

БИОСОВМЕСТИМОСТЬ НАНОКЕРАМИКИ НА ОСНОВЕ ДИОКСИДА ЦИРКОНИЯ С КУЛЬТИВИРУЕМЫМИ КЛЕТКАМИ

© Н. Ю. Ковалько,^{1,*} К. А. Колобов,^{1,2,*} М. В. Калинина,¹ Л. В. Морозова,¹
О. А. Шилова,¹ М. И. Блинова²

¹Институт химии силикатов РАН, Санкт-Петербург, 199034, и

²Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064;

* электронный адрес: kovalko.n.yu@gmail.com; kostyakolobok@rambler.ru

Представлены данные по культивированию клеток постоянной трансформированной клеточной линии СНО-К1 (клетки яичника китайского хомячка) и дермальных фибробластов человека на синтезированном биокерамическом материале на основе $t\text{-ZrO}_2$ состава $(\text{ZrO}_2)_{0.92}(\text{Y}_2\text{O}_3)_{0.03}(\text{CeO}_2)_{0.05}$ с высокой степенью тетрагональности. Задача работы заключалась в исследовании биосовместимости синтезированного керамического материала на основе диоксида циркония с клетками в культуре и влияния его на их жизнеспособность. Действие тестируемого керамического материала на культивируемые клетки оценивали по изменению их морфологии (методами световой и сканирующей электронной микроскопии) и пролиферации (путем подсчета в камере Горяева и фотоколориметрическим методом). Результаты продемонстрировали биосовместимость материала на основе $t\text{-ZrO}_2$ с культивируемыми клетками, что позволяет предполагать сохранение его свойств *in vivo* при имплантации в организм человека.

Ключевые слова: биокерамика на основе $t\text{-ZrO}_2$, жидкофазный синтез, клетки СНО-К1, пролиферация, морфология, биосовместимость.

Исследования, разработка и производство биокерамических материалов составляют существенный сегмент современного рынка наукоемких технологий. Анализ отечественной (Вересов и др., 2000; Захаров, 2009; Лебедев и др., 2010) и зарубежной (Piconi, Massaro, 1999; Chevalier et al., 2007) научной литературы позволяет констатировать, что в последнее десятилетие сформировался новый раздел науки — биоматериаловедение. Основная задача этого направления заключается в решении проблемы получения биоматериалов на основе оксидных нанокерамических композиций для различных отраслей медицины, в частности для стоматологии.

Спектр возможных решений с применением керамики в современной восстановительной стоматологии довольно широк. Объемы требуемых материалов постоянно растут. Одной из важных задач в области биоматериаловедения является создание такого имплантата, который был бы биосовместим с клетками ткани, был легким и долговечным, не подвергался агрессивному воздействию организма.

Как известно из работ ряда авторов (Михайлина и др., 2010; Вафин и др., 2011), керамика из диоксида циркония полностью биосовместима, не вызывает аллергии и не подвержена коррозии; ее можно применять при создании имплантатов любой сложности и конфигурации для челюстно-лицевой хирургии. Кроме того, полностью отсутствует процесс рецессии десны, при котором ткань десны вокруг коронок атрофируется и отходит, обнажая основание зуба (Рогожников и др., 2012).

В настоящее время на отечественном рынке керамика на основе диоксида циркония представлена лишь зару-

бежными производителями из Японии, Германии, США, Израиля и др. Поэтому остро стоит вопрос по созданию отечественного материала, не уступающего по своим характеристикам импортным аналогам.

Начиная с 80-х годов XX в., для минимизации количества подопытных животных или полной их замены для изучения токсичности различных препаратов и соединений используют альтернативные биологические модели. Одной из таких моделей являются культивируемые клетки (Дядищев и др., 1998; Червонская, 1998). Культуры клеток человека и животных в качестве биологических тест-систем все чаще используются исследователями ввиду их доступности, возможности контроля и большей воспроизводимости по сравнению с тест-системами *in vivo*. К тому же немаловажную роль играет сокращение временных и экономических затрат (Botham et al., 1996; Еропкина, Еропкина, 2003). Другое преимущество культивируемых клеток — возможность прижизненного визуального наблюдения под инвертированным микроскопом состояния клеток в течение всего эксперимента (Combes, 2001).

