

© Коллектив авторов, 2025

УДК 616.717.3:021.2

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2025.20012>

ISSN – 2073-8137

Исследование цитотоксичности и биосовместимости покрытий для имплантационной хирургии на основе титана на клеточных культурах *in vitro*

Ал. Ал. Долгалева¹, Н. Н. Диденко¹, Н. Н. Коваль², Ю. Ф. Иванов²,
М. С. Воробьев², А. А. Хрипунова¹, Г. К. Гезуев³, С. Р. Адешелидзе¹

¹ Ставропольский государственный медицинский университет,
Российская Федерация

² Институт сильноточной электроники Сибирского отделения
Российской академии наук, Томск, Российская Федерация

³ ДЕНТА-СИТИ, Грозный, Российская Федерация

Cytotoxicity and biocompatibility of titanium-based coatings used in implantation surgery on *in vitro* cell cultures

Dolgalev Al. Al.¹, Didenko N. N.¹, Koval N. N.², Ivanov Yu. F.²,
Vorobyev M. S.², Khripunova A. A.¹, Gezuev G. K.³, Adeshelidze S. R.¹

¹ Stavropol State Medical University, Russian Federation

² Institute of High Current Electronics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
Tomsk, Russian Federation

³ DENTA-CITY, Grozny, Russian Federation

Изучалось влияние образцов покрытий, наносимых на материалы для имплантационной хирургии и выполненных на основе сплавов титана (BT6, BT6+Ti, BT6+TiO₂, BT6+ZrO₂), на цитотоксичность и биосовместимость в культуре мезенхимальных стволовых клеток *in vitro*. Установлено, что образцы BT6+Ti обладают наименее выраженной цитотоксичностью, достоверно не отличающейся от контроля. Результаты изучения биосовместимости свидетельствуют об отсутствии достоверных отклонений пролиферативной активности клеток от контрольных значений на образцах BT6+Ti, BT6+TiO₂ и BT6+ZrO₂. Таким образом, выбраны материалы, наиболее перспективные для дальнейшего использования в имплантационной хирургии.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, сплавы титана, цитотоксичность, пролиферативная активность клеток, дентальная имплантация

This study focused on the effect that titanium and its alloys (BT6, BT6+Ti, BT6+TiO₂, BT6+ZrO₂) based coating samples used for implantation surgery have on the cytotoxicity and biocompatibility in *in vitro* mesenchymal stem cell culture. The work showed that BT6+Ti samples have the least significant cytotoxicity, which featured no significant difference when matched against the control. The biocompatibility study outcomes point at lack of statistically significant cell proliferative activity deviation from the control values on BT6+Ti, BT6+TiO₂ and BT6+ZrO₂ samples. The above data can be used to select the most promising materials to be further employed in implantation surgery.

Keywords: mesenchymal stem cells, titanium alloys, cytotoxicity, proliferative activity of cells, dental implantation

Для цитирования: Долгалева Ал. Ал., Диденко Н. Н., Коваль Н. Н., Иванов Ю. Ф., Воробьев М. С., Хрипунова А. А., Гезуев Г. К., Адешелидзе С. Р. Исследование цитотоксичности и биосовместимости покрытий для имплантационной хирургии на основе титана на клеточных культурах *in vitro*. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2025;20(1):49-51. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2025.20012>

For citation: Dolgalev Al. Al., Didenko N. N., Koval N. N., Ivanov Yu. F., Vorobyev M. S., Khripunova A. A., Gezuev G. K., Adeshelidze S. R. Cytotoxicity and biocompatibility of titanium-based coatings used in implantation surgery on *in vitro* cell cultures. *Medical News of North Caucasus*. 2025;20(1):49-51. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2025.20012> (In Russ.)

МСК – мезенхимальные стволовые клетки
ОП – оптическое поглощение
ЦТ – цитотоксичность

FBS – Fetal Bovine Serum (фетальная бычья сыворотка)
LDH – Lactate dehydrogenase (лактатдегидрогеназа)

Разработка новых материалов и покрытий для имплантационной хирургии на основе титана и его сплавов является перспективным направлением современной медицинской науки в соответствии со стратегией научно-технологического развития Российской Федерации [1]. К материалам для изготовления имплантатов предъявляются жесткие конструктивные требования: они должны обладать достаточной прочностью для надежного восстановления анатомических особенностей и выполняемой функции [2] и быть не только биологически нейтральными [3], но и способствовать ускорению остеогенеза для наилучшей приживаемости [4, 5]. Создание образцов с управляемыми свойствами и структурой, обеспечивающими повышенную биосовместимость и биоактивность при операциях на опорной системе человека, позволит в перспективе решить ряд экономических и социальных задач. Высокая биосовместимость и положительное влияние на остеоиндукцию позволит сократить количество койко-дней, проведенных пациентами в медицинской организации, время реабилитации после вмешательства, что в конечном итоге снизит стоимость лечения и расходы по оплате временной нетрудоспособности. С точки зрения пациента, использование материалов с заданными свойствами в сфере травматологии и ортопедии, челюстно-лицевой хирургии, нейрохирургии окажет положительное влияние на качество жизни и в целом позволит уменьшить бремя инвалидизации населения.

