УДК 57.085.23

Г. М. Назаренко[1],
В. О. Іваниця[1], *д-р біол. наук, проф.,*
Т. В. Гудзенко[1], *канд. біол. наук, доц.,*
Н. Т. Кліменкова[1], *канд. фіз.-мат. наук,*
Є. О. Прокопчук[1],
О. А. Назаренко[2], *канд. фіз.-мат. наук*

ТОКСИКО-ГЕНЕТИЧНА ОЦІНКА АЛМАЗОВМІСНОГО ПОКРИТТЯ ДЛЯ МЕДИЧНИХ ІМПЛАНТАТІВ

[1]Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
[2]Одеська національна академія зв'язку ім. О. С. Попова

Дуже важливою проблемою в імплантології досі залишається проблема вибору матеріалу для імплантації. Як у стоматологічній, так і в офтальмологічній імплантології найчастіше використовуються полімерні матеріали, зокрема акрилат, поліметилметакрилат (ПММА), поліетилен, полівініл, лавсан, силікон, пенополіуретан та ін. Проте разом із позитивними якостями, ці матеріали мають низку небажаних характеристик. Однією з таких негативних влас-

тивостей є присутність у ПММА високотоксичного мономера, який може дифундувати з імплантатів і викликати токсичну запальну реакцію [1]. Цитотоксичний ефект виявляють також силіконові інтраокулярні лінзи (ІОЛ) і лінзи з полімерів або скла, покриті шаром фторвуглецю [2]. Найбільш біосумісними матеріалами вважаються, як показує медична практика і свідчать джерела літератури, вуглецеві. Відзначається їх добре проростання тканинами організму, відсутність токсичності та відторгнення імплантатів [3; 4]. Тому найбільш перспективним є поєднання властивостей полімерів і вуглецю, що здійснюють шляхом нанесення алмазовмісного покриття на полімерні імплантати.

Виходячи з вищесказаного, **мета** даної роботи — визначення токсико-генетичних властивостей алмазовмісного покриття полімерних імплантатів.

Матеріали та методи дослідження

Одним із методів об'єктивної оцінки негативної дії матеріалу імплантата на організм є біотестування. Для досягнення поставленої мети як експериментальну тест-модель використовували культуру клітин нирок кролика RD. Дана культура належить до групи нормальних клітин і складається в основному з одноядерних клітин епітеліоїдного типу. При культивуванні клітин використовували ростове середовище Ігла, що містить 10 % сироватки великої рогатої худоби. Посівна доза становила 50 тис. клітин/мл.

Досліджувані матеріали: лавсан без покриття і лавсан з нанесеним на його поверхню алмазовмісним покриттям (АП) тонким або товстим шаром. Культивування клітин здійснювали у пеніцилінових флаконах на досліджуваних зразках імплантатів розміром 25 мм^2. У контрольних флаконах клітини культивували на покривних скельцях. Суспензію клітин по 1 мл засівали у пеніцилінові флакони. Культивували у термостаті при температурі 37 °С. Після експозиції імплантатів з культурою клітин RD препарати виймали з флаконів, ретельно промивали розчином Хенкса і готували постійні препарати. Забарвлення проводили фарбою Романовського — Гімзе.

Цитотоксичні властивості досліджуваних матеріалів оцінювали за атракцією клітин до носія (через 24 год культивування) і ступенем формування моношару (через 48–72 год експозиції). Ці показники враховували за допомогою мікроскопування нативних препаратів при збільшенні 10×10. Для оцінки токсико-генетичної активності імплантатів у постійних препаратах підраховували кількість патологічних мітозів, пов'язаних з ушкодженням мітотичного апарату і хромосом (відповідно до класифікації І. А. Алова, 1965), виражали у відсотках до загальної кількості клітин, що діляться мітозом. З метою отримання додаткової інформації про механізм токсико-генетичного впливу досліджуваних зразків на живі організми визначали низку додаткових кількісних показників, що характеризують мітотичний режим клітин: мітотичний індекс, співвідношення фаз мітозу, кількість симпластів і гігантських клітин.

Результати дослідження та їх обговорення

У таблиці наводяться результати оцінки цитотоксичних властивостей лавсанових імплантатів на моделі культури клітин RD.

