

УДК 576.08

DOI 10.17802/2306-1278-2025-14-4-91-101

## ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Л.В. Антонова, В.Г. Матвеева, Е.А. Торгунакова, М.Ю. Ханова, М.С. Коломеец,  
Е.А. Сенокосова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», бульвар им. академика Л.С. Барбараша, стр. 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

### Основные положения

- Не существует универсального метода оценки цитотоксичности материала. Действительный результат можно достичь, используя нескольких принципиально разных методов исследования, с учётом особенностей тестируемого материала.

<b>Актуальность</b>	Несмотря на распространённость и частоту применения, вопросы стандартизации методов определения цитотоксичности материалов для медицинских изделий остаются нерешёнными. Широкая вариативность подходов к оценке цитотоксичности <i>in vitro</i> требует от исследователя тщательного планирования испытания с учётом особенностей исследуемого объекта.
<b>Цель</b>	Провести сравнительный анализ чувствительности разных культур клеток и методов оценки цитотоксичности при анализе материала для создания протезов для сердечно-сосудистой системы на примере консервированного ксеноперикарда.
<b>Материалы и методы</b>	Эксперимент проведен на трех культурах клеток: фибробласты, HUVES, Ea.hu926, с использованием специфичной для каждой культуры питательной среды. В качестве объекта с цитотоксическим действием использовали образцы ксеноперикарда, хранящиеся в растворе парабенатов. Анализировали реакцию клеток в прямом и непрямом контакте с образцами ксеноперикарда, а также в присутствии его экстракта. Проводили МТТ-тест, исследование динамики роста клеток с помощью клеточного анализатора xCelligence, оценку пролиферативной активности клеток с помощью коммерческого набора Click-IT.
<b>Результаты</b>	По результатам проведенного МТТ-теста во всех случаях присутствие в культуральной среде экстракта ксеноперикарда приводило к выраженному снижению жизнеспособности клеток и плотности популяции. Согласно оценке динамики роста, в группах с образцами перикарда отмечали полную гибель клеток. Добавление экстракта консервированного ксеноперикарда не оказало заметного влияния на изменение клеточного индекса роста культуры фибробластов, однако в присутствии образцов ксеноперикарда происходило его выраженное снижение. В культуре HUVES добавление как экстракта, так и образцов ксеноперикарда в короткие сроки вызывало гибель значительной части клеток. В культуре Ea.hu926 отмечалось снижение темпов пролиферации, однако в течение всего эксперимента продолжалась положительная динамика роста культуры клеток. В присутствии экстракта отмечали отсутствие пролиферирующих клеток в культуре фибробластов, уменьшение их количества в культуре Ea.hu926.
<b>Заключение</b>	Условия проведения эксперимента, тестовая культура и методы оценки должны подбираться индивидуально исходя из особенностей тестируемого материала. Для получения достоверных результатов необходимо использование нескольких принципиально разных методов исследования для более полной характеристики действия цитотоксических агентов на культуру клеток.
<b>Ключевые слова</b>	Цитотоксичность • Эндотелиальные клетки • Фибробласты • Жизнеспособность • Пролиферация • xCelligence.

Поступила в редакцию: 29.05.2025; поступила после доработки: 17.06.2025; принята к печати: 04.07.2025

Для корреспонденции: Лариса Валерьевна Антонова, antonova.la@mail.ru; адрес: бульвар им. академика Л.С. Барбараша, стр. 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Corresponding author: Larisa V Antonova, antonova.la@mail.ru; address: 6, academician Barbarash blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

## SENSITIVITY OF VARIOUS METHODS FOR ASSESSING THE CYTOTOXICITY OF MEDICAL DEVICES

L.V. Antonova, V.G. Matveeva, E.A. Torgunakova, M.Yu. Khanova, M.S. Kolomeets,  
E.A. Senokosova

Federal State Budgetary Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases", 6, academician Barbarash blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

### Highlights

- There is no universal method for assessing the cytotoxicity of a material. A valid result can be obtained using several fundamentally different research methods. It is also necessary to take into account the features of the tested material.

### Background

Despite the prevalence and frequency of use, the issues of standardization of methods for determining the cytotoxicity of materials for medical devices remain unresolved. The wide variability of approaches to assessing cytotoxicity *in vitro* requires the researcher to carefully plan the test according to characteristics of the object being studied.

### Aim

To conduct a comparative analysis of the sensitivity of different cell cultures and methods for assessing cytotoxicity materials for creating cardiovascular prostheses using preserved xenopericardium as an example.

### Methods

The experiment was carried out on three cell cultures: fibroblasts, HUVEC, Ea.hy926, with the specific culture medium for each case. We used xenopericardium samples stored in a paraben solution as an object with a cytotoxic effect. We analyzed reaction of cells in direct and indirect contact with xenopericardium samples, as well as in the presence of its extract. An MTT test was carried out, cell growth dynamics were studied using the xCelligence cell analyzer and cell proliferative activity was assessed using a commercial Click-IT kit.

### Results

According to the results of the MTT test, in all cases the presence of xenopericardium extract in the culture medium led to a pronounced decrease in cell viability and population density. According to the assessment of growth dynamics, in groups with pericardial samples, complete cell death was noted. The addition of preserved xenopericardium extract did not have a noticeable effect on the change in the cellular growth index of the fibroblast culture, however, in the presence of xenopericardium samples, there was a pronounced decrease in it. In HUVEC culture, the addition of both the extract and xenopericardium samples caused the death of a significant portion of the cells in a short time. In the Ea.hy926 culture, a decrease in the rate of proliferation was observed, but throughout the experiment the positive dynamics of cell culture growth continued. In the presence of the extract, the absence of proliferating cells in the fibroblast culture and a decrease in their number in the Ea.hy926 culture were noted.

### Conclusion

Experimental conditions, test culture and evaluation methods must be selected individually based on the characteristics of the material being tested. To obtain reliable results, it is necessary to use several fundamentally different research methods to more fully characterize the effect of cytotoxic agents on cell culture.

