

ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ РАСТВОРОВ ГИПОХЛОРИТА НАТРИЯ, ПРИМЕНЯЕМЫХ ПРИ ЭНДОДОНТИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ

Терехова Т.Н., Бутвиловский А.В., Пыко Т.А., Залевская О.С.

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск
Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и
микробиологии, г. Минск*

В настоящее время медикаментозная обработка системы корневых каналов зубов является главным столпом эндодонтического лечения и во многом определяет его эффективность. Основным ирригантом принято считать гипохлорит натрия, который обладает лизирующим, антимикробным, поверхностно-активным, отбеливающим и легким кровоостанавливающим действием [1, 2].

Выпускаемые различными производителями препараты гипохлорита натрия отличаются по концентрации действующего вещества (чаще 2%, 3%, 5,25%) и вспомогательным компонентам (в первую очередь по наличию/отсутствию детергентов). Несмотря на то, что эти материалы предназначены для того, чтобы находиться в пределах корневого канала, они, несомненно, контактируют с периапикальными тканями, поэтому их биосовместимость так же важна, как физические и химические свойства.

Только материалы с приемлемой биосовместимостью, доказанной в серии *in vitro* и *in vivo* тестов, должны рекомендоваться для использования в клинической практике. В настоящее время в Республике Беларусь зарегистрирован достаточно большой ассортимент препаратов гипохлорита натрия различных производителей, сравнение их цитотоксичности не проводилось, что определяет актуальность настоящего исследования.

Цель исследования: оценить цитотоксичность растворов гипохлорита натрия, применяемых при эндодонтическом лечении.

Материалы и методы. Объектами исследования являлись препараты гипохлорита натрия: Белодез 3% (ВладМиВа, Российская Федерация), Гипохлоран-3 3,25% (Омега-Дент, Российская Федерация), Chloraxid 2% (Cerkamed, Республика Польша), Chloraxid 5,25% (Cerkamed, Республика Польша). Исследования проводились на перевиваемой культуре клеток Vero-E6. Для определения цитотоксичности образцов использовали питательную среду DMEM (Elabscience). 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 препарат гипохлорита натрия 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 4x).

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

Для разделения живых и мертвых клеток использовалась окраска трипановым синим (Invitrogen), 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.

Степень цитотоксичности исследуемого химического вещества 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).

Результаты и обсуждение. Результаты количественного определения жизнеспособности культуры клеток в присутствии исследуемых растворов гипохлорита натрия представлены в таблице 1. Установлено, что Chloraxid 2% не проявил цитотоксического действия на культуру клеток Vero-E6, а умеренная цитотоксичность отмечалась в лунках с образцами Chloraxid 5,25%, Гипохлоран-3 3,25% и Белодез 3%. При наличии умеренной цитотоксичности исследуемого образца клетки приобретали округлую форму и морфологически отличались от клеточного контроля, а при отсутствии цитотоксичности монослой культуры клеток был сохранен.

**Результаты оценки цитотоксичности исследуемых растворов
гипохлорита натрия**

Исследуемый образец	Живые клетки, %	Мертвые клетки, %	Степень цитотоксичности
Chloraxid, 2%	98	2	Не цитотоксично
Chloraxid, 5,25%	90	10	Умеренная
Гипохлоран-3, 3,25%	80	20	Умеренная
Белодез, 3%	75	25	Умеренная

Заключение. Отсутствие цитотоксического действия на культуру клеток Vero-E6 свойственно Chloraxid 2% (98% живых клеток), а умеренная цитотоксичность отмечалась в лунках с образцами Chloraxid 5,25% (90%), Гипохлоран-3 3,25% (80%), Белодез 3% (75% живых клеток).

Литература.

1. Бутвиловский, А.В. Медикаментозная обработка системы корневых каналов зубов: задачи, общие правила, основные ирриганты / А.В. Бутвиловский, Т.Н. Терехова, Т.А. Пыко // Современная стоматология. – 2022. - №3. – С. 8-15.

2. Медикаментозная обработка системы корневых каналов зубов: учебно-методическое пособие / А.В. Бутвиловский [и соавт.] // Белорус. гос. мед. ун-т, каф. эндодонтии. – Минск : БГМУ, 2022. – 27 с.



**Министерство Здравоохранения Хабаровского края
Хабаровская краевая ОО «Ассоциация стоматологов»
Дальневосточный государственный медицинский университет**

***АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ СТОМАТОЛОГИИ ДЕТСКОГО
ВОЗРАСТА И ОРТОДОНТИИ***

**Сборник научных статей XIV региональной научно - практической
конференции с международным участием по детской стоматологии**

Партнеры:

Компания «Стома-Денталь»

Хабаровск - 2024