Все материалы, используемые в медицине, должны проходить токсикологические испытания до начала их практического применения. Их первая фаза на этапе разработки материалов — исследование базовой (общей) цитотоксичности. Взаимодействие культивируемых клеток в экспериментах *in vitro* с образцами материалов либо с каким-то агентом свидетельствует о влиянии тестируемого материала или агента на жизнеспособность клеток и является критерием оценки цитотоксического воздейст-

вия на культивируемые клетки. Метод культивирования клеток позволяет четко определить проявление общего цитотоксического влияния тестируемого материала или какого-либо другого агента на функциональную активность культивируемых клеток (Блинова и др., 2002; Воронкина и др., 2003; Александрова и др., 2015). Это может выражаться в изменении морфологии клеток, присущей данному клеточному типу, и в снижении функциональной активности клеток, в частности в недостаточной адгезии к поверхности культурального сосуда, отсутствии миграции и снижении пролиферации по сравнению с контрольным вариантом.

Как было показано в специальных исследованиях по токсикологии, оценка общей цитотоксичности веществ определяется по состоянию клеточных культур, их росту и жизнеспособности. Анализ данных, полученных в таких исследованиях, показал, что предпочтительнее использовать культуры клеток животных и человека (Wakagi et al., 1993; Каркищенко, 2006).

Диоксид циркония, стабилизированный в тетрагональной модификации $t\text{-ZrO}_2$, рассматривается как перспективный материал для реставрационной стоматологии, поскольку обладает комплексом уникальных физико-механических свойств, в частности химической и структурной стабильностью, высокой устойчивостью к трещинам, твердостью и прочностью, а также обладает светопрозрачностью, сходной по показателям с натуральными тканями зуба. В отличие от металла (например, золота) при изготовлении коронок и мостовидных протезов толщина каркаса из диоксида циркония не будет превышать 0,4 мм, что позволит проводить минимальную обточку зубов.

Цель настоящей работы — проверка биосовместимости синтезированного керамического материала на основе диоксида циркония с культивируемыми клетками, влияния его на пролиферацию и морфологию клеток.

Материал и методика

Синтез керамического материала состава $(\text{ZrO}_2)_{0,92}(\text{Y}_2\text{O}_3)_{0,03}(\text{CeO}_2)_{0,05}$. Этот материал синтезирован нами жидкофазным методом химического осаждения гидроксидов циркония и иттрия из азотнокислых растворов солей водным раствором аммиака. Спекание нанодисперсных порошков на основе $t\text{-ZrO}_2$ в виде спрессованных компактов проводили в интервале температур

1100—1350 °С. Подробная технология получения этого керамического материала описана нами ранее (Морозова и др., 2012, 2014). Для наглядной иллюстрации одной из важнейших характеристик материала на рис. 1 показана исследованная нами микроструктура керамики на основе тетрагонального твердого раствора на основе $t\text{-ZrO}_2$. Как видно на рис. 1, материал является хорошо закристиализованным и очень плотным, открытая пористость не превышает 1 %, средний размер кристаллитов $t\text{-ZrO}_2$ — 70 нм.

Клеточные культуры. Модельными тест-объектами служили культуры клеток двух линий — постоянной СНО-К1 и клетки кожи человека, выделенные и культивируемые далее. Клетки постоянной трансформированной клеточной линии СНО-К1 (клетки яичника китайского хомячка) получены из коллекции клеточных культур Института цитологии РАН (Санкт-Петербург). Трансформированные клеточные линии являются стандартными по своим функциональным свойствам и поэтому используются для первичного скрининга цитотоксичности. Клетки культивировали в среде F12, содержащей 10 % эмбриональной сыворотки плодов коров. Клетки культивировали в лунках 48-луночной плиты. Количество среды в каждой лунке составляло 500 мкл, доза посева клеток на 1 лунку — 100 клеток в 25 мкл питательной среды, время культивирования клеток — 7 сут.

Дермальные фибробласты человека выделяли из кожи, полученной в результате пластической операции. После выделения из ткани фибробласты культивировали в питательной среде DMEM, содержащей 10 % FBS, в течение нескольких пассажей, затем сохраняли их в атмосфере жидкого азота. В процессе выполнения эксперимента клетки культивировали в 48- и 96-луночных планшетах. При культивировании в 96-луночных планшетах контрольные лунки (12 шт.) вносили по 50 клеток в 250 мкл питательной среды. В экспериментальные лунки (24 шт.) вносили по 50 клеток в 50 мкл среды, а затем добавляли 200 мкл среды, в которой не менее 2 нед находился исследуемый материал в форме таблеток.

