

Д. В. Кулеш, А. Б. Зленко, І. Б. Демченко, Н. А. Галатенко

Аналіз кваліфікаційних випробувань гідрофільного гелю Aquafilling

(Представлено академіком НАН України Є. В. Лебедевим)

Проведено аналіз санітарно-хімічних та токсикологічних досліджень поліамідного гідрофільного гелю Aquafilling в експерименті. Показано, що досліджуваний гідрогель є безпечним і відповідає вимогам гігієнічних нормативів, доведено його біосумісність та нетоксичність. Для широкого впровадження в медичну практику гідрофільного гелю Aquafilling потрібні його клінічні випробування.

За останнє десятиліття для об'ємної та контурної пластики м'яких тканин запропонований ряд гідрогелевих ін'єкційних матеріалів, перевагою яких є достатня простота та легкість введення, можливість стерилізації радіаційним методом, стабільність при зберіганні, желеподібний стан, величезний вміст води, що забезпечує схожість гелю з живими тканинами тощо.

Одним з таких ін'єкційних матеріалів є гідрофільний гель Aquafilling тривалої дії на основі лінійного поліаміду, запатентований в Україні. Наявність амідних зв'язків у ланцозі полімеру, висока молекулярна маса тривимірної сітки кополімеру, а також велика кількість карбоксильних груп дозволяють утримувати велику кількість водного середовища (до 98%) і характеризують продукт як поліамідний гідрофільний гель з властивостями катіона.

Мета даної роботи — аналіз випробувань поліамідного гідрофільного гелю Aquafilling в експерименті при проведенні комплексу санітарно-хімічних та токсикологічних досліджень.

Санітарно-хімічним і токсикологічним випробуванням підлягають нові полімерні матеріали і виробу на їх основі на етапі створення лабораторних зразків, дослідні зразки виробів та серійні виробу медичного призначення [1].

Санітарно-хімічні дослідження дають можливість з використанням інтегральних та диференціальних методів вивчити хімічні сполуки, що мігрують з медичного виробу до модельних середовищ, та визначити їх сумарну кількість, а також на підставі встановлених граничнодопустимих концентрацій (ГДК) для хімічно небезпечних сполук оцінити якість виробів. Водні витяжки зі зразків досліджуваного гідрогелю готували при співвідношенні маси зразка і об'єму дистильованої води 2 мг : 20 мл при кімнатній температурі, час експозиції становив 1 год. У витяжках визначали загальну кількість мігруючих елементів у модельне середовище відновлювального характеру, величину рН витяжки, яка характеризує їх кислотність та основність, вміст металів [2–5]. Одночасно на спектрофотометрі проводили визначення кількості органічних домішок шляхом вимірювання величини світлопоглинання дослідного розчину в діапазоні λ 220–300 нм.

За результатами санітарно-хімічних досліджень (табл. 1) встановлено, що дослідний гідрогель є безпечним і відповідає вимогам гігієнічних нормативів.

Окрему увагу приділяли токсикологічним дослідженням *in vitro* із застосуванням методу культури тканин. Цей метод є модельною тест-системою в токсикологічному експерименті та дає можливість подолати фізичні, фізіологічні та біохімічні обмеження, притаманні

для живого організму [6]. Як джерело клітин використовували підшкірну клітковину білих лабораторних щурів, що в умовах культивування викликає ріст фібробластичних і фібробластоподібних елементів. Культури були досліджені методом експлантації в згустку плазми у флаконах Карреля [7].

Дослідження росту і розвитку клітинних елементів підшкірної клітковини щурів показало, що міграція фібробластичних елементів як в контрольних, так і в дослідних флаконах відбувалася на 3-тю добу культивування. На 7-му добу активність росту фібробластичних елементів збільшувалася, площі росту були представлені двома зонами: компактною, що складалася з клітин веретеноподібної та полігональної форми, та сіткоподібною, яку формували пучки і тяжі клітин. На 10-ту добу культивування формувалися три зони росту: компактна, сіткоподібна та зона мігруючих клітин. На 14-ту добу дослідження клітинна популяція вступала у фазу дегенерації, що виявлялося в значній вакуолізації цитоплазми клітин та її зернистому переродженні, що характерно для даного терміну розвитку цієї культури. Таким чином, характер росту фібробластичних елементів при внесенні в культуральне середовище гідрогелевих зразків істотно не змінювався від контролю. З огляду на граничні значення показника гістотоксичності (ПГТ $\geq 0,72$), результати дослідження дають змогу дійти висновку про відсутність гістотоксичного впливу зразків гідрогелю на культивовані клітини, а отже, і саму нетоксичність гідрогелю.

Для вивчення взаємодії полімерного імплантату з тканинами організму проводили імплантаційний тест та досліджували механізми адаптивних перебудов, закономірності регенераторного процесу в оточуючих тканинах. Досліди проводили на безпородних білих щурах-самцях масою 150–200 г. Гідрогель вводили шприцом субкутально в область спини та внутрішньом'язово в праву лапу. Тварин виводили з експерименту шляхом передозування ефіром на 7-му, 14-ту та 30-ту добу після операції.