З даних таблиці видно, що на поверхні лавсану без покриття спостерігалася негативна атракція — через 24 год експозиції лише поодинокі клітини прикріплялися до поверхні носія, при цьому ступінь формування моношару не перевищував (7,1±0,2) % порівняно з контролем. При збільшенні терміну культивування до 48–72 год цей показник зростав до (56,3±2,4) і (74,4±3,7) % відповідно. Наведені дані свідчать про те, що лавсанові носії не тільки перешкоджають атракції, але і гальмують утворення моношару клітин. Можливо, це є причиною ушкоджувальної дії лавсану на сполучну тканину капсул при тривалій імплантації. Внаслідок ушкодження тканини створюються оптимальні умови для мікробного руйнування імплантата. А нам відомо, що від заселення бактеріями полімерного матеріалу безпосередньо залежить глибина адгезії. З даних літератури відомо, що присутність на імплантаті більше 10^8 мікроорганізмів призводить до вкрай малого ступеня зрощення [5].

До алмазовмісної поверхні імплантатів клітини прикріплялися краще, ніж до поверхні скла у контролі. Через 24 год культивування ступінь формування моношару на лавсанових імплантатах з алмазним покриттям досягала (107,1±4,3) – (128,6±5,5) % порівняно з контролем. Посилення атракції клітин до АП пояснюється спорідненістю вуглецевих матеріалів із біологічними тканинами. Вуглецеві матеріали не є постачальниками іонів і утворюють численні окси-гідро-комплекси поверхневого типу, що, можливо, і зумовлює біохімічні реакції, визначувані як біосумісність. При взаємодії вуглецевих мате-

Таблиця

Вплив полімерних імплантатів на формування моношару культури клітин RD, %

Зразок	Експозиція, год		
	24	48	72
Лавсан без покриття	7,1±0,2	56,3±2,4	74,4±3,7
Лавсан із тонким АП	107,1±4,3	97,5±4,2	95,0±3,9
Лавсан із товстим АП	128,6±5,5	125,0±5,7	105,5±4,7

ріалів із біомембранами так само велике значення має поверхнева енергія вуглецю (який входить до складу АП лавсанових імплантатів), що перевищує 50 ерг/см^2, і унікальна гідрофільність досліджуваного матеріалу [6; 7], від якої залежить його висока клітинна колонізація.

На підставі даних таблиці можна зробити висновок про те, що ступінь атракції та швидкість формування моношару культури клітин RD на поверхні імплантатів безпосередньо залежала від товщини алмазовмісного шару. Дане явище пояснюється тим, що чим менша товщина АП, тим більше виявляються властивості «чистого» матеріалу. Тонка вуглецева плівка з негативним зарядом «пропускає» в деяких місцях заряд підкладки і, маючи гідрофільну поверхню, може містити окремі гідрофобні ділянки, на яких атракція клітин знижена [6; 7]. Тим же часом за результатами гістологічних досліджень Р. Е. Венгер і співавтори показали, що алмазне покриття незалежно від товщини підвищує біосумісність протеза з тканинами ока [8].

Результати вивчення мітотичної активності клітин RD, що культивуються на лавсанових імплантатах з алмазним покриттям, подано на рис. 1. З наведених даних виходить, що алмазне покриття сприяє збільшенню мітотичної активності клітин. Мітотичний індекс збільшувався у такому ряду: 2,41 % у контролі → 3,15 % на зразку лавсану без покриття → 16,77 % на зразку з АП товстим → → 28,95 % на зразку з АП тонким. Вивчення співвідношення фаз мітозу через 48 і 72 год експозиції показало, що алмазне покриття імплантата прискорювало проходження клітинами RD усіх фаз мітозу порівняно з контролем, а лавсан без покриття гальмував ділення клітин у профазі (рис. 2).

При культивуванні на імплантаті з товстим АП мітотична активність клітин була в 4,5 рази вища за контрольний

Рис. 1. Вплив алмазовмісного покриття медичних полімерних імплантатів на мітотичну активність культури клітин RD: *1* — контроль; *2* — лавсан без покриття; *3* — лавсан з тонким алмазовмісним покриттям; *4* — лавсан з товстим алмазовмісним покриттям