Подготовка образцов тестируемого материала для исследования его цитотоксичности. Образцы керамики предварительно стерилизовали автоклавированием в деионизованной воде в течение 20 мин под давлением в 1 атм. Стерильный образец экспонировали в течение не менее 2 нед в CO_2 -инкубаторе при 37 °С (условия культивирования клеток) в ростовой

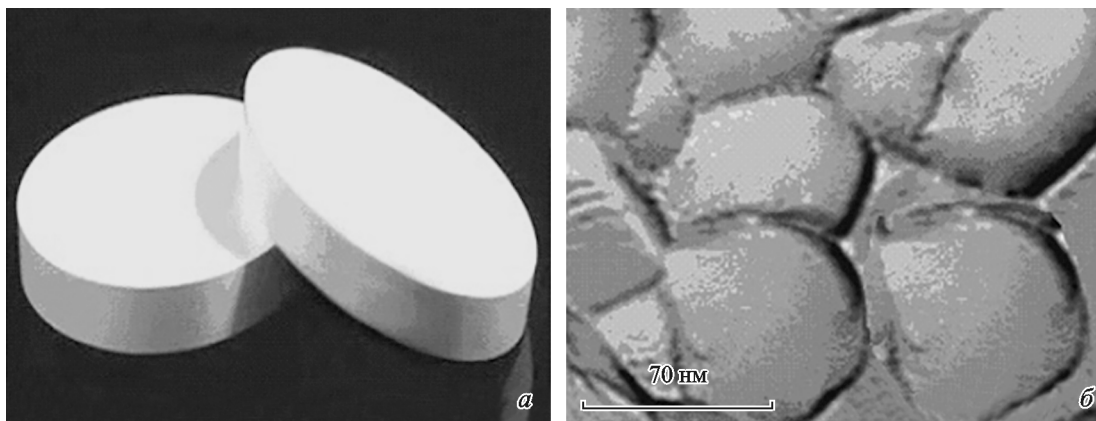


Рис. 1. Внешний вид (а) и микроструктура (б) керамики на основе $t\text{-ZrO}_2$.

питательной среде F12 для клеток СНО-К1 или DMEM для дермальных фибробластов с целью определения в этих условиях экстракции компонентов керамики в питательную среду, способных оказывать цитотоксическое воздействие на клетки. Обе среды содержали 10 % FBS.

Оценка воздействия керамического материала на клетки. Оценивали по двум параметрам — морфология (качественный) и пролиферация (количественный) клеток. Морфологию клеток оценивали двумя способами — световой микроскопией (прижизненные наблюдения под инвертированным микроскопом в процессе культивирования клеток) и сканирующей электронной микроскопией фиксированных клеток.

Сканирующая электронная микроскопия. Клетки рассеивали в 4-луночной плате с диаметром лунок 1 см. В 2 лунки помещали по одной «таблетке» тестируемого материала и на их поверхность высевали по 1000 клеток в 100 мкл питательной среды (эксперимент). В 2 другие лунки вносили такое же количество клеток, но без тестируемого материала (контроль). Через 2 сут наблюдения за клетками контрольного варианта, убедившись, что они нормально растут, клетки на таблетке фиксировали в растворе глутаральдегида для сканирующей микроскопии. В качестве второго контроля была выполнена сканирующая микроскопия поверхности таблетки без клеток. Использовали микроскоп GSM-35.7 (Япония).