### Keywords

Cytotoxicity • Endothelial cells • Fibroblasts • MTT • Viability • Proliferation • xCelligence

Received: 29.05.2025; received in revised form: 17.06.2025; accepted: 04.07.2025

### Введение

В настоящее время оценка цитотоксичности является неотъемлемой частью процесса разработки лекарственных средств и медицинских изделий. Гост ISO 10993-5 включает проведение тестов на цитотоксичность *in vitro* в число обязательных при оценке биосовместимости медицинских изделий [1].

Однако, несмотря на широкую распространенность и частоту применения, вопросы стандартизации этого теста остаются нерешенными. Это связано с широким спектром методов, которые используются для определения цитотоксичности, а также большим числом вариантов их проведения и интерпретации результатов, разнообразием медицин-

ских изделий и сложностью взаимодействия между медицинским изделием и живым организмом. Существующие нормативные документы – стандарты ISO – регламентирующие проведение, в том числе, испытаний на цитотоксичность *in vitro*, оставляют достаточно широкие возможности для вариации протокола исследования [2].

Лекарственные средства, которые возможно добавлять в культуральную среду и исследовать дозозависимую реакцию клеток, представляют собой относительно простой объект при исследовании цитотоксичности. Изучение биосовместимости материалов, используемых для изготовления медицинских изделий, ставит перед исследователем более сложную задачу еще на этапе планирования эксперимента. По данным Международной ассоциации по стандартизации, предполагается три варианта тестирования на цитотоксичность на основании типа контакта исследуемого материала с клетками: испытания с экстрактом, прямым контактом и непрямом контактом [1]. В зависимости от особенностей исследуемого материала, эти тесты могут давать противоречивые результаты. Так, в исследовании D. Bellucci с соавт. [3] было показано расхождение результатов, полученных при анализе биостекла и композитов на его основе в условиях культивирования клеток непосредственно на поверхности материала и в присутствии его экстракта.

Помимо этого, исследователи используют широкий арсенал методов оценки цитотоксичности, которые, в зависимости от принципа проведения реакции, можно объединить в несколько групп:

- Исследование на основе метаболической активности клеток: МТТ, поглощение лактатдегидрогеназы, и т.п.
- Исследование на основе избирательного поглощения реагентов (этидиум бромид, трипановый синий)
- Исследование на основе плотности клеток
- Исследование клеточного импеданса
- Исследование пролиферативной активности клеток.

Поскольку каждый из вышеприведенных методов направлен, по сути, на оценку одного, реже нескольких, определенных аспектов жизнедеятельности клетки, таких как пролиферативный процесс, проницаемость цитоплазматической мембраны, избирательное преобразование реагента в ходе метаболизма и т. п., очевидно, что методы могут обладать разным уровнем чувствительности к действию цитотоксического агента [4].

Также значительный вклад в результаты анализа вносит выбор клеточной культуры для проведения тестирования. Так, в исследовании Diemer et al [5] показано, что при тестировании дентологического цемента на разных линиях клеток

– эндотелиальные, эпидермальные, остеобластные – были получены противоречивые данные о цитотоксичности данных материалов. В целом, логичным представляется использование клеток того типа, который будет в дальнейшем преимущественно контактировать в организме с исследуемым материалом. Тем не менее, при оценке цитотоксичности материалов, предназначенных для разработки сосудистых протезов, исследователи используют широкий спектр клеточных линий. Чаще всего используют культуру эндотелиальных клеток пупочной вены человека (HUVEC) [6 – 8] и другие линии эндотелиальных клеток, такие как иммортализованные эндотелиальные клетки мыши (SVEC4-10, CRL-2181) [9], колониеформирующие клетки человека [10], эндотелиальные клетки подвздошной артерии свиньи (PIECs) [11], но также встречаются работы, проведенные на других типах клеток, как например линия клеток почки африканской зеленой марьшички Vero (IBRC C10003) [12], Т-лимфоциты [13], эмбриональные фибробласты мыши [14].

Исходя из вышесказанного, широкая вариативность подходов к оценке цитотоксичности *in vitro* и отсутствие стандартизации в данном вопросе требуют от исследователя тщательного планирования испытания с учетом особенностей исследуемого объекта.

**Цель нашей работы** – провести сравнительный анализ чувствительности разных культур клеток и методов оценки цитотоксичности при анализе материала для создания протезов для сердечно-сосудистой системы на примере консервированного ксеноперикарда.

### Материалы и методы

Дизайн исследования был одобрен локальным этическим комитетом Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (протокол №4/1 от 18.04.2022). Все пациенты подписали протокол информированного согласия на участие в исследовании.

Для проведения эксперимента были выбраны три культуры клеток.

Культура фибробластов была получена на базе ОЭМ НИИ КППСЗ из образцов кожи доноров методом миграции. Фибробласты культивировали в стандартной питательной среде DMEM (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, США) с добавлением NEPEs, глутамина, пенициллина, стрептомицина, амфотерицина и 10% фетальной бычьей сыворотки. Для проведения эксперимента использовали клетки 7 пассажа.

Иммортализованная линия эндотелиальных клеток Ea.hy926. Клетки культивировали в среде DME/F12 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, США) с добавлением НАТ, глутамина, пеницил-

лина, стрептомицина, амфотерицина и 10% фетальной бычьей сыворотки.

Культура эндотелиальных клеток пупочной вены человека (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC) была получена на базе нашей лаборатории. Клетки из пупочной вены человека выделяли согласно адаптированному протоколу Jaffe с соавторами [15]. Клетки культивировали в среде MCDB 131 с добавлением специализированной питательной добавки для эндотелиальных клеток (Microvascular Growth Supplement). Для проведения эксперимента использовали клетки 8 пассажа.

Все культуральные работы проводили в условиях стерильного ламинара. Клетки культивировали в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 37 °C и 5% CO<sub>2</sub>. Смену среды проводили каждые два дня. Пассаж клеточной культуры проводили по мере достижения субконфлюентного слоя, для открепления клеток от подложки использовали трипсин (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, США).

