

### Сведения об авторах:

Шевандова Алина Алексеевна, младший научный сотрудник отдела биомедицинских технологий, Инжиниринговый центр «Генетические и клеточные биотехнологии», ассистент кафедры базисной и клинической фармакологии, младший научный сотрудник лаборатории аналитических исследований, инновационных и ресурсосберегающих технологий; тел.: +79785950795; e-mail: shevandova\_a\_a@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9448-6034>

Фомочкина Ирина Ивановна, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной и инновационной деятельности, заведующая кафедрой базисной и клинической фармакологии; тел.: +79787316780; e-mail: fomochkina\_i@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3065-5748>

Сорокина Лея Евгеньевна, младший научный сотрудник; тел.: +79782094673; e-mail: leya.sorokina@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1862-6816>

Ткач Антон Владиславович, младший научный сотрудник, кафедра базисной и клинической фармакологии; тел.: +79785082287; e-mail: v\_veber00@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9234-3021>

Черноусова Инна Владимировна, кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории функциональных продуктов переработки винограда; тел.: +79787068085; e-mail: cherninna1@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5374-7683>

Головкин Илья Олегович, младший научный сотрудник ЦНИЛ; тел.: +79789970396, e-mail: golovkin.io.1996@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-3578-5130>

Глушенков Андрей Николаевич, старший преподаватель кафедры физики конденсированных сред, физических методов и информационных технологий в медицине; тел.: +79789907786; e-mail: an.glushenkov@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1704-6083>

Меджитов Адиль Ленарович, студент; тел.: +79785000578; e-mail: medzitovadil3@gmail.com; <https://orcid.org/0009-0002-5380-0696>

© Коллектив авторов, 2025

УДК 616.717.3:021.2

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2025.20056>

ISSN – 2073-8137

## Сравнительная оценка цитотоксичности и биосовместимости покрытий для имплантационной хирургии на основе титана и его сплавов на культуре мезенхимальных стволовых клеток *in vitro*

Ал. Ал. Долгалев<sup>1</sup>, Н. Н. Диденко<sup>1</sup>, Н. Н. Коваль<sup>2</sup>, Ю. Ф. Иванов<sup>2</sup>,  
М. С. Воробьев<sup>2</sup>, А. А. Хрипунова<sup>1</sup>, Г. К. Гезуев<sup>3</sup>, С. Р. Адешелидзе<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ставропольский государственный медицинский университет, Российская Федерация

<sup>2</sup> Институт сильноточной электроники Сибирского отделения Российской академии наук, Томск, Российская Федерация

<sup>3</sup> ДЕНТА-СИТИ, Грозный, Российская Федерация

## Cytotoxicity and biocompatibility study of titanium and its alloy coatings for implant surgery, based on mesenchymal stem cell culture *in vitro*

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

<sup>1</sup> Stavropol State Medical University, Russian Federation

<sup>2</sup> Institute of High Current Electronics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

<sup>3</sup> DENTA-CITY, Grozny, Russian Federation

Проведено исследование образцов покрытий, предназначенных для нанесения на материалы, используемые в имплантационной хирургии, выполненных на основе титановых сплавов (ВТ6, TiNb, TiNbO, TiNbZrTa, TiNbZrTaO), на цитотоксичность и биосовместимость *in vitro* на культуре мезенхимальных стволовых клеток. Выявлено, что образцы ВТ6 и TiNbZrTaO обладают выраженной статистически значимой цитотоксичностью (31,45±2,27 % и 26,71±0,89 %

соответственно,  $p < 0,001$ ). Образцы TiNb, TiNbO, TiNbZrTa обладали значительно более низкими показателями цитотоксичности. Результаты изучения биосовместимости свидетельствуют о значимом увеличении пролиферативной активности у клеток, культивированных на образцах TiNb и TiNbZrTa ( $125,26 \pm 6,12$  % и  $112,42 \pm 3,37$  % соответственно,  $p < 0,05$ ). При этом во всех видах покрытий, содержащих кислород, пролиферативная активность клеток несущественно отличалась от контроля, что свидетельствует об их низкой биосовместимости. Таким образом, в результате проведенного исследования определены покрытия, обладающие высоким потенциалом для применения в дентальной имплантологии.