Количественная оценка пролиферации клеток. Использовали способы подсчета числа клеток — в камере Горяева и фотокolorиметрический метод. Подсчет клеток СНО-К1 выполняли в камере Горяева через 7 сут культивирования. Клетки открепляли от поверхности каждой лунки смесью раствора трипсин—версен (в соотношении 1 : 1) и в образовавшихся суспензиях считали их число в камере Горяева. Фотокolorиметрическим методом оценивали пролиферацию дермальных фибробластов. Клетки фиксировали, окрашивали генциан-виолетом, затем краситель экстрагировали и определяли оптическую плотность раствора. Для определения числа клеток предварительно строили калибровочную кривую для дермальных фибробластов, культивируемых без воздействия тестируемого материала. Посев клеток проводили по следующей схеме: в первую и вторую лунки 96-луночной платы вносили по 15 000 клеток в 100 мкл среды. Первая лунка, в которую было внесено 15 000 клеток, оставалась контрольной без изменения. В следующие лунки (с 3-й по 12-ю) вносили только по 50 мкл среды без клеток, затем из 2-й лунки забирали 50 мкл среды с клетками и переносили в 3-ю, затем также 50 мкл среды с клетками, взятой из 3-й лунки, переносили в 4-ю и т. д., осуществляя последовательный перенос клеток вплоть до 12-й лунки, уменьшая всякий раз в очередной лунке количество клеток в 2 раза. После адгезии клеток к поверхности лунки (через 1 ч после посева) среду удаляли, а все прикрепившиеся клетки аккуратно промывали сбалансированным солевым раствором PBS, фиксировали 70%-ным этиловым спиртом (100 мкл) в течение 15 мин, после чего окрашивали 0.1%-ным раствором генциан-виолета (100 мкл) в течение 15—20 мин. Излишки непоглощенного клетками красителя удаляли, лунки промывали проточной водой. Платы оставляли до полного высыхания лунок. На следующий день добавляли в каждую лунку по 100 мкл 10%-ного раствора уксусной кислоты, в результате чего в течение 15—20 мин происходил лизис клеток, и из них экстрагировались окрашенные белки. Число клеток, адгезировавших на

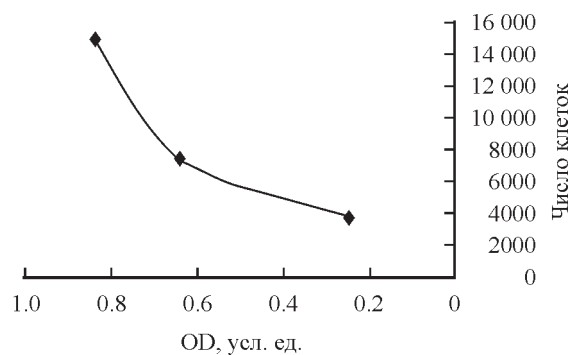


Рис. 2. Зависимость оптической плотности (OD) экстрагированного раствора красителя от числа клеток. Калибровочная кривая.

поверхности лунок, опосредованно оценивали по оптической плотности генциан-виолета, связанного с клеточными белками, используя иммунохимический анализатор «Флюорофот» (ООО СКБ «Научаналитприбор»). Измерения проводили при длине волны 570 нм. На основании полученных данных строили калибровочную кривую (рис. 2), по которой с учетом количества клеток в лунках и соответствующей этому количеству величины оптической плотности растворов судили о количестве клеток в контрольной и экспериментальных лунках.

В экспериментальных вариантах после культивирования клеток в течение 7 сут в среде, контактировавшей с тестируемым материалом на основе $t\text{-ZrO}_2$, клетки таким же образом фиксировали, окрашивали и экстрагировали окрашенные белки, затем определяли оптическую плотность с помощью анализатора «Флюорофот». По значениям оптической плотности на калибровочной кривой определяли число клеток в экспериментальном варианте.

Результаты и обсуждение

Клетки линии СНО-К1. При визуальной оценке под инвертированным микроскопом состояние клеток при культивировании как в контроле (в стандартной среде), так и в среде, контактировавшей с тестируемым материалом в течение 7 сут, не различалось. Сохранялась типичная для этих клеток морфология (рис. 3). Это может служить свидетельством отсутствия негативного влияния тестируемого материала на клетки.

Такое же заключение можно сделать исходя из оценки пролиферации этих клеток. В контрольном варианте (стандартное культивирование в ростовой среде) в течение 7 сут культивирования в 24-луночной плате среднее число клеток СНО-К1 в одной лунке составляло 155 ± 20 (150, 145 и 170 в отдельных лунках). В эксперименте (культивирование в среде, контактировавшей в течение 7 сут с тестируемым материалом) среднее число клеток на 1 лунку через 7 сут составило 166 ± 28 (190, 150, 150, 150, 240 и 120). Некоторое превышение клеток в эксперименте по сравнению с контролем может объясняться методическими погрешностями.