В качестве образца с заведомо имеющимся цитотоксическим действием использовали образцы ксеноперикарда, хранившиеся в растворе собственной разработки. Данный раствор на основе парабенатов предназначен для длительного хранения биологического материала, в частности биологических протезов, и обладает угнетающим действием в отношении клеток и микроорганизмов, поэтому протокол использования хранящихся в нем изделий предполагает тщательную отмывку от остатков раствора. В нашем исследовании мы намеренно исключили процедуру отмывки, чтобы получить возможность исследовать чувствительность методов к цитотоксическому действию консерванта.

Проводили анализ в прямом контакте с образцами ксеноперикарда, а также в присутствии его экстракта. Для анализа подготавливали образцы ксеноперикарда размером 0,5 × 0,5 см. Для получения экстракта фрагменты перикарда инкубировали в культуральной среде, из расчета 3 см<sup>2</sup> перикарда на 1 мл среды, в течение суток при 37 °C в соответствии с ГОСТ ISO 10993-12-2011.

Анализы МТТ и пролиферативной активности выполнялись в лунках 96-луночного планшета. Клетки расселяли в количестве 10 000 ед/лунку. Объем культуральной среды в лунках составлял 180 мкл. На дно лунок помещали образцы ксеноперикарда размером 0,5 × 0,5 см, затем лунки заселяли клетками (группа «ксеноперикард»), либо в лунки заселяли клетки, затем добавляли экстракт перикарда в объеме 1/3 от объема культуральной среды в лунке (группа «экстракт»), либо в лунки заселяли клетки и культивировали в культуральной среде (группа «контроль»). Клетки инкубировали в течение 3 суток. Затем проводили МТТ-тест (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, США) по методике, предложенной производителем. Считывали опти-

ческую плотность на анализаторе Multiskan Sky при λ570/605 нм. Жизнеспособность клеток вычисляли по формуле:

$$\% \text{ жизнеспособности} = \frac{(\text{ОПопыт} - \text{ОПбланк})}{(\text{ОПконтроль} - \text{ОПбланк})} \times 100\%,$$

где, ОПопыт – оптическая плотность в лунках с экспериментальными образцами, ОПконтроль – оптическая плотность в лунках с контрольными образцами, ОПбланк — оптическая плотность в лунках с чистым ДМСО. Уровень жизнеспособности ниже 70% от контрольного считали проявлением цитотоксического действия исследуемого материала в соответствии с ISO.

Оценку динамики культивирования в реальном времени проводили с помощью системы xCelligence (Alamed, США) в специализированных планшетах. На дно лунок планшетов рассеивали клетки в количестве 10 000/лунку. Затем в лунки помещали специальные вставки, в которых располагали образцы перикарда 0,5 × 0,5 см (группа «ксеноперикард») или вносили экстракт перикарда в объеме 1/3 от объема лунки (группа «экстракт»). Считывание клеточного индекса происходило автоматически в режиме реального времени. Общее время эксперимента составило 3 суток. Анализировали графики динамики роста клеточной культуры на основе результатов измерения клеточного индекса, а также время удвоения клеточной культуры на разных этапах ее роста, которое вычислялось в программе прибора автоматически.

Тест на пролиферацию выполняли набором Click-IT (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, США), в лунки, предназначенные для проведения теста, в конце срока добавляли реагент BTU, инкубировали в течение ночи. Затем проводили окраску по протоколу, предложенному производителем. Ядра клеток контрастировали раствором DAPI (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, США). Окрашенные образцы анализировали с помощью микроскопа ZOE (Bio-Rad, США). Микрофотографии анализировали с помощью программы ImageJ 1.38 software (National Institutes of Health, Bethesda, США). Подсчитывали общее количество ядер клеток и количество ядер пролиферирующих клеток в поле зрения. Анализировали по 10 случайно выбранных полей зрения для каждого образца. Долю пролиферирующих клеток вычисляли как количество пролиферирующих клеток / общее количество клеток × 100%. Плотность клеточной культуры оценивали в абсолютных значениях количества клеток в поле зрения.

Статистический анализ проводили в программе GraphPad Prism (GraphPad Software, США). Данные представляли как медиану, 25 и 75 перцентили (Me (25%; 75%)). Сравнение различий между груп-

пами проводили с помощью критерия Краскела-Уоллиса с поправкой Данна на множественность сравнений.

## Результаты

### MTT-тест

По результатам проведенного MTT-теста во всех группах были получены статистически значимые различия между всеми исследуемыми группами (рис. 1).

Так, во всех случаях присутствие в культуральной среде экстракта ксеноперикарда приводило к выраженному снижению жизнеспособности клеток и плотности популяции, выражавшееся в уменьшении поглощения формазана в ходе проведения теста. В тоже время значения, полученные в группах с образцами перикарда, были экстремально низкими, что позволяет говорить о полной гибели культуры клеток в указанных группах.

### X-Celligence

Анализ изменения клеточного индекса показал, что каждая культура клеток имела свои особенности реакции на присутствие токсичных агентов (рис. 2).

Необходимо отметить, что анализатор xCelligence основывается на изменении импеданса на дне лунок культуральных планшетов. В свою очередь, импеданс изменяется в ответ на адгезию клеток на дне лунки и таким образом косвенно связан с плотностью клеточной популяции. Однако на изменение импеданса оказывают влияние также и другие факторы, такие как морфология и размеры клеток, их пролиферативная активность. Наш опыт использования анализатора показывает, что каждая культура клеток при одинаковых условиях имеет свой особый профиль динамики изменения клеточного индекса. В связи с этим прямое сравнение данных, полученных от разных культур, не представляется достоверным, поэтому анализ проводился отдельно для каждой культуры клеток.