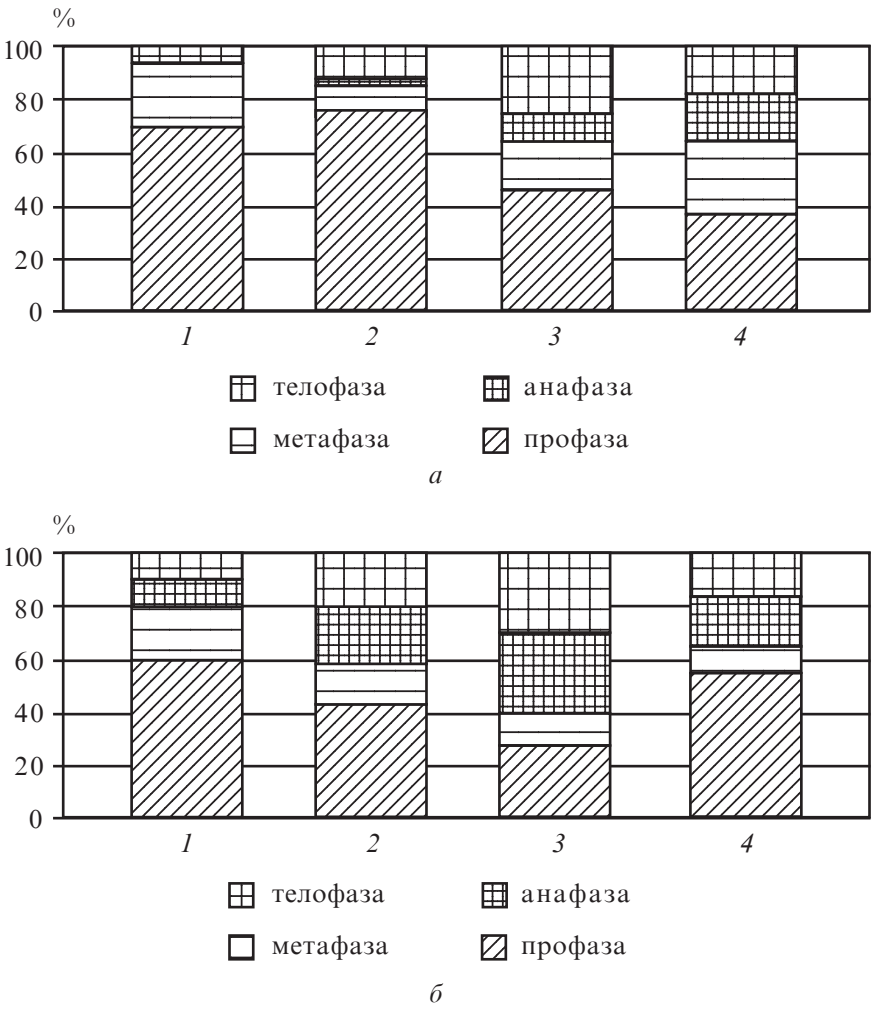

Рис. 2. Вплив алмазовмісного покриття медичних імплантатів на співвідношення фаз мітозу в культурі клітин RD: *а* — експозиція 48 год; *б* — експозиція 72 год; *1* — контроль; *2* — лавсан з АП тонким; *3* — лавсан з АП товстим; *4* — лавсан чистий

показник. Цікаво відзначити, що найбільш високий рівень мітотичної активності (28,95 %) спостерігався при культивуванні клітин на лавсані з тонким АП (рис. 3). Водночас клітини на матеріалі з товстим АП швидше минали свій життєвий цикл і вступали в інтерфазу — вже через 48 год ступінь формування моношару досягав 125,0 %, тимчасом як на «чистих» матеріалах — (56,3±2,4) %. Ці дані підтверджують нашу гіпотезу про те, що алмазовмісна плівка, яка покриває імплантат, збільшує швидкість регенерації тканини навколо конструкції, що імплантується, і швидкість реабілітації пацієнта. Наші дані пояснюють механізм швидкого вживлення досліджуваного імплантата з АП при стоматологічній і офтальмологічній імплантації [9], а також корелюють із даними роботи [10], в якій наводяться позитивні результати застосування вуглецевих фіксаторів для скорочення термінів непрацездатності й інвалідності пацієнтів при наслідках травм.

Результати оцінки токсикогенетичної активності досліджуваних матеріалів наводяться на рис. 3. Кількість патологічних мітозів, пов'язаних з ушкодженням хромосом і мітотичного апарату, зменшувалася в ряду: 2,1 % на лавсані без покриття → 1,9 % у контролі → → 1,3 % на лавсані з АП товстим → 1,1 % на лавсані з АП тонким. Лавсан, що є полімером, викликав незначне збільшення кількості патологічних мітозів у культурі клітин RD порівняно з контролем, що, можливо, пов'язане з вивільненням з імплантатів низькомолекулярних продуктів. При культивуванні клітин на лавсані з АП кількість патологічних мітозів була нижчою за контрольний рівень.