Полученные данные свидетельствуют о том, что среднее число клеток на 1 лунку после культивирования в течение 7 сут в контроле и эксперименте сравнимы друг с другом. Достоверной разницы не обнаружено. Можно предполагать, что в тестируемом материале на основе $t\text{-ZrO}_2$ отсутствуют компоненты, негативно влияющие на

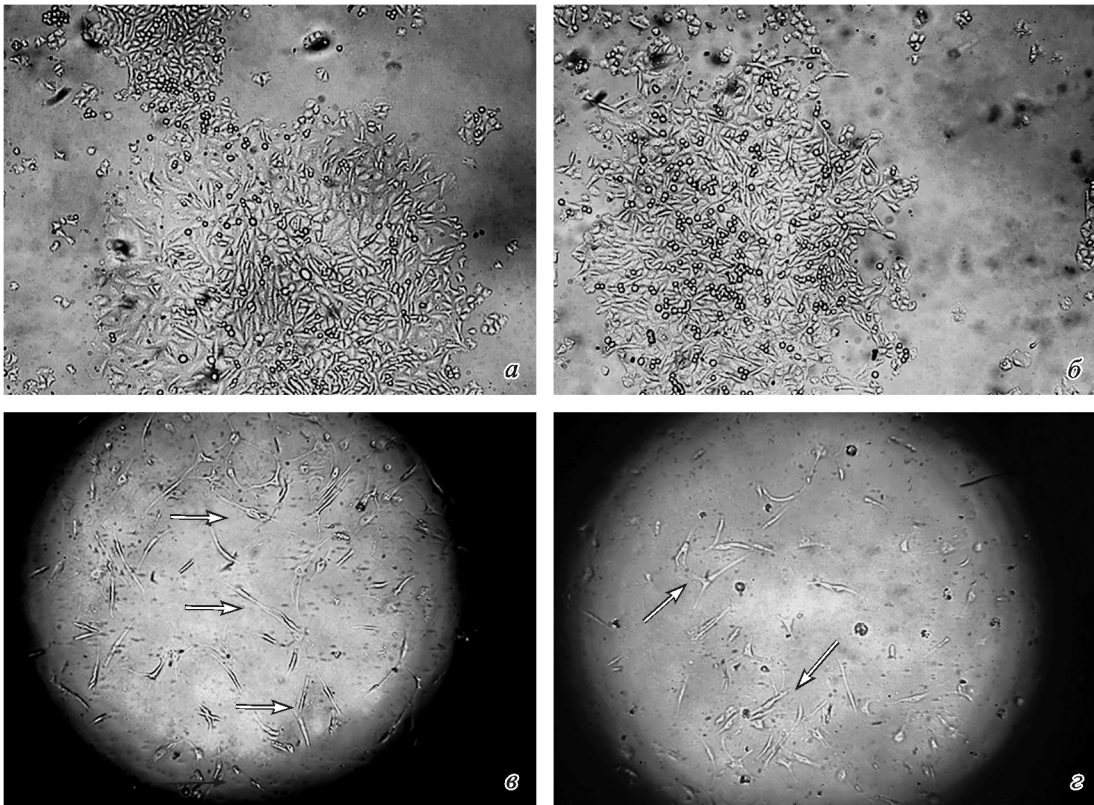


Рис. 3. Прижизненные фотографии клеток CHO-K1 (а, б) и дермальных фибробластов (в, г) в контрольной среде (а, в) и в среде после 7-суточного содержания в ней материала на основе $t\text{-ZrO}_2$ (б, г). Световая микроскопия.

Стрелки показывают фибробласты. Об.: 10×.

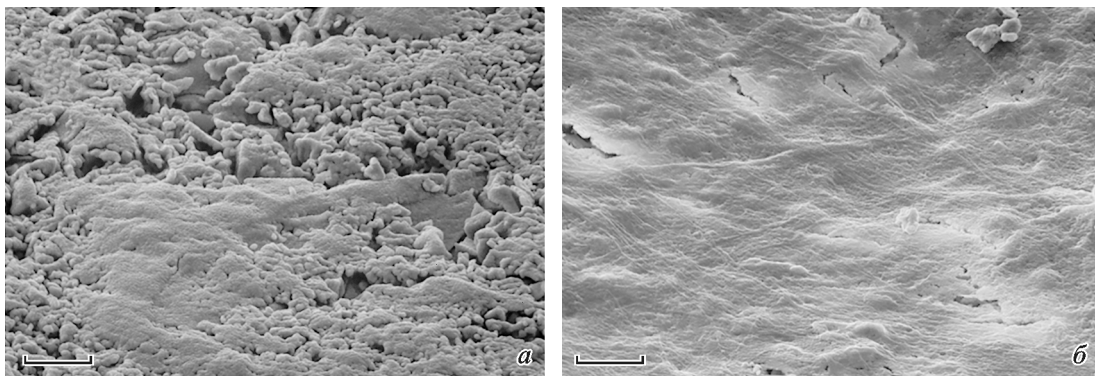


Рис. 4. Поверхность материала на основе $t\text{-ZrO}_2$ без клеток (а) и слой дермальных фибробластов на этой поверхности через 2 сут культивирования (б). Сканирующая электронная микроскопия.