Під час експерименту вивчали поведінкову реакцію тварин, їх зовнішній стан, післяопераційне поле. Ін'єкція досліджуваних зразків гідрогелю не викликала агресії та змін у поведінці експериментальних тварин. При заборі зразків дослідного матеріалу спостерігалися прозорі кульки гідрогелю, не відмічалось розплавлення та розтікання гідрогелю в оточуючих тканинах, за кольором та консистенцією гідрогель не відрізнявся від вихідного, не був спаяним з оточуючими тканинами. За морфологічними ознаками не було виявлено дегенеративних змін, пухлин, некрозу тканин.

Через 7 діб після ін'єкції навколо гідрогелю формувалася тонка сполучнотканинна капсула, що складалася з 4–6 рядів фібробластичних елементів веретеноподібної форми, що лежали в площині пучків зрілих колагенових волокон, направлених вздовж дослідного матеріалу (рис. 1, а). Гідрогель був представлений однорідною гомогенною базофільною ма-

Таблиця 1. Результати санітарно-хімічних досліджень ($n = 3$)

Показники	Гель Aquafilling	Гігієнічні нормативи
Зміна рН	0,1	$\leq 1,0$
Відновлювальні домішки, см ³	0,03	$\leq 1,0$
Вміст металів		
свинець	0,002	$\leq 0,03$
мідь	0,032	$\leq 1,0$
цинк	0,016	$\leq 1,0$
кадмій	0,001	$\leq 0,001$
Органічні домішки, ум. од.	0,27	$\leq 0,3$

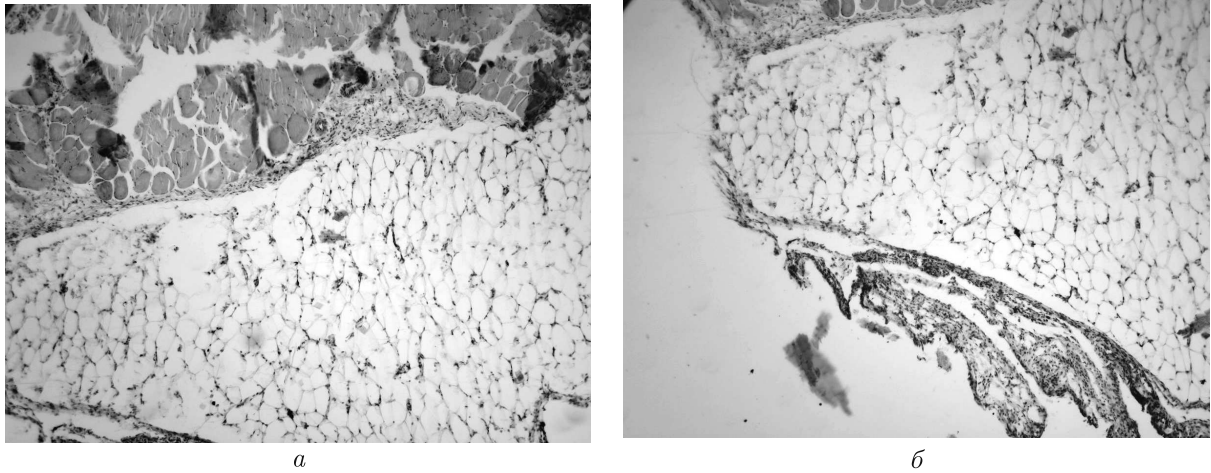


Рис. 1. Формування сполучнотканинної капсули навколо гідрогелю через 7 діб після ін'єкції в м'язову тканину. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 150$. *a* — тонка сполучнотканинна капсула; *б* — незначна круглоклітинна інфільтрація

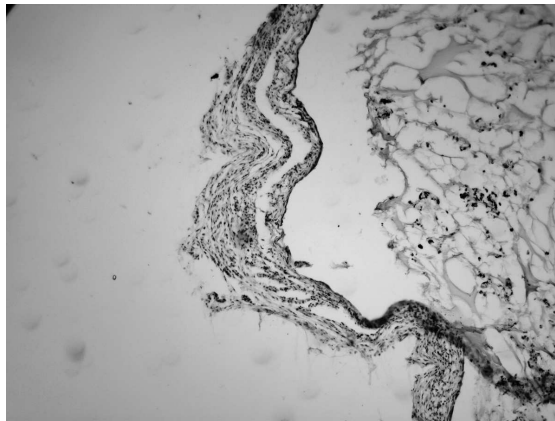


Рис. 2. Гідрогелевий зразок, оточений сполучнотканинною капсулою, через 14 діб після субкутальної ін'єкції в область спини. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 150$

сою. На окремих ділянках спостерігалася незначна круглоклітинна інфільтрація, основними клітинами якої були нейтрофіли, лімфоцити та макрофаги (див. рис. 1, *б*).

Через 14 діб після ін'єкції, товщина сполучнотканинної капсули навколо гідрогелю збільшувалася порівняно з попереднім терміном дослідження. Клітинний склад капсули був представлений круглоклітинними елементами, в основному макрофагами та лімфоцитами. Пучки зрілих колагенових волокон та веретеноподібні фібробласти між ними розташовувалися вздовж досліджуваного зразка. Гідрогель, як і на попередньому терміні дослідження, був представлений однорідною гомогенною базофільною масою (рис. 2).