*Ключевые слова:* титан, сплавы титана, биосовместимость, клеточная токсичность, пролиферативная активность, имплантационные материалы

The study investigated coatings employed for surgical implants made from titanium alloys (BT6, TiNb, TiNbO, TiNbZrTa, TiNbZrTaO) focusing on the cytotoxicity rates and in vitro biocompatibility while using mesenchymal stem cells. BT6 and TiNbZrTaO samples showed significant cytotoxicity ( $31.45 \pm 2.27$  % and  $26.71 \pm 0.89$  % respectively,  $p < 0.001$ ). TiNb, TiNbO, and TiNbZrTa samples exhibited significantly lower cytotoxicity. The biocompatibility rates revealed a significant increase in the proliferative activity for cells cultured on TiNb and TiNbZrTa samples ( $125.26 \pm 6.12$  % and  $112.42 \pm 3.37$  % respectively,  $p < 0.05$ ). Coatings containing oxygen showed minimal differences in proliferative activity compared to the control, which is indicative of their low biocompatibility. Given the results, the study identified promising coatings for further use in surgical implants.

*Keywords:* titanium, titanium alloys, biocompatibility, cellular toxicity, proliferative activity, implantation materials

**Для цитирования:** Долгалев Ал. Ал., Диденко Н. Н., Коваль Н. Н., Иванов Ю. Ф., Воробьев М. С., Хрипунова А. А., Гезуев Г. К., Адешелидзе С. Р. Сравнительная оценка цитотоксичности и биосовместимости покрытий для имплантационной хирургии на основе титана и его сплавов на культуре мезенхимальных стволовых клеток *in vitro*. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2025;20(3):256-259.  
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2025.20056>

**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 study of titanium and its alloy coatings for implant surgery, based on mesenchymal stem cell culture *in vitro*. *Medical News of North Caucasus*. 2025;20(3):256-259.  
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2025.20056> (In Russ.)

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

FBS – fetal bovine serum (фетальная бычья сыворотка)  
LDH – lactate dehydrogenase (лактатдегидрогеназа)

**Проблема биосовместимости материалов, используемых при изготовлении имплантатов, является ключевой в медицинском материаловедении. В контексте реализации стратегии научно-технологического развития Российской Федерации [1] создание инновационных покрытий на базе титана и его сплавов представляет собой актуальную и многообещающую область исследований. В подавляющем большинстве случаев в роли биосовместимого материала для имплантатов используется титан высокой степени чистоты, формирующий на своей поверхности защитную пленку оксида титана. Этот оксидный слой характеризуется высокой устойчивостью к деградации с течением времени, обладает диэлектрическими свойствами и проявляет крайне низкую химическую активность по отношению к биологическим средам и тканям организма. Благодаря этим свойствам он обеспечивает надежную защиту титанового имплантата от коррозии и минимизирует нежелательные реакции с окружающими тканями. Однако, помимо прочности и биологической безопасности, имплантационные материалы должны целенаправленно влиять на процессы остеогенеза, способствуя ускорению остеиндукции и, соответственно, сокращению времени реабилитации пациента после вмешательства [2–5].**

В последнее время активно изучаются сверхтонкие покрытия, нанесенные на имплантаты, что позволяет управлять биомедицинскими параме-

трами этих материалов. Разработка биосовместимых покрытий на основе титана и его сплавов, обладающих свойствами, аналогичными свойствам натуральной кости, позволяющих поддерживать функцию клеточной адгезии после имплантации и способствовать восстановлению костной ткани, является перспективным направлением развития медицинского материаловедения на современном этапе. В данной работе исследуются образцы новых типов биосовместимых покрытий на основе средне-энтропийных сплавов TiNbTa и TiNbZr и их оксидов, нанесенных на подложку из медицинского сплава титана BT6 методом вакуумно-дугового напыления с плазменным ассистированием [6, 7]. Наличие трех биосовместимых металлов в составе рассматриваемых сплавов обеспечивает гибкость их адаптации под решение конкретных задач. Варьируя соотношением элементов, можно достигнуть желаемых показателей механической прочности, физических свойств и биологической совместимости, что перспективно для создания новых имплантационных материалов.

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

**Материал и методы.** Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) из жировой ткани человека культивировали в среде DMEM (Sigma) с добавлением 10 % фетальной телячьей сыворотки (FBS) в культураль-

ных флаконах площадью 25 см<sup>2</sup> (Thermo Scientific) при 37 °С и 5 % CO<sub>2</sub>. Смена среды осуществлялась каждые 3–4 дня. После достижения 80–90 % конfluenceности монослои клетки отделяли с помощью 0,25 % раствора трипсина и подсчитывали с помощью автоматического счетчика клеток Luna-FL (Logos Biosystems). В эксперименте использовались клетки на 7–8 пассаже.

