

Оценка цитотоксичности кальций-силикатных материалов, применяемых в эндодонтии

Докладчики:

Терехова Т.Н., зав. кафедрой стоматологии детского возраста;

Бутвиловский А.В., профессор кафедры эндодонтии;

Пыко Т.А., аспирант кафедры стоматологии детского возраста;

Залевская О.С., научный сотрудник НИИ ГТЭВМ

Донецк, 2026

Актуальность исследования

- 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 [M. Torabinejad, N. Chivian, 1999; J. Camilleri, T.R.P. Ford, 2006; А.В. Бутвиловский, Д.Л. Володкевич, 2019].
- Данная техника применяется при эндодонтическом лечении постоянных зубов с несформированными корнями и в иных случаях широкого (более 60° по ISO) верхушечного отверстия (например, при резорбции верхушки корня при апикальном периодонтите).

Актуальность исследования

- 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.
- При этом не менее важна и их биосовместимость [J. Camilleri, T.R.P. Ford, 2006], 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 [Д.Л. Володкевич и соавт., 2018; Т.Н. Терехова и соавт., 2024], в том числе цитотоксичности, что и определяет актуальность работы в этом направлении.

Цель, материалы и методы

- **Цель исследования** - оценить цитотоксичность материалов на основе силикатов кальция.
- **Объектами исследования** являлись материалы на основе силикатов кальция: Триоксидент (ВладМиВа, Россия), Dia-Root Bio MTA (DiaDent, Корея), Bio MTA (Cerkamed, Польша), Канал MTA (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).

Материалы и методы

- 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.

Материалы и методы

- Для оценки цитотоксичности материалов клеточную суспензию Vero-E6 высевали на 6-луночные 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 ростовую среду удаляли.
- Исследуемый материал готовили в соответствии с инструкциями производителя. Далее вносили в лунки 2% питательную среду DMEM в объёме 2 мл, содержащую исследуемые образцы (100 мг), и помещали в CO₂-инкубатор при 37°C и 90% влажности для наблюдения в течение 72 часов. Каждая точка эксперимента проставлялась в 3 повторах.

Материалы и методы

- После инкубации 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.

Материалы и методы

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

График с результатами количественного определения жизнеспособности культуры клеток Vero-E6



Образец с умеренной цитотоксичностью

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

Выводы

- 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-E6 (от 79 до 84% живых клеток).
- Материалу на основе эпоксидной смолы BJM Root Canal Sealer свойственна средняя цитотоксичность.