Позитивна дія АП на культуру клітин RD виявлялася і в зменшенні кількості симпластів

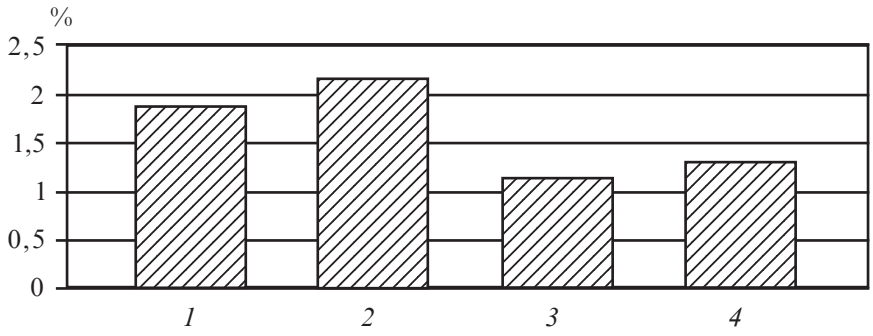

Рис. 3. Вплив алмазовмісного покриття медичних імплантатів на кількість патологічних мітозів у культури клітин RD після експозиції 48 год: *1* — контроль; *2* — лавсан «чистий»; *3* — лавсан з тонким АП; *4* — лавсан з товстим АП

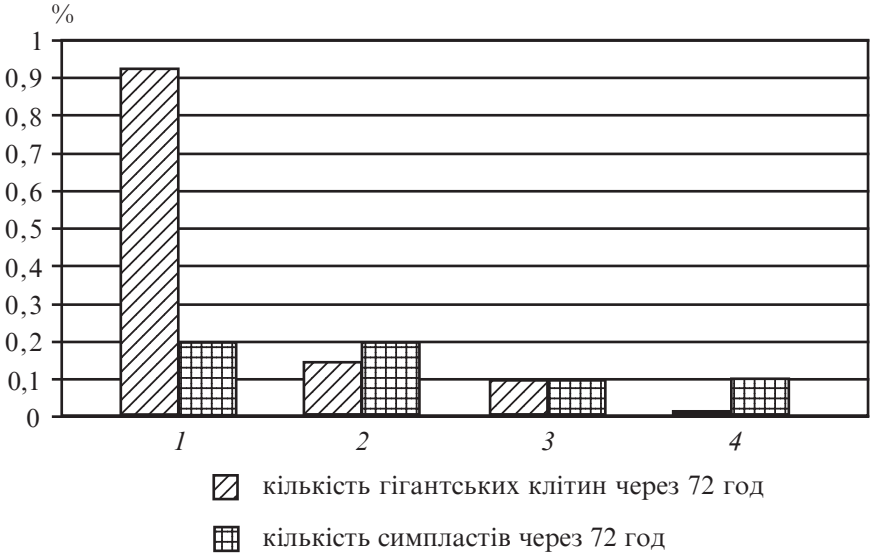

Рис. 4. Вплив алмазовмісного покриття медичних імплантатів на кількість гігантських клітин і симпластів, що утворилися в процесі розвитку культури RD: *1* — контроль; *2* — лавсан «чистий»; *3* — лавсан з тонким АП; *4* — лавсан з товстим АП

і гігантських клітин (рис. 4) у моношарі через 72 год експозиції.

Висновки

1. Алмазовмісне покриття лавсанових імплантатів не надавало токсико-генетичної дії на культуру клітин RD.

2. Алмазовмісне покриття сприяло збільшенню атракції клітин до лавсанового носія, мітотичної активності та швидкості утворення моношару культури RD.

3. Позитивний біологічний вплив алмазовмісного покриття лавсанових імплантатів виявлявся у зниженні кількості патологічних мітозів, симпластів і гігантських клітин у культурі RD.

4. Алмазовмісне покриття лавсанової плівки служить бар'єром для проникнення продуктів деструкції матеріалу імплантата, які викликають інтоксикацію та реактивність організму, порушують екологічну рівновагу між імплантатом й організмом.

5. Алмазовмісне покриття може бути рекомендовано для застосування в медичній практиці, оскільки сприяє кращій колонізації імплантата клітина-

ми макроорганізму і «відштовхуванню» мікроорганізмів [7].

ЛІТЕРАТУРА

1. *Чупров А. Д.* Анализ результатов и клинические особенности имплантации эластичных полисиоловых ИОЛ / А. Д. Чупров // Вестник офтальмологии. — 1996. — Т. 112, № 2. — С. 5-8.

2. *Сравнительные* токсикологические характеристики полимеров офтальмологического назначения / В. Г. Лихванцева, Э. В. Егорова, В. О. Анжелов [и др.] // Вестник офтальмологии. — 1993. — № 3. — С. 15-16.