Фибробласты в контрольной группе демонстри-

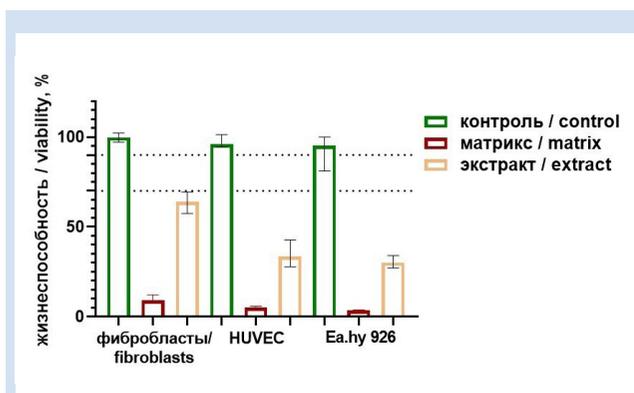


Рисунок 1. Результаты проведения MTT-теста  
Figure 1. Results of the MTT test

ровали типичную кривую роста, характеризующуюся выраженным пиком в фазе активной адгезии и пролиферации, затем наблюдалось некоторое снижение клеточного индекса, которое сменяется новой фазой пролиферации. Добавление экстракта консервированного ксеноперикарда не оказало заметного влияния на динамику роста культуры фибробластов. При культивировании фибробластов в присутствии образцов ксеноперикарда клетки повторяли пик клеточного индекса в первой фазе роста, однако затем происходило выраженное снижение клеточного индекса и его стабилизация.

Для культуры HUVEC характерен выраженный эффект контактного торможения при достижении определенной плотности культуры. Поэтому в контрольной группе отмечался крайне слабо выраженный пик пролиферативной активности и быстрый выход на плато. При дальнейшем культивировании мы наблюдали снижение клеточного индекса. Добавление, как экстракта, так и образцов ксеноперикарда в короткие сроки вызывало значительное снижение клеточного индекса до практически полной гибели клеточной культуры.

Гибридная культура Ea.hy926 характеризуется крайне высокой пролиферативной активностью и отсутствием эффекта контактного торможения. Поэтому при ее использовании в анализе на xCelligence обычно наблюдается, как и в этом случае в контрольной группе, неограниченный рост клеточной культуры без выхода на плато. При добавлении экстракта и образцов перикарда отмечалось снижение темпов пролиферации, однако в

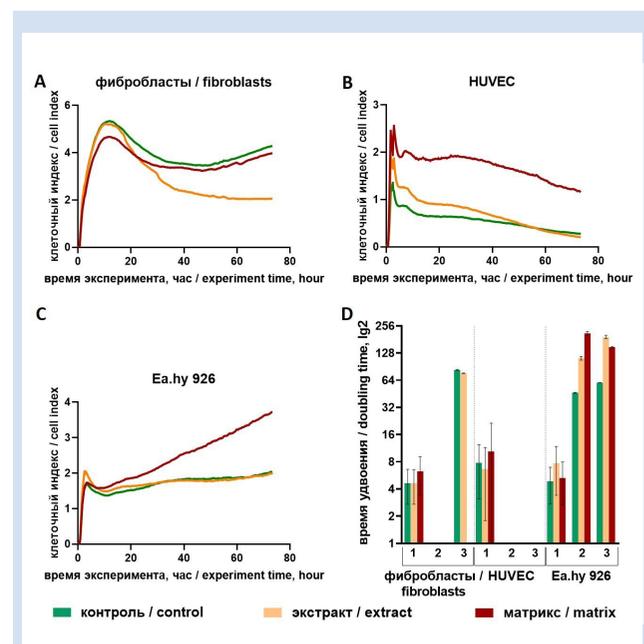


Рисунок 2. Результаты проведения анализа динамики изменения клеточного индекса. А–С – графики динамики роста клеточных культур; D – время удвоения, цифрами по оси x отмечены сутки наблюдения

Figure 2. Analysis of the dynamics of changes of the cellular index. A–C – growth dynamics of the cell cultures; D – doubling time, the numbers on the x-axis indicate the day of observation

этих группах в течение всего эксперимента продолжалась положительная динамика роста культуры клеток.

Полученные тенденции в графиках динамики роста культур клеток подтверждаются при анализе времени удвоения культуры (рис. 2D). Чем выше данный показатель, тем ниже пролиферативная активность клеток и, таким образом, тем сильнее выражен цитотоксический эффект. Было показано, что в первые сутки культивирования присутствие токсических агентов не оказывало выраженного влияния на скорость пролиферации ни одной из культур клеток. При этом, после двух суток культивирования отмечалось резкое снижение пролиферативной активности клеток, выражавшееся в увеличении времени удвоения клеточной культуры (Ea.hy926), вплоть до невозможности его определения (HUVEC, фибробласты).

На третьи сутки отмечали увеличение пролиферативной активности по отношению ко вторым суткам культивирования для культуры фибробластов в группах контроля и экстракта. В культуре HUVEC также наблюдали отрицательную динамику культуры во всех группах. Для Ea.hy926 показатели в целом были аналогичны полученным на 2 сутки культивирования.

#### Оценка пролиферативной активности клеток

Было показано, что выраженность влияния ксеноперикарда на пролиферативную активность клеток значительно отличалась для разных типов клеток (рис. 3).

Как и в случае со всеми остальными контактными методами, мы не обнаружили на ксеноперикарде адгезированных клеток.

В присутствии экстракта только в культуре Ea.hy926 мы обнаружили значимое снижение плотности клеточной популяции ( $p < 0,001$ ). В остальных культурах добавление экстракта не повлияло на количество клеток.