Цель исследования – провести оценку цитотоксичности и биосовместимости покрытий на основе сплавов титана, нанесенных на имплантаты, с использованием вакуумно-дугового напыления с плазменным ассистированием.

Материал и методы. Исследование проводилось на образцах титанового сплава BT6 с различными покрытиями (BT6+ZrO₂, BT6+TiO₂, BT6+Ti). Культивирование мезенхимальных стволовых клеток (МСК) из жировой ткани человека (БиолоТ) осуществляли с использованием модифицированной среды Игла Дульбекко (DMEM) (Sigma-Aldrich) с добавлением 10 % сыворотки крови плодов коровы (FBS) (Gibco) в стандартных условиях. Субкультивирование проводили с использованием 0,25 % раствора трипсина (БиолоТ) и раствора Версена (БиолоТ) в соотношении 1:1. Для подсчета клеток и определения их жизнеспособности после окраски 0,4 % стерильным раствором трипанового синего (БиолоТ) применяли автоматический клеточный счетчик Luna-FL (Logos Biosystems). В эксперименте использовались клетки на 7–8-м пассажах.

Исследуемые материалы (BT6, BT6+ZrO₂, BT6+TiO₂, BT6+Ti в количестве 12 для каждой опытной группы) помещали в 24-луночный планшет. В каждую лунку планшета с образцами вносили по 2х10⁴ МСК в 800 мкл полной среды. Для оценки цитотоксичности образцов использовали набор для определения цитотоксичности с лактатдегидрогеназой (LDH) (Servicebio). В каждую лунку 24-луночного планшета без исследуемых образцов вносили по 2х10⁴ МСК в 800 мкл полной среды. Планшеты инкубировали в течение 4 суток в стандартных условиях. После чего в 12 лунок планшета без

исследуемых образцов добавляли лизирующий раствор (Cell Lysis Buffer) для определения максимальной активности LDH (отрицательный контроль), оставшиеся 12 лунок использовали как положительный контроль. Отбирали по 80 мкл надосадочной жидкости в опытных и контрольных группах, смешивали с 80 мкл рабочего раствора реагентов в 96-луночном планшете, инкубировали 30 мин при комнатной температуре и определяли оптическое поглощение (ОП) раствора с использованием многофункционального фотометра-имиджера Cytation 1 (BioTek) при длине волны 490 нм с референсной длиной волны 600 нм. Определяли цитотоксичность образцов по формуле

$$\text{цитотоксичность (\%)} = \frac{\text{ОП}_{\text{опыт}} - \text{ОП}_{\text{«+» контроль}}}{\text{ОП}_{\text{«-» контроль}} - \text{ОП}_{\text{«+» контроль}}} \times 100 \, \%.$$

Пролиферативную активность клеток определяли с помощью набора EZ4U (Biomedica), модифицированного МТТ-теста, колориметрического анализа метаболической активности клеток.

Статистическую обработку данных проводили с использованием методов описательной статистики в пакете прикладных программ SPSS v. 26.0 (IBM, США).

Результаты и обсуждение. В ходе исследования выявлено, что наиболее выраженной (статистически значимой) цитотоксичностью обладали образцы BT6 (28,33±1,154 %, t=21,924, p<0,001). Другие образцы обладали значительно более низкой цитотоксичностью – от 1,70±0,054 % в случае BT6+Ti до 9,57±0,605 % в образце BT6+ZrO₂. Сплав BT6+TiO₂ занимал промежуточное положение с результатом 4,14±0,267 %. При этом образец BT6+Ti достоверно не отличался по уровню цитотоксичности от положительного контроля.

Для определения пролиферативной активности клеток образец каждого типа после инкубации перенесли в 24-луночный планшет с 800 мкл свежей среды DMEM и инкубировали при 37 °C и 5 % CO₂ в течение 3,5 часов. ОП культуральной жидкости измеряли при длине волны 450 нм с референсной длиной волны 620 нм. В качестве положительного контроля использовали клетки в лунке с образцом BT6+Ti и вычисляли ОП в % относительно положительного контроля.

При этом статистически значимое снижение пролиферативной активности отмечалось только у клеток, культивированных на образцах BT6 (78,37±4,539 %, t=3,032, p<0,05). Пролиферативная активность клеток на других образцах отклонялась от контрольных значений статистически не значимо (104,21±5,205 % для BT6+TiO₂; 100,0±4,986 % для BT6+Ti и 87,37±4,662 % для BT6+ZrO₂).

Заключение. Таким образом, образцы покрытий на основе сплавов титана BT6+Ti, BT6+TiO₂, BT6+ZrO₂ обладают низкой и умеренной цитотоксичностью и высокой биосовместимостью, что позволяет рассматривать их в качестве перспективных материалов для имплантационной хирургии.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-69-00074, <https://rscf.ru/project/24-69-00074/>.

