соавт.]. *Современная стоматология*. 2018; 4: 50-53.

ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет

«Актуальные вопросы стоматологии детского возраста»

VIII Всероссийская научно-практическая конференция

с международным участием

Казань

7 февраля 2025 г.

Сборник научных статей



Казань

© КГМУ, 2025