3. *Гюнтер В. Э.* Стоматологическая имплантация с использованием сверхэластичных материалов с памятью формы. Последние достижения / В. Э. Гюнтер, В. Н. Олесова // Проблемы стоматологии и нейростоматологии. — М. : Медицина, 1999. — № 2. — С. 7-16.

4. *Гундорова Р. А.* Экспериментальные морфологические результаты вживления углеродного войлока для пластики опорно-двигательной культи и придаточного аппарата глаза / Р. А. Гундорова // Вестник офтальмологии. — М. : Медицина, 1996. — Т. 112, № 1. — С. 27-31.

5. *Наузари Х.* Микроорганизмы в политетрафторэтиленовых барьерных мембранах при направленной регенерации ткани / Х. Наузари, Дж. Слотс // Журнал клинической периодонтологии. — 1994. — Т. 3, № 21. — С. 203-210.

6. Дослідження адсорбційної здібності та біодеградаційних процесів у часі на поверхні алмазовмісної оболонки медичних протезів, що імплантуються : звіт про науково-дослідну роботу / В. О. Іваниця, Н. Т. Кліменкова, Є. О. Прокопчук [та ін.]. — О. : д/б тема № 778. — 24 с.

7. *Адгезія Staphylococcus aureus ATCC 25923* до імплантатів з поверхнею, модифікованою алмазовмісним покриттям / Г. М. Назаренко, О. Л. Рахімова, Н. Т. Кліменкова [та ін.] // 10-й з'їзд Товариства мікробіологів України : тези доп. — Одесса : Астропринт, 2004. — С. 224.

8. *Сравнительная* оценка экологической нормы светопропускания естественной и многослойной искусственной радужки глаза / Е. О. Прокопчук, Н. Т. Клименкова, Г. Е. Венгер, Н. Д. Иськo // Перспективні напрямки розвитку екології, економіки, енергетики : зб. наук. статей. — Одеса : ОЦНТІ, 1997.

9. *Новий* вид біоінертного покриття дентальних імплантатів / А. А. Ляшков, Є. О. Прокопчук, Н. Т. Кліменкова, А. Г. Гулюк // Там же. — С. 38-42.

10. *Унгбаев Т. Э.* Опыт применения углеродных фиксаторов при последствиях травм / Т. Э. Унгбаев // Ортопедия, травматология и протезирование. — 1989. — № 6. — С. 46-47.

УДК 57.085.23

Г. М. Назаренко, В. О. Іваниця, Т. В. Гудзенко, Н. Т. Кліменкова, Є. О. Прокопчук, О. А. Назаренко

ТОКСИКО-ГЕНЕТИЧНА ОЦІНКА АЛМАЗОВМІСНОГО ПОКРИТТЯ ДЛЯ МЕДИЧНИХ ІМПЛАНТАТІВ

У дослідах *in vitro* вивчали токсико-генетичні властивості алмазовмісного покриття полімерних імплантатів за допомогою біотестування. Для досягнення поставленої мети як експериментальну тест-модель використовували культуру клітин нирок кролика — RD. Встановлено, що алмазовмісне покриття не надавало токсико-генетичної дії на культуру клітин RD, сприяло збільшенню атракції клітин до лавсанового носія, мітотичної активності та швидкості утворення моношару культури RD; знижувало кількість патологічних мітозів, симпластів і гігантських клітин у тест-культурі.

Ключові слова: алмазовмісне покриття, культура клітин RD, полімери.

UDC 57.085.23

G. M. Nazarenko, V. O. Ivanytsya, T. V. Gudzenko, N. T. Klimenkova, Ye. O. Prokopchuk, O. A. Nazarenko

TOXIC-GENETIC ESTIMATION OF DIAMOND-CONTAINING COVERAGE FOR MEDICAL IMPLANTS

Toxic-genetic properties of diamond-containing coverage of polymeric implants were studied with the help of biotesting in experiments *in vitro*. To achieve the purpose the culture of renal cells of a rabbit — RD — was used as an experimental model. It is set that diamond-containing coverage had no toxic action on the culture of RD cells, favored to increase of cells attraction to the lavsan base, mitotic activity and RD culture monolayer formation speed; decreased the amount of pathological mitosis, and gigantic cells in the test culture.

Key words: diamond-containing coverage, RD cells culture, polymers.

Передплачуйте і читайте журнал

ДОСЯГНЕННЯ БІОЛОГІЇ та МЕДИЦИНИ

У випусках журналу:

- Фундаментальні проблеми медицини та біології
- Нові медико-біологічні технології
- Оригінальні дослідження
- Огляди
- Інформація, хроніка, ювілеї

Передплата приймається у будь-якому передплатному пункті

Передплатний індекс 08205