Исследуемые образцы (BT6, TiNb, TiNbO, TiNbZrTa, TiNbZrTaO, n=12 для каждой опытной группы) помещали в 24-луночный планшет. В каждую лунку планшета с образцами вносили суспензию МСК (0,8 мл, содержащих 2x10<sup>4</sup> клеток). Планшет инкубировали в течение 4 суток при 37 °С и 5 % CO<sub>2</sub>.

Цитотоксичность образцов определяли с помощью набора для определения цитотоксичности с лактатдегидрогеназой (LDH) (Servicebio). В каждую лунку 24-луночного планшета без исследуемых образцов вносили суспензию МСК (0,8 мл, содержащих 2x10<sup>4</sup> клеток). Планшет инкубировали в течение 4 суток при 37 °С и 5 % CO<sub>2</sub>. После чего в 12 лунок 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 Cytation1 (BioTek) при длине волны 490 нм с референсной длиной волны 600 нм. Определяли цитотоксичность образцов по формуле

$$\text{Цитотоксичность (\%)} = \frac{\text{ОП}_{\text{опыт}} - \text{ОП}_{\text{«+» контроль}}}{\text{ОП}_{\text{«-» контроль}} - \text{ОП}_{\text{«+» контроль}}} \cdot 100 \%$$

Пролиферативную активность клеток определяли с помощью набора EZ4U (Biomedica), модификации теста МТТ, который оценивает метаболическую активность клеток, коррелирующую с количеством живых клеток. Образец каждого типа переносили после инкубации в другой 24-луночный планшет с 0,8 мл свежей среды DMEM. Затем к каждой лунке добавляли 80 мкл активированного раствора EZ4U и инкубировали при 37 °С и 5 % CO<sub>2</sub> в течение 3,5 часов. После этого образцы извлекали и измеряли оптическое поглощение раствора с использованием многофункционального фотометра-имиджера Cytation1 (BioTek) при длине волны 450 нм с референсной длиной волны 620 нм. Клетки в лунке с образцом BT6 (n=12) использовали как контрольные. Вычисляли оптическую плотность относительно контроля (%).

Статистическую обработку данных проводили с использованием методов описательной статистики (среднее арифметическое, стандартная ошибка, медиана, 25-й и 75-й процентиля) в пакете прикладных программ SPSS v. 27 (IBM, США). Сравнение количественных данных в группах с распределением, отличным от нормального, проводили с помощью критерия Манна – Уитни, для сравнения долей (%) использовали критерий  $\chi^2$ .

**Результаты и обсуждение.** Выявлено, что наибольшей статистически значимой цитотоксической активностью характеризовались образцы BT6 (31,45±2,27 %, p<0,001) и TiNbZrTaO (26,71±0,89 %, p<0,001). Для других образцов были характерны зна-

чительно более низкие показатели цитотоксичности (от 8,73±0,19 % до 16,56±1,16 %) (рис. 1).

Ранее в исследованиях было показано, что стандартный медицинский сплав BT6 обладает выраженной цитотоксичностью, что послужило основанием для поиска новых перспективных биосовместимых покрытий [8]. Для сплава TiNbZrTaO подобные результаты получены впервые. При этом в работе R. Ion с соавт. [9], целью которой являлась оценка токсического эффекта на биологические системы трех сплавов титана, включая Ti-36.5Nb-4.5Zr-3Ta-0.16O, исследуемые образцы не оказывали значительного цитотоксического действия на культивируемую клеточную культуру.

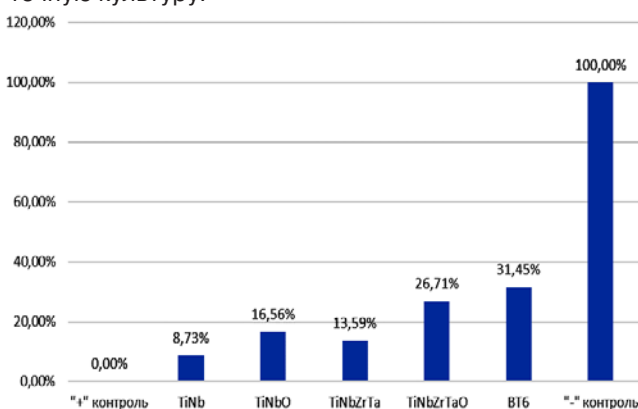


Рис. 1. Цитотоксичность исследуемых образцов (%)

Исследование *in vitro* биосовместимости образцов с целью отбора проб для дальнейшего исследования показало существенное повышение пролиферации клеток при культивировании на сплавах TiNb (125,26±6,12 %, p<0,05) и TiNbZrTa (112,42±3,37 %, p<0,05). В отношении других изученных материалов статистически значимых различий в пролиферативной активности клеток от образцов контрольной группы не обнаружено (104,72±5,61 % для TiNbO и 93,25±3,20 % для TiNbZrTaO) (рис. 2).