Тем не менее, в культуре фибробластов экстракт вызвал практически полную остановку пролиферативной активности клеток. В группе HUVEC мы не

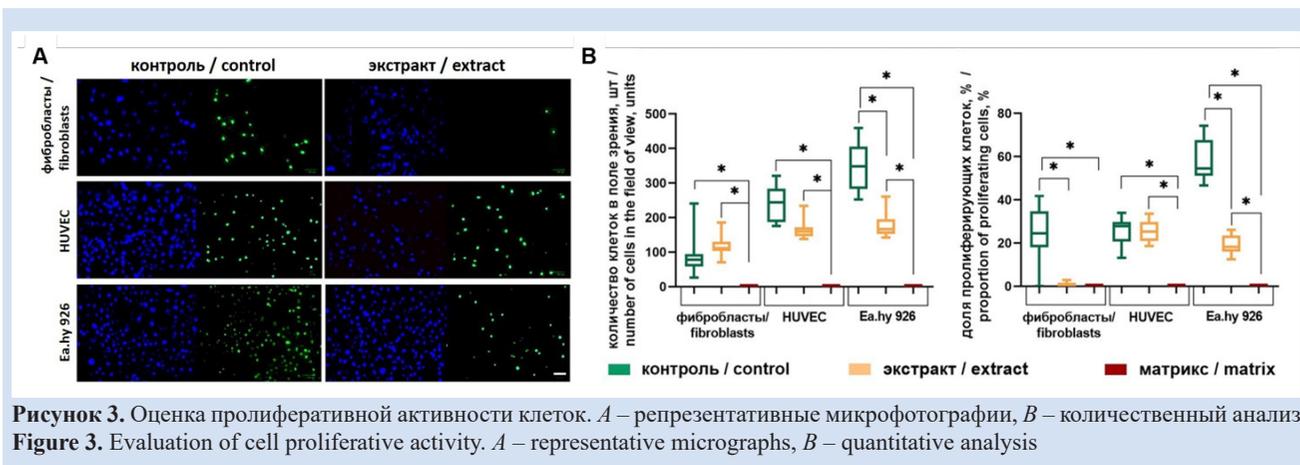
наблюдали изменения уровня пролиферативной активности при культивировании в присутствии экстракта. И наконец, в культуре Ea.hy926 отмечали значительное уменьшение доли пролиферирующих клеток ( $p < 0,01$ ).

#### Обсуждение

Оптимизация протокола исследования и выбор клеточной культуры для проведения теста остаются актуальным вопросом для исследователя. Это связано с отсутствием стандартизации в этом вопросе, а также большим количеством факторов, которые влияют на получение результата и могут вносить погрешность в исследование.

Для того, чтобы в рамках эксперимента максимально уменьшить влияние этих факторов, необходимо стандартизировать воздействие на клетки. В нашем эксперименте для моделирования цитотоксического воздействия мы использовали ксеноперикард, хранившийся в консервирующем растворе собственной разработки. Во всем эксперименте использовались образцы, выкроенные из одного лоскута консервированного перикарда (в тестах экстракта – пробы из одной пробирки); по мнению исследователей, данные меры должны свести к минимуму вариабельность тестируемых образцов. Таким образом, в данном исследовании образцы консервированного перикарда с заведомо имеющимся цитотоксическим действием мы использовали как модель для изучения чувствительности методов оценки реакции клеток. Стоит отметить, что в хирургической практике лоскуты из ксеноперикарда для артериальной реконструкции подлежат обязательной отмывке по инструкции производителя от раствора для хранения, которая обеспечивает безопасность использования данного рода биоматериалов.

Мы проводили сравнительный анализ чувствительности методов тестирования, а также различных клеточных линий, основываясь на тех подходах, которые мы используем при разработке тканеинженерных сосудистых конструктов. Поскольку наши исследования связаны с медицинскими из-



делями для сердечно-сосудистой системы (заплаты, сосудистые протезы), в данной работе в качестве первичной культуры эндотелиальных клеток была использована культура HUVEC. Также для анализа мы использовали культуру Ea.hy926 – это гибридная культура эндотелиальных клеток. Культура сохраняет все основные характеристики эндотелиальных клеток, тем не менее, поскольку это иммортализованная культура, есть мнение, что она будет менее чувствительна к действию цитотоксических агентов и таким образом менее пригодна для проведения тестирования. Также использовали культуру человеческих фибробластов, которая не специфична для испытаний сосудистых протезов, но часто бывает задействована в тестах на цитотоксичность.

В ходе исследования было обнаружено, что нет возможности выбрать среди этих культур клеток одну максимально или минимально подходящую, так как результаты были более или менее наглядными для каждой культуры, в зависимости от выбранного метода исследования. Для получения достоверных результатов важно не только наличие реакции клеток на токсичный агент, но и ее выраженность, чтобы полученные результаты были по возможности наиболее показательными. Несмотря на то, что для каждой культуры была отмечена в той или иной степени выраженная реакция на цитотоксический объект, в каждом случае выявлены некоторые особенности, которые могут повлиять на трактовку результатов.

Так, фибробласты в испытании на xCelligence проявили меньшую чувствительность, что может быть критичным в случае с менее токсичным объектом. HUVEC в целом были более чувствительны, несмотря на то, что не проявили изменения пролиферативной активности, однако эта культура чувствительна к условиям культивирования, плохо переносит длительное отсутствие смены среды и пассирования клеток, как в нашем исследовании – до 3 суток. Снижение жизнеспособности этой культуры даже в отсутствие токсических агентов в конце срока эксперимента можно было наблюдать при изучении динамики роста (рис. 3). В том случае, когда исследуется только конечная точка эксперимента – в нашем случае МТТ и тест на пролиферацию – этот фактор вносит определенную погрешность в интерпретацию результатов. Наконец, культура Ea.hy926 продемонстрировала хорошую чувствительность к цитотоксическому воздействию во всех методах исследования. Тем не менее, эта культура обладает крайне высоким пролиферативным потенциалом, а по некоторым данным, этот факт является препятствием для получения достоверных результатов при проведении некоторых тестов, как например оценка плотности клеточной популяции или МТТ, эффективность проведения которого

тесно связано в том числе с количеством клеток в анализе [16]. Можно предположить, что это также верно в отношении всех иммортализованных линий клеток.