Через 30 діб після ін'єкції гідрогелю навколо досліджуваного матеріалу виявлялася сполучнотканинна капсула, яка складалася з пучків колагенових волокон, розташованих вздовж зразка гідрогелю, та веретеноподібних фібробластичних елементів (фібробластів та фіброцитів). На цьому фоні характерною була слабковиражена круглоклітинна реакція з перевагою макрофагальних елементів (рис. 3). Місцями в незначній кількості спостерігалися лімфоїдні елементи.

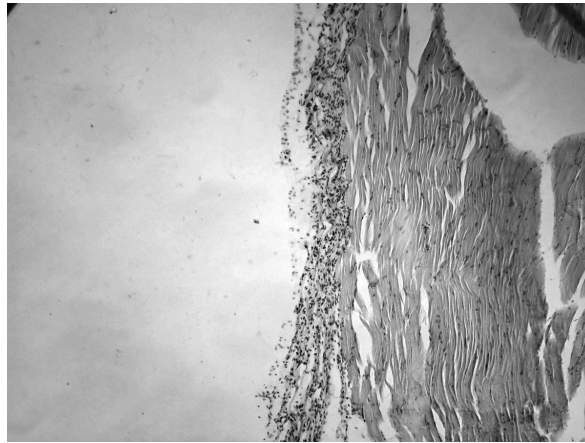


Рис. 3. Слабовиражена круглоклітинна інфільтрація навколо гідрогелю через 30 дів після ін'єкції в м'язову тканину. Забарвлення гематоксилином і еозином. $\times 150$

Таким чином, ін'єкція гідрофільного гелю Aquafilling приводила до сприятливого перебігу післяопераційного періоду та характеризувалася відсутністю запальних проявів, мінімальною травматизацією оточуючих тканин, не порушувала мікроциркуляторних процесів у місці введення. Навколо досліджуваних зразків на різних термінах дослідження спостерігався слабовиражений продуктивний процес, відбувалося формування досить тонкої сполучнотканинної капсули. Проведені токсикологічні та медико-біологічні випробування дозволили зробити висновок, що досліджуваний гідрогель є біосумісним та нетоксичним матеріалом. Для широкого впровадження в медичну практику гідрофільного гелю Aquafilling потрібні його клінічні випробування.

1. Лебедев С. В., Константинов Ю. Б., Галатенко Н. А. та ін. Токсиколого-гігієнічні та доклінічні дослідження полімерних матеріалів і виробів на їх основі медичного призначення: Метод. вказівки. – Київ, Наук. думка, 2009. – 98 с.
2. ДСТУ ISO 10993-1:2004. Біологічне оцінювання медичних виробів. Ч. 1. Оцінювання та випробування. – Введ. 01.01.2006.
3. ДСТУ ISO 10993-10:2004. Біологічне оцінювання медичних виробів. Ч. 10. Випробування на подразнення та сенсibiliзацію. – Введ. 01.01.2006.
4. Сборник руководящих методических материалов по токсиколого-гигиеническим исследованиям полимерных материалов и изделий на их основе медицинского назначения. – Москва: МЗ СССР, 1987. – 85 с.
5. СанПиН 42-123-4240-86. Допустимые количества миграции (ДКМ) химических веществ, выделяющихся из полимерных и других материалов, контактирующих с пищевыми продуктами, и методы их определения. – Введ. 31.12.1986.
6. Яценко В. П., Галатенко Н. А., Пхакадзе Г. А. Метод кількісного дослідження росту фібробластичних клітин у культурі тканини // Цитологія і генетика. – 1984. – № 4. – С. 280–284.
7. Галатенко Н. А., Яценко В. П., Пхакадзе Г. А. Определение гистотоксичности полимеров медицинского назначения с использованием тканевой культуры // Докл. АН УССР. – 1982. – № 9. – С. 54–58.

Д. В. Кулеш, А. Б. Зленко, И. Б. Демченко, Н. А. Галатенко

Анализ квалификационных испытаний гидрофильного геля Aquafilling

Проведен анализ санитарно-химических и токсикологических исследований полиамидного гидрофильного геля Aquafilling в эксперименте. Показано, что исследуемый гидрогель является безопасным и отвечает требованиям гигиенических нормативов, доказана его биосовместимость и нетоксичность. Для широкого внедрения в медицинскую практику гидрофильного геля Aquafilling необходимы его клинические испытания.

D. V. Kulyesh, A. B. Zlenko, I. B. Demchenko, N. A. Galatenko

Analysis of the proficiency testing of hydrophilic gel Aquafilling

The analysis of sanitary-chemical and toxicological studies of polyamide hydrophilic gel Aquafilling in experiment is performed. It is shown that the hydrogel is safe and meets hygienic standards. Its biocompatibility and untotoxicity are proved. For a broad introduction into medical practice, hydrophilic gel Aquafilling needs the clinical trials.