

DOI 10.29254/2077-4214-2022-3-166-460-471

UDC 678.664:615.28

Vislohuzova T. V., Kuliesh D. V., Rozhnova R. A., Galatenko N. A., Narazhayko L. F.

STUDY OF BIOSCOMPATIBILITY OF COMPOSITE MATERIALS FILLED WITH SILVER-CONTAINING SILICA NANOCOMPOSITEInstitute of Macromolecular Chemistry of the National Academy of Science of Ukraine (Kyiv, Ukraine)
rudenchyk@gmail.com

This work concerns polymer materials for manufacturing catheters, drains and various membrane coatings with stable antimicrobial properties that will ensure the suppression of infection in the product itself and the focus of inflammation. Since the main requirements for polymer materials for medical purposes are biocompatibility and lack of toxicity, there is necessary to conduct preclinical tests. Therefore, our work aims to study the cytotoxicity and biocompatibility of composite materials filled with silver-containing silica nanocomposite. The objects of the study were composite materials based on polyurethaneureas (PUU) with fragments of poly(vinyl butyral-vinyl acetate-vinyl alcohol) copolymer and 1,6-hexamethylenediamine macrochain extender in the structure filled with silver-containing silica nanocomposite 02AgCu in the amount of 1% by mass. Cytotoxicity studies were carried out by the tissue culture method on tissue culture of subcutaneous adipose tissue of laboratory white rats in vitro. Biocompatibility studies were carried out by histological tests by studying cellular reactions to the implantation of polymeric materials in in vivo conditions. Based on the results of tissue culture studies, it can be concluded that there is no histotoxic effect of the studied PUU and composite materials based on them filled with silver-containing silica nanocomposite on cultured cells. Histological tests showed that the polymer samples had a fairly high degree of biocompatibility. The studied composite materials are filled with silver-containing silica nanocomposite 02AgCu in 1% wt. are safe and can be proposed for use in various fields of medicine.

Key words: composite materials, silver-containing silica nanocomposite, tissue culture, implantation, biocompatibility.

Connection of the publication with planned research works. The work was carried out within the framework of research work No. 2.1.4.4-3 "Formation of polymers of different spatial structure and compositions based on them for immobilization of biologically active compounds and medicinal substances" (2019-2022), RK 0119U001237.

Introduction. Modern surgery, urology, and gynecology require developing new biologically active polymer membrane-forming materials with stable antimicrobial properties to manufacture catheters, drains and various film coatings that will prevent infection in the product itself and the focus of inflammation.

Polyurethane ureas (PUU) are promising polymer materials for medical use. Their use is known in the creation of wound covers [1], catheters, prostheses, artificial vessels [2], anti-thrombogenic products [3], supporting structures for soft tissues [4], in bone tissue engineering [5], etc. In particular, antimicrobial membrane materials with decamethoxine for the treatment of wounds and burns [6], membrane materials with cycloserine as a coating for the treatment of skin tuberculosis [7], antimicrobial membrane materials with tiamulin fumarate for making drains in abdominal surgery [8], composite materials with lysozyme for the treatment of necrotic wounds [9, 10]. Film materials with lysozyme [11, 12] as a coating for burn wounds [13] have been developed based on PUU with poly(vinyl butyral-vinyl acetate-vinyl alcohol) copolymer fragments in the structure.

Therefore, taking into account the above, composite materials containing silver-containing silica nanocomposites of various compositions (02AgCu; AgCu; 01Ag) were obtained based on PUU with fragments of the copolymer poly(vinylbutyral-vinylacetate-vinyl alcohol)

and the macrochain extender of 1,6-hexamethylenediamine in the structure) in amounts of 0.1, 0.5 and 1 wt. % [14].

The choice of silver-containing silica nanocomposites – composites containing metal oxides and metallic silver nanoparticles [15] as biologically active fillers is due to the manifestation of antibacterial properties against the most common gram-positive and gram-negative bacteria.

The essential requirements for polymer materials for medical purposes are biocompatibility and non-toxicity. Therefore, to enable further implementation of these materials into medical practice, it became necessary to conduct preclinical tests of these materials.