Стандартом ISO предполагается проведение тестирования в прямом контакте с материалом и/или его экстрактом. В нашем исследовании мы реализовали оба подхода; кроме того, испытания на аппарате xCelligence позволили анализировать также непрямой контакт с материалом. По полученным результатам можно сказать, что, независимо от метода исследования, не было обнаружено клеток на поверхности исследуемого перикарда. Тем не менее, по мнению авторов исследования, это не может быть основанием для заключения о цитотоксичности материала. Для удержания клеток на поверхности материал должен обладать определенными характеристиками, сайтами адгезии [17]. Таким образом очевидно, что их отсутствие характеризует биосовместимость материала, но не его цитотоксичность. При разработке сосудистых протезов адгезия клеток на поверхности материала необходима для их успешной эндотелизации, однако для других материалов – например, противоспаечных мембран – способность поддержания жизнеспособности клеток не является обязательной характеристикой. Таким образом, ограничение тестов на цитотоксичность исключительно прямым контактом может приводить к недостоверным результатам. Поэтому, не уменьшая значимости данных, полученных в данной работе в тестах с прямым контактом с материалом, в дальнейшем обсуждении для анализа чувствительности методом, будут рассматриваться только результаты, полученные с экстрактом.

В отношении методов исследования можно заключить, что ни один из методов, использованных в нашей работе, нельзя признать ни полностью неприемлимым, ни абсолютно показательным и самодостаточным. МТТ, основанный на метаболическом преобразовании формазана, является одним из наиболее широко используемых методов анализа цитотоксичности [18]. Наряду с этим, существует также много критики в отношении этого метода, связанных с его чувствительностью к условиям проведения эксперимента (количество клеток, время инкубации с реагентом и т.п.), а также с неоднозначностью трактовки результатов. Так как, очевидно, уровень накопления формазана в культуре отражает одновременно количество жизнеспособных клеток и уровень метаболической активности клеток, разделить эти показатели невозможно [19]. Тем не менее, в нашей работе во всех культурах были получены убедительные данные о цитотоксичности материала.

Исследование плотности клеточной культуры, по-видимому, является наименее показательным среди всех методов, использованных в данной ра-

боте. Только на Ea.hu926 были получены данные о цитотоксичности экстракта ксеноперикарда. Также противоречивы были результаты, полученные при анализе пролиферативной активности. Так, никакого влияния экстракта не было обнаружено на культуре HUVEC.

Исследование динамики изменения клеточного индекса на аппарате xCelligence обладает весомым преимуществом в том, что позволяет получать профиль изменения клеточной культуры за весь период проведения эксперимента, а не в контрольные точки. Это дает возможность оценивать и выраженность ответа на действие цитотоксического агента, и скорость его воздействия. Недостатком этого метода, помимо дорогостоящих расходных материалов, можно признать сложность проведения статистического анализа – перевод данных, которые можно получить с помощью этого анализатора, в числовой формат, будь то клеточный индекс в контрольных точках или время удвоения культуры – сопровождается значительной погрешностью и затрудняет объективный анализ.

## Заключение

По результатам проведенного исследования можно сделать вывод, что не существует универсального метода оценки цитотоксичности материала. Условия проведения эксперимента, тестовая культура и методы оценки должны подбираться ин-

дивидуально исходя их особенностей тестируемого материала. Для получения достоверных результатов необходимо использование нескольких принципиально разных методов исследования для более полной характеристики действия цитотоксических агентов на культуру клеток.

## Конфликт интересов

Л.В. Антонова входит в редакционную коллегию журнала «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний». В.Г. Матвеева заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.А. Торгунакова заявляет об отсутствии конфликта интересов. М.Ю. Ханова заявляет об отсутствии конфликта интересов. М.С. Коломеец заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.А. Сенокосова заявляет об отсутствии конфликта интересов.

## Финансирование

Исследование выполнено в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0419-2022-0001 «Молекулярные, клеточные и биомеханические механизмы патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний в разработке новых методов лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы на основе персонифицированной фармакотерапии, внедрения малоинвазивных медицинских изделий, биоматериалов и тканеинженерных имплантатов».

## Информация об авторах

*Антонова Лариса Валерьевна*, доктор медицинских наук ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-8874-0788

*Матвеева Вера Геннадьевна*, кандидат медицинских наук старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4146-3373

*Торгунакова Евгения Александровна*, младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0009-0005-0683-991X

*Ханова Марьям Юрисовна*, кандидат биологических наук научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-8826-9244

## Author Information Form

*Antonova Larisa V.*, PhD, Leading Researcher, Laboratory of Cell Technologies, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-8874-0788

*Matveeva Vera G.*, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Cell Technologies, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4146-3373

*Torgunakova Evgenia A.*, Junior Researcher, Laboratory of Cell Technologies, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0009-0005-0683-991X

*Khanova Maryam Yu.*, PhD, Researcher, Laboratory of Cell Technologies, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-8826-9244

*Коломеец Марина Сергеевна*, младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0009-0003-9323-8893

*Сенокосова Евгения Андреевна*, кандидат биологических наук заведующий лабораторией клеточных технологий отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-9430-937X

*Онищенко Павел Сергеевич*, младший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-2404-2873

*Барбараш Ольга Леонидовна*, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор директор федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4642-3610

*Kolomeets Marina S.*, Junior Researcher, Laboratory of Cell Technologies, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0009-0003-9323-8893

*Senokosova Evgenia A.*, PhD, Head of the Laboratory of Cell Technologies, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-9430-937X

*Onishchenko Pavel S.*, Junior researcher at the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute for Complex Problems of Cardiovascular Diseases», Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-2404-2873

*Barbarash Olga L.*, PhD, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of the Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4642-3610

#### Вклад авторов в статью

*АЛВ* – вклад в концепцию и дизайн исследования, анализ данных исследования, написание и корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

*МВГ* – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

*ТЕА* – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

*ХМЮ* – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

*КМС* – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

*СЕА* – вклад в концепцию и дизайн исследования, анализ данных исследования, написание и корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

*ОПС* – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

*АТН* – вклад в концепцию и дизайн исследования, получение и интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