Литература/References

1. Sarraf M., Rezvani Ghomi E., Alipour S., Ramakrishna S., Liana Sukiman N. A state-of-the-art review of the fabrication and characteristics of titanium and its alloys for biomedical applications. *Biodes. Manuf.* 2022;5(2):371-395. <https://doi.org/10.1007/s42242-021-00170-3>
2. Virnik S., Cueni L., Kloss-Brandstätter A. Is one-stage lateral sinus lift and implantation safe in severely atrophic

maxillae? Results of a comparative pilot study. *Int. J. Implant. Dent.* 2023;9(1):6. <https://doi.org/10.1186/s40729-023-00471-5>

3. Breban-Schwarzkopf D., Chioibas R., Macasoi I., Bolintineanu S., Marcovici I., Suzhanek C. Comprehensive *in vitro* and *in vivo* assessment of cytotoxicity: Unraveling the impact of sodium fluoride, xylitol, and their synergistic associations in dental products. *Biomolec. Biomed.* 2024;24(4):923-938. <https://doi.org/10.17305/bb.2024.10181>

4. Fernandes P. F., Grenho L., Fernandes M. H., Sampaio-Fernandes J. C., Gomes P. S. Microgap and bacterial microleakage during the osseointegration period: An *in vitro* assessment of the cover screw and healing abutment in a platform-switched implant system. *J. Prosthetic Dentistry*. 2023;130(1):87-95.
<https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2021.07.030>
5. Rausch M. A., Shokoohi-Tabrizi H., Wehner C., Pippen-ger B. E., Wagner R. S. [et al.]. Impact of implant surface material and microscale roughness on the initial attachment and proliferation of primary human gingival fibroblasts. *Biology*. 2021;10:356.
<https://doi.org/10.3390/biology10050356>

Поступила 11.12.2024

Сведения об авторах:

Долгалева Александр Александрович, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры стоматологии общей практики и детской стоматологии; тел.: +79624404861; e-mail: dolgalev@dolgalev.pro; <https://orcid.org/0000-0002-6352-6750>

Диденко Николай Николаевич, ассистент кафедры патологической физиологии; тел.: +78652352684; e-mail: patphysiology@stgmu.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9734-8158>

Коваль Николай Николаевич, доктор технических наук, профессор, главный научный сотрудник; тел.: +79138291684; e-mail: koval@hcei.tsc.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5339-7994>

Иванов Юрий Фёдорович, доктор физико-математических наук, профессор, главный научный сотрудник; тел.: +79521634120; e-mail: yuf55@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8022-7958>

Воробьев Максим Сергеевич, доктор технических наук, ведущий научный сотрудник; тел.: +79528056883; e-mail: vorobyovms@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5136-5905>

Хрипунова Алеся Александровна, кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры общественного здоровья и здравоохранения, медицинской профилактики и информатики; тел.: +79614986072; e-mail: fkicz2007@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8734-4188>

Гезуев Гималай Казбекович, врач – стоматолог-ортопед, стоматолог-хирург; тел.: +79637032880; e-mail: denta_city@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0009-8612-4234>

Адешелидзе Софья Романовна, студентка; тел.: +79682731952; e-mail: s.r.adeshelidze@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0008-8769-3546>

© Коллектив авторов, 2025

УДК 616.366-089.87

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2025.20013>

ISSN – 2073-8137

Одномоментная лапароскопическая холецистэктомия и эндоскопическая ретроградная холангиопанкреатография с папиллосфинктеротомией у ребенка с холецистохоледохолитиазом

Д. А. Пыхтеев¹, Л. М. Елин¹, М. В. Прокофьев¹, А. В. Шаповалов¹, К. В. Хабалова²

¹ Московский областной научный исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского (МОНИКИ), Российская Федерация

² Первый Московский государственный университет им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Российская Федерация

Simultaneous laparoscopic cholecystectomy and endoscopic retrograde cholangiopancreatography with papyllosphincterotomy in a child with cholecystocholedocholithiasis

Pykhiteev D. A.¹, Elin L. M.¹, Prokofev M. V.¹, Shapovalov A. V.¹, Khabalova K. V.²

¹ M. F. Vladimirskiy Moscow Regional Research and Clinical Institute («MONIKI»), Russian Federation

² I. M. Sechenov First Moscow State University (Sechenov University), Russian Federation

В последние годы частота заболеваемости холецистолитиазом и его осложнениями неуклонно увеличивается. Несмотря на наличие множества методов оперативного лечения данной патологии, не существует единого подхода к лечению холедохолитиаза у детей. В клиническом наблюдении продемонстрирован опыт симультанного оперативного лечения (лапароскопическая холецистэктомия и эндоскопическая папиллосфинктеротомия) у ребенка с холецистохоледохолитиазом. Представленный случай пациента демонстрирует эффективность и безопасность применения данной методики при условии наличия опытной многопрофильной команды врачей: хирурга и эндоскописта.