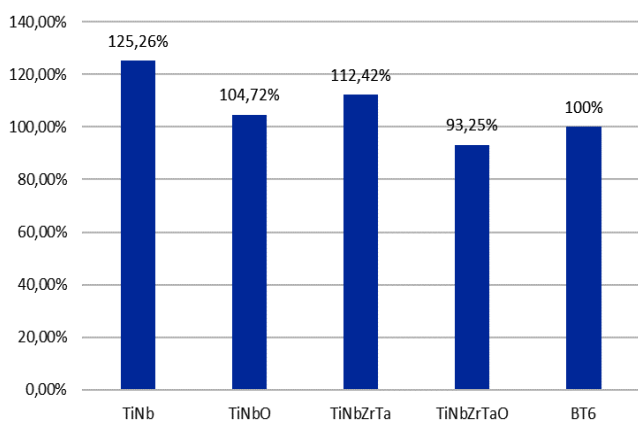


Рис. 2. Пролиферативная активность МСК, культивируемых на различных образцах через 4 суток (%)

При анализе результатов исследования обращает на себя внимание факт наличия сниженной пролиферативной активности клеток только на образцах, содержащих кислород, – TiNbO и TiNbZrTaO. Ранее подобные данные не находили отражение в литературе.

**Закключение.** Таким образом, наиболее перспективными материалами для имплантационной хирур-

гии являются образцы покрытий на основе сплавов титана TiNb и TiNbZrTa, обладающие низкой цитотоксичностью и высокой биосовместимостью. При этом образец TiNb отличается самыми низкими показателями цитотоксичности и наиболее высоким пролиферативным потенциалом среди всех исследуемых сплавов.

**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 G. 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. *Biores. 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. [et al.]. Comprehensive in vitro and in ovo assessment of cytotoxicity: Unraveling the impact of sodium fluoride, xylitol, and their synergistic associations in dental products. *Biomol. 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. Prost. Dent.* 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>
6. Prokopenko N. A., Petrikova E. A., Petyukevich M. S., Tolkachov O. S., Koval N. N. [et al.]. Structure and properties of titanium and titanium oxide films formed on a substrate by vacuum-arc plasma-assisted method. *Russ. Phys. J.* 2025;68:383-391. <https://doi.org/10.1007/s11182-025-03444-w>
7. Koval N. N., Prokopenko N. A., Petrikova E. A., Vorobyov M. S., Ivanov Yu. F. Determination by scratch testing of the quality of thin-film oxide coatings formed by vacuum-arc plasma-assisted method. *Russ. Phys. J.* 2025;68:392-399. <https://doi.org/10.1007/s11182-025-03445-9>
8. Долгалеv Ал. Ал., Диденко Н. Н., Коваль Н. Н., Иванов Ю. Ф., Воробьев М. С. [и др.]. 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. [Dolgalev Al. Al., Didenko N. N., Koval N. N., Ivanov Yu. F., Vorobyev M. S. [et al.]. Cytotoxicity and biocompatibility of titanium-based coatings used in implantation surgery on in vitro cell cultures. *Meditsinskii vestnik Severnogo Kavkaza. – Medical News of North Caucasus.* 2025;20(1):49-51. (In Russ.)] <https://doi.org/10.14300/mnnc.2025.20012>
9. Ion R., Răducanu D., Angelescu M. L., Cîmpean A., Angelescu R. M. In Vitro Biocompatibility Testing of Three Newly Developed Titanium Alloys for Oral Implantology. *U. P. B. Sci. Bull., Series B.* 2017;79(2):207-216.

Поступила 30.06.2025

### Сведения об авторах:

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

Диденко Николай Николаевич, ассистент кафедры нормальной и патологической физиологии; тел.: +78652352684; e-mail: [patphysiology@stgmu.ru](mailto: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](mailto: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](mailto: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](mailto:vorobyovms@yandex.ru); <https://orcid.org/0000-0001-5136-5905>

Хрипунова Алеся Александровна, кандидат медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой информационных и цифровых технологий; тел.: +79614986072; e-mail: [ftkcz2007@yandex.ru](mailto:ftkcz2007@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](mailto:denta_city@mail.ru); <https://orcid.org/0009-0009-8612-4234>

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