Увел.: 1500×. Масштабный отрезок — 10 мкм.

Результаты измерения оптической плотности для оценки пролиферации дермальных фибробластов

Условия	Значения оптической плотности (OD) в лунке												Среднее значение OD
Контроль	0.21	0.22	0.31	0.25	0.21	0.20	0.21	0.18	0.22	0.18	0.20	0.19	0.21 ± 0.05 (10 000) ^a
$t\text{-ZrO}_2$	0.23	0.16	0.21	0.24	0.24	0.24	0.23	0.17	0.26	0.17	0.24	0.24	0.21 ± 0.04 (10 000) ^a
	0.24	0.28	0.29	0.29	0.26	0.23	0.32	0.15	0.23	0.18	0.21	0.21	

^a В скобках указано среднее число клеток на лунку, определенное по калибровочной кривой.

жизнедеятельность клеток, и что материал инертен по отношению к клеткам и не подавляет жизнеспособность и пролиферацию клеток, поэтому безопасен при взаимодействии с живыми клетками.

Дермальные фибробласты, как и клетки СНО-К1, культивируемые в лунках 96-луночной платы в питательной среде, контактировавшей с тестируемым материалом, морфологически не отличались от клеток, выросших в контроле (рис. 3). Об отсутствии ингибирования роста фибробластов, культивируемых на тестируемом материале, свидетельствуют результат сканирующей электронной микроскопии поверхности материала без клеток и сформированный монослой клеток в течение 2 сут культивирования на таблетке из этого материала (рис. 4).

Пролиферацию фибробластов, культивируемых в течение 7 сут, оценивали фотоколориметрическим методом по оптической плотности экстрагированного из них красителя (см. таблицу). Число клеток определяли по калибровочной кривой (рис. 2). Как видно из данных таблицы, число клеток, выросших в питательной среде, контактировавшей с тестируемым материалом, соответствует числу клеток, выросших в контроле. Результаты свидетельствуют об отсутствии негативного влияния композитного материала на жизнедеятельность нормальных дермальных фибробластов человека.

Итак, полученные результаты по взаимодействию композитного материала на основе $t\text{-ZrO}_2$ с клетками стандартной трансформированной линии СНО-К1 и с нормальными дермальными фибробластами кожи человека показали, что этот материал не оказывает негативно-го влияния на жизнедеятельность и функциональную активность клеток. Следовательно, он инертен, нетоксичен и безопасен для живых клеток, т. е. биосовместим. Можно предполагать, что биосовместимость будет сохраняться и при имплантации его в организм человека.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 14-50-0068).