*БОЛ* – вклад в концепцию и дизайн исследования, анализ данных исследования, написание и корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

#### Author Contribution Statement

*ALV* – contribution to the concept and design of the study, data analysis, manuscript writing, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

*MVG* – contribution to the concept and design of the study, data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

*TEA* – contribution to the concept and design of the study, data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

*KhMYu* – contribution to the concept and design of the study, data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

*KMS* – contribution to the concept and design of the study, data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

*SEA* – contribution to the concept and design of the study, data analysis, manuscript writing, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

*OPS* – contribution to the concept and design of the study, data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

*ATN* – contribution to the concept and design of the study, data collection and interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

*BOL* – contribution to the concept and design of the study, data analysis, manuscript writing, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ГОСТ ISO 10993-5-2011. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 5. Исследования на цитотоксичность: методы *in vitro*. - Введ. 2013.01.01 – М.: Стандарт информ, 2014. – 10 с. – (Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу).
2. Gruber S., Nickel A. Toxic or not toxic? The specifications of the standard ISO 10993-5 are not explicit enough to yield comparable results in the cytotoxicity assessment of an identical medical device. *Front. Med. Technol.* 2023;5:1195529. <https://doi.org/10.3389/fmedt.2023.1195529>.
3. Bellucci D., Salvatori R., Anesi A., Chiarini L., Cannillo V. SBF assays, direct and indirect cell culture tests to evaluate the biological performance of bioglasses and bioglass-based composites: Three paradigmatic cases. *Materials Science and Engineering: C.* 2019;96:757-764. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.12.006>.
4. Braun K., Stürzel C.M., Biskupek J., Kaiser U., Kirchhoff F., Lindén M. Comparison of different cytotoxicity assays for *in vitro* evaluation of mesoporous silica nanoparticles. *Toxicology in Vitro.* 2018;52:214-221. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2018.06.019>.
5. Diemer F., Stark H., Helfgen E.H., Enkling N., Probstmeier R., Winter J., Kraus D. *In vitro* cytotoxicity of different dental resin-cements on human cell lines. *J Mater Sci Mater Med.* 2021;32(1):4. <https://doi.org/10.1007/s10856-020-06471-w>.
6. Wang Y., Ma B., Yin A., Zhang B., Luo R., Pan J., Wang Y. Polycaprolactone vascular graft with epigallocatechin gallate embedded sandwiched layer-by-layer functionalization for enhanced antithrombogenicity and anti-inflammation. *J Control Release.* 2020;320:226-238. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.01.043>.
7. Zhou J., Wang M., Wei T., Bai L., Zhao J., Wang K., Feng Y. Endothelial cell-mediated gene delivery for *in situ* accelerated endothelialization of a vascular graft. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2021;13(14):16097-16105. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c01869>.
8. Kabirian F., Brouki Milan P., Zamanian A., Heying R., Mozafari M. Nitric oxide-releasing vascular grafts: A therapeutic strategy to promote angiogenic activity and endothelium regeneration. *Acta Biomater.* 2019;92:82-91. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.05.002>.
9. Lee S.J., Kim M.E., Nah H., Seok J.M., Jeong M.H., Park K., Kwon I.K., Lee J.S., Park S.A. Vascular endothelial growth factor immobilized on mussel-inspired three-dimensional bilayered scaffold for artificial vascular graft application: *In vitro* and *in vivo* evaluations. *J Colloid Interface Sci.* 2019;537:333-344. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.11.039>.
10. Daum R., Visser D., Wild C., Kutuzova L., Schneider M., Lorenz G., et al. Fibronectin adsorption on electrospun synthetic vascular grafts attracts endothelial progenitor cells and promotes endothelialization in dynamic *in vitro* culture. *Cells.* 2020;9(3):778. <https://doi.org/10.3390/cells9030778>.
11. Guan G., Yu C., Xing M., Wu Y., Hu X., Wang H., Wang L. Hydrogel small-diameter vascular graft reinforced with a braided fiber strut with improved mechanical properties. *Polymers.* 2019;11:810. <https://doi.org/10.3390/polym11050810>.
12. Jirofti N., Mohebbi-Kalhor D., Samimi A., Hadjizadeh A., Kazemzadeh G.H. Small-diameter vascular graft using co-electrospun composite PCL/PU nanofibers. *Biomed Mater.* 2018;13(5):055014. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/aa4b5>.
13. Fiqrianti I.A., Widiyanti P., Manaf M.A., Savira C.Y., Cahyani N.R., Bella F.R. Poly-L-lactic Acid (PLLA)-chitosan-collagen electrospun tube for vascular graft Application. *J Funct Biomater.* 2018;9(2):32. <https://doi.org/10.3390/jfb9020032>.
14. Rosellini E., Barbani N., Lazzeri L., Cascone M.G. Biomimetic and bioactive small diameter tubular scaffolds for vascular tissue engineering. *Biomimetics (Basel).* 2022;7(4):199. <https://doi.org/10.3390/biomimetics7040199>.
15. Jaffe E.A., Nachman R.L., Becker C.G., Minick C.R. Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins. Identification by morphologic and immunologic criteria. *Clin Invest.* 1973; 52: 2745–2756. <https://doi.org/10.1172/JCI107470>.
16. Ghasemi M., Turnbull T., Sebastian S., Kempson I. The MTT Assay: utility, limitations, pitfalls, and interpretation in bulk and single-cell analysis. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22:12827. <https://doi.org/10.3390/ijms222312827>.
17. Великанова Е.А., Матвеева В.Г., Ханова М.Ю., Антонова Л.В. Влияние напряжения сдвига на свойства колониформирующих эндотелиальных клеток в сравнении с эндотелиальными клетками коронарных артерий. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2022; 11(4):90-97. <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2022-11-4-90-97>.
18. Li W., Zhou J., Xu Y. Study of the *in vitro* cytotoxicity testing of medical devices. *Biomed Rep.* 2015;3(5):617-620. <https://doi.org/10.3892/br.2015.481>.