Список литературы

- Александрова О. И., Околов И. Н., Тахтаев Ю. В., Хорольская Ю. И., Хинтуба Т. С., Блинова М. И. 2015. Сравнительная оценка цитотоксичности антимикробных глазных капель. *Вопр. офтальмофармакол.* 8 (1): 89—97. (Aleksandrova O. I., Okolov I. N., Takhtaev Yu. V., Khorol'skaja Yu. I., Khintuba T. S., Blinova M. I. 2015. Comparative evaluation of cytotoxicity of the antimicrobial eye drops. *Voprosy ophthalmopharmakol.* 8 (1): 89—97.)
- Блинова М. И., Юдинцева Н. М., Калмыкова Н. В., Кузьминых Е. В., Юрлова Н. А., Овчинникова О. А. 2002. Действие меланинов из черных дрожжевых грибов на культивируемые клетки человека. I. Пролиферация кератиноцитов и фибробластов. *Цитология.* 44 (8): 780—787. (Blinova M. I., Yudinseva N. M., Kalmykova N. V., Kuz'minykh E. V., Yurlova N. A., Ovchinnikova O. A. 2002. Effect of melanins from black yeast fungi on cultured human cells. I. Proliferation of keratinocytes and fibroblasts. *Tsitologiya.* 44 (8): 780—787.)
- Боровский Е. В. (Ред.). 2004. Терапевтическая стоматология. 2-е изд. М.: ООО «Медицинское информационное агентство». 778 с. ((Borovskiy E. V. (Ed.). 2004. Therapeutic dentistry. 2nd ed. Moscow: ООО «Medical informative agency». 778 p.)
- Вафин С. М., Хван В. И. 2011. Керамика на основе диоксида циркония. Достижения и перспективы. *Стоматолог-практик.* 1: 20—23. (Vafin S. M., Khvan V. I. 2011. Ceramics based on zirconium dioxide. Achievements and Prospects. *Dental Practices.* 1: 20—23.)
- Вересов А. Г., Путляев В. И., Третьяков Ю. Д. 2000. Достижения в области керамических биоматериалов. *Рос. хим. журн.* 94: 34—46. (Veresov A. G., Putljaev V. I., Tret'yakov Yu. D. 2000. Achievements in the field of ceramic biomaterials. *Russian J. Chem.* 94: 34—46.)
- Воронкина И. В., Шарлаимова Н. С., Блинова М. И., Пинаев Г. П. 2003. Изменение пролиферативной и миграционной активности соматических клеток млекопитающих под действием фракций целомической жидкости регенерирующей морской звезды зависит от присутствия матричных металлопротеиназ. *Цитология.* 45 (9): 861. (Voronkina I. V., Sharlaimova N. S., Blinova M. I., Pinaev G. P. 2003. *Tsitologiya.* 45 (9): 861.)
- Дядищев Н. Р., Рыбалкин С. П., Марченко А. И. 1998. Биологические модели in vitro в токсикологии. В кн.: Тезисы докладов 1-го съезда токсикологов России. М. 276. (Djadichev N. R., Rybalkin S. P., Marchenko A. I. 1998. In vitro biological models in toxicology. In: Abstracts of the 1st Congress of the Toxicologists of Russia. Moscow. 276.)
- Еропкина М. Ю., Еропкина Е. М. 2003. Культуры клеток как модельная система исследования токсичности и скрининга цитопротекторных препаратов. СПб.: Морсар АВ. 239 с. (Eropkina M. Yu., Eropkina E. M. 2003. Cell cultures as model system of the toxicity investigations and scrinnings of the cytoprotector preparations. St. Petersburg: Morsar AV. 239 c.)
- Захаров З. Д. 2009. Современные керамические материалы, используемые в ортопедической стоматологии для изготовления зубных протезов. *Стоматология.* 2: 80—82. (Zakharov Z. D. 2009. Current ceramic materials used in prosthetic dentistry for the manufacture of dentures. *Dentistry.* 2: 80—82.)
- Каркищенко Н. Н. 2006. Классические и альтернативные модели в лекарственной токсикологии. *Биомедицина.* 4: 5—23. (Karkischenko N. N. 2006. Classic and alternative models of drug toxicology. *Biomedicine.* 4: 5—23.)
- Лебедеко И. Ю., Хван В. И., Анисимова С. В., Лебедеко А. И., Михайлина Н. А., Подзорова Л. И., Румянцева М. Н., Шворнева Л. И., Волченкова В. А. 2010. Диоксид циркония в стоматологическом материаловедении. *Рос. стоматол. журн.* 2: 4—6. (Lebedenko I. Yu., Khvan V. I., Anisimova S. V., Lebedenko A. I., Mikhailina N. A., Podzorova L. I., Rumjanceva M. N., Shvorneva L. I., Volchenkova V. A. 2010. Zirconia in dental materials science. *Rus. Dental J.* 2: 4—6.)
- Михайлина Н. А., Подзорова Л. И., Румянцева М. Н., Шворнева Л. И., Овчинникова О. А., Анисимова С. В., Лебедеко И. Ю., Лебедеко А. И., Хван В. И. 2010. Керамика на основе тетрагонального диоксида циркония для реставрационной стоматологии. Перспективные материалы. 3: 44—48. (Mikhailina N. A., Podzorova L. I., Rumjanceva M. N., Shvorneva L. I., Ovchinnikova O. A., Anisimova S. V., Lebedenko I. Yu., Lebedenko A. I., Khvan V. I. 2010. Ceramics based on tetragonal zirconia for restorative dentistry. *Advanced Materials.* 3: 44—48.)
- Морозова Л. В., Калинина М. В., Ковалько Н. Ю., Арсентьев М. Ю., Шилова О. А. 2014. Получение нанокерамики на основе диоксида циркония с высокой степенью тетрагональности. *Физика и химия стекла.* 40 (3): 462—468. (Morozova L. V., Kalinina M. V., Koval'ko N. Yu., Arsent'ev M. Yu., Shilova O. A. 2014. Preparation of zirconia-based nanoceramics with a high degree of tetragonality. *Glass Phys. Chem.* 40 (3): 352—355.)
- Морозова Л. В., Калинина М. В., Ковалько Н. Ю., Панова Т. И., Дроздова И. А., Шилова О. А. 2012. Синтез и исследование наноконпозиций на основе диоксида циркония с целью создания новых биоматериалов. *Физика и химия стекла.* 38 (6S): 346—352. (Morozova L. V., Kalinina M. V., Koval'ko N. Yu., Panova T. I., Drozdova I. A., Shilova O. A. 2012. Synthesis and investigation of nanocomposites based on zirconia to create new biomaterials. *Glass Phys. Chem.* 38 (6S): 346—352.)
- Рогожников Г. И., Рогожников А. Г., Асташина Н. Б., Соловкова А. А. 2012. Возможность использования непосредственной имплантации и ортопедических конструкций на основе диоксида циркония при замещении дефектов зубного ряда в эстетически значимой зоне. *Институт стоматологии.* 3: 48—50. (Rogoghnikov G. I., Rogoghnikov A. G., Astashina N. B., Solovkova A. A. 2012. Possibility of using direct implantation and orthopedic constructions on the basis of zirconium dioxide when replacing defects of the dental arch in the esthetically significant zone. *Institut stomatologii.* 3: 48—50.)