## REFERENCES

1. GOST ISO 10993-5-2011. Medical products. Assessment of the biological effect of medical products. Part 5. Cytotoxicity studies: *in vitro* methods. - Introduction. 2013.01.01 – Moscow: Standard inform, 2014. – 10 p. – (System of standards for information, librarianship and publishing).
2. Gruber S., Nickel A. Toxic or not toxic? The specifications of the standard ISO 10993-5 are not explicit enough to yield comparable results in the cytotoxicity assessment of an identical medical device. *Front. Med. Technol.* 2023;5:1195529. <https://doi.org/10.3389/fmedt.2023.1195529>.
3. Bellucci D., Salvatori R., Anesi A., Chiarini L., Cannillo V. SBF assays, direct and indirect cell culture tests to evaluate the biological performance of bioglasses and bioglass-based composites: Three paradigmatic cases. *Materials Science and Engineering: C.* 2019;96:757-764. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.12.006>.
4. Braun K., Stürzel C.M., Biskupek J., Kaiser U., Kirchhoff F., Lindén M. Comparison of different cytotoxicity assays for *in vitro* evaluation of mesoporous silica nanoparticles. *Toxicology in Vitro.* 2018;52:214-221. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2018.06.019>.
5. Diemer F., Stark H., Helfgen E.H., Enkling N., Probstmeier R., Winter J., Kraus D. *In vitro* cytotoxicity of different dental resin-cements on human cell lines. *J Mater Sci Mater Med.* 2021;32(1):4. <https://doi.org/10.1007/s10856-020-06471-w>.
6. Wang Y., Ma B., Yin A., Zhang B., Luo R., Pan J., Wang Y. Polycaprolactone vascular graft with epigallocatechin gallate embedded sandwiched layer-by-layer functionalization for enhanced antithrombogenicity and anti-inflammation. *J Control Release.* 2020;320:226-238. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.01.043>.
7. Zhou J., Wang M., Wei T., Bai L., Zhao J., Wang K., Feng Y. Endothelial cell-mediated gene delivery for *in situ* accelerated endothelialization of a vascular graft. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2021;13(14):16097-16105. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c01869>.

8. Kabirian F., Brouki Milan P., Zamanian A., Heying R., Mozafari M. Nitric oxide-releasing vascular grafts: A therapeutic strategy to promote angiogenic activity and endothelium regeneration. *Acta Biomater.* 2019;92:82-91. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.05.002>.
9. Lee S.J., Kim M.E., Nah H., Seok J.M., Jeong M.H., Park K., Kwon I.K., Lee J.S., Park S.A. Vascular endothelial growth factor immobilized on mussel-inspired three-dimensional bilayered scaffold for artificial vascular graft application: In vitro and in vivo evaluations. *J Colloid Interface Sci.* 2019;537:333-344. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.11.039>.
10. Daum R., Visser D., Wild C., Kutuzova L., Schneider M., Lorenz G., et al. Fibronectin adsorption on electrospun synthetic vascular grafts attracts endothelial progenitor cells and promotes endothelialization in dynamic in vitro culture. *Cells.* 2020;9(3):778. <https://doi.org/10.3390/cells9030778>.
11. Guan G., Yu C., Xing M., Wu Y., Hu X., Wang H., Wang L. Hydrogel small-diameter vascular graft reinforced with a braided fiber strut with improved mechanical properties. *Polymers.* 2019;11:810. <https://doi.org/10.3390/polym11050810>.
12. Jirofti N., Mohebbi-Kalhor D., Samimi A., Hadjizadeh A., Kazemzadeh G.H. Small-diameter vascular graft using co-electrospun composite PCL/PU nanofibers. *Biomed Mater.* 2018;13(5):055014. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/aad4b5>.
13. Fiqrianti I.A., Widiyanti P., Manaf M.A., Savira C.Y., Cahyani N.R., Bella F.R. Poly-L-lactic Acid (PLLA)-chitosan-collagen electrospun tube for vascular graft Application. *J Funct Biomater.* 2018;9(2):32. <https://doi.org/10.3390/jfb9020032>.
14. Rosellini E., Barbani N., Lazzeri L., Cascone M.G. Biomimetic and bioactive small diameter tubular scaffolds for vascular tissue engineering. *Biomimetics (Basel).* 2022;7(4):199. <https://doi.org/10.3390/biomimetics7040199>.
15. Jaffe E.A., Nachman R.L., Becker C.G., Minick C.R. Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins. Identification by morphologic and immunologic criteria. *Clin Invest.* 1973; 52: 2745–2756. <https://doi.org/10.1172/JCI107470>.
16. Ghasemi M., Turnbull T., Sebastian S., Kempson I. The MTT Assay: utility, limitations, pitfalls, and interpretation in bulk and single-cell analysis. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22:12827. <https://doi.org/10.3390/ijms222312827>.
17. Velikanova E.A., Matveeva V.G., Khanova M.Yu., Antonova L.V. Effects of shear stress on the properties of colonyforming endothelial cells in comparison with coronary artery endothelial cells. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2022;11(4):90-97. (In Russ.) <https://doi.org/10.17802/2306-1278-2022-11-4-90-97>.
18. Li W., Zhou J., Xu Y. Study of the in vitro cytotoxicity testing of medical devices. *Biomed Rep.* 2015;3(5):617-620. <https://doi.org/10.3892/br.2015.481>

**Для цитирования:** Антонова Л.В., Матвеева В.Г., Торгунакова Е.А., Ханова М.Ю., Коломеец М.С., Сенюкова Е.А. Чувствительность различных методов оценки цитотоксичности медицинских изделий. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2025;14(4): 91-101. DOI: 10.17802/2306-1278-2025-14-4-91-101

**To cite:** Antonova L.V., Matveeva V.G., Torgunakova E.A., Khanova M.Yu., Kolomeets M.S., Senokosova E.A. Sensitivity of various methods for assessing the cytotoxicity of medical devices. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2025;14(4): 91-101. DOI: 10.17802/2306-1278-2025-14-4-91-101