Solovkova A. A. 2012. The possibility of using the immediate implant and orthopedic structures based on zirconium dioxide by substituting defects of dentition in the esthetic zone. Institute of Dentistry. 3 : 48—50.)

Червоная Г. П. 1998. Культура клеток — альтернативная биологическая модель в токсикологических исследованиях. В кн.: Тезисы докладов 1-го съезда токсикологов России. М. 328. (Chervonskaja G. P. 1998. The cell culture — the alternative biological model for the toxicological investigations. In: Abstracts of the 1st Congress of the Toxicologists of Russia. Moscow. 328.)

Botham P., Lewis R. 1996. Development of *in vitro* techniques for irritancy testing. Hum. and Exp. Toxicol. 15 : 141.

Chevalier J., Gremillard L., Deville S. 2007. Low-temperature degradation of zirconia and implications for biomedical implants. Annu. Rev. Mater. Res. 37 : 1—32.

Combes R., Balls M. 2001. Ethical investment what is it, and what are the implications for industry funding of research into alternatives? ATLA. 29 : 55—62.

Piconi C., Maccauro G. 1999. Zirconia as a ceramic biomaterial. Biomaterials. 20 : 1—25.

Wakuri S., Izumi J., Sasaki K., Tanaka N., Ono H. 1993. Cytotoxicity study of 32 MEIC chemicals by colony formation and ATP assays. Toxicity *in vitro*. 7 : 517—531.

Поступила 21 VII 2016

BIOCOMPATIBILITY NANOCERAMICS ZIRCONIA WITH THE CELLS OF LIVING ORGANISMS *IN VITRO*

N. Yu. Koval'ko,^{1,*} K. A. Kolobov,^{1,2,*} M. V. Kalinina,¹ L. V. Morozova,¹
O. A. Shilova,¹ M. I. Blinova²

¹ Institute of Silicate Chemistry RAS, St. Petersburg, 199034, and

² Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, 194064;

* e-mail: kovalko.n.yu@gmail.com; kostyakolobok@rambler.ru

The data on cell culture continuous transformed cell line CHO-K1 (Chinese Hamster Ovary cells) and human dermal fibroblasts synthesized at Bio-ceramic material of the composition of $(\text{ZrO}_2)_{0.92}(\text{Y}_2\text{O}_3)_{0.03}(\text{SeO}_2)_{0.05}$ (*t*-ZrO₂) to a high degree of tetragonal. Objective studies was to determine the biocompatibility of the synthesized ceramic material based on zirconium dioxide with the tissues of a living organism, its effect on the viability, proliferation, cell morphology and preservation of a living organism. The action of the test ceramic material for cultured cells was determined by change of cell morphology by means of light and scanning electron microscopy, and quantification of cell proliferation by counting the number of cells after culturing in a Goryaev chamber and calorimetric method. Thus, the *in vitro* biocompatibility of the material is proved based on *t*-ZrO₂ with the cells of a living organism and is made a bet on the conservation of its properties and when implanted in the human body.

Key words: bioceramics based on *t*-ZrO₂, liquid phase synthesis, cultured cells, cell proliferation, morphology, biocompatibility.