The aim of the study is to investigate the cytotoxicity and biocompatibility of composite materials filled with silver-containing silica nanocomposite 02AgCu.

Object and research methods. The research *objects* were composite materials based on PUU with poly(vinyl butyral-vinyl acetate-vinyl alcohol) copolymer fragments and 1,6-hexamethylenediamine macrochain extender in the structure filled with silver-containing silica nanocomposite 02AgCu in the amount of 1% by mass.

Tissue culture method. The tissue culture method was used to study cytotoxicity in tissue culture of subcutaneous adipose tissue of laboratory white rats of the Wistar line, which causes fibroblastic growth under cultivation conditions of fibroblast-like elements [16]. Tissue culture was obtained by explanting pieces of subcutaneous adipose tissue, which were placed in Carrel vials with a nutrient mixture consisting of medium 199 and chicken plasma. Samples of the investigated polymer materials measuring 0.5x0.5 cm were also introduced into the vials, then the embryonic extract was added,

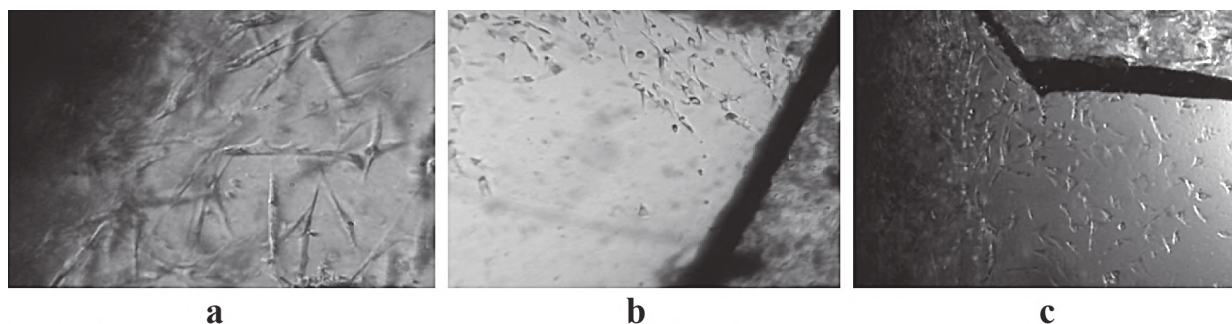


Figure 1 – Initiation of growth in rat subcutaneous adipose tissue culture in a vial with control (a), PUU (b), and PUU+02AgCu (c).

and a plasma clot (solid phase) was obtained. After forming the solid phase (10-15 min.), nutrient medium 199 and bovine serum (liquid phase) were introduced. Cultivation was carried out at a temperature of 37°C. Vials with subcutaneous adipose tissue explants without adding polymer samples were used as a control. The change of the liquid phase of the nutrient medium and the study of the growth and development of cellular elements of the subcutaneous tissue of white rats in both control and experimental samples were carried out on the 3rd, 7th, 10th and 14th days of cultivation. Cultures were examined under a microscope in the native state. In order to standardize the nature of culture growth, their zones were classified as compact, mesh-like zones and the zone of migrating cells, the criterion for their selection was the location of growing fibroblastic elements.

Histological studies. Histological studies were used to study cellular reactions to the implantation of polymeric materials, which is an essential point in assessing their biocompatibility. In aseptic conditions, model operations were carried out for the implantation of samples in the body of experimental animals – laboratory rats of the Wistar line (the total number of operated animals was 40, males weighing 180-220 g). After treatment of the operative field, polymer samples were implanted subcutaneously in the form of monolithic films measuring 10x10x2 mm in experimental animals in the interscapular space. Such an area is optimal for implantation and is characterized by low mobility and inaccessibility for the animal itself, which minimizes the risk of its interference in the experimental process. Experimental samples of polymer materials were placed in the body of experimental animals without additional fixation to exclude the influence of suture material on the wound process. All manipulations with experimental animals were carried out under anesthesia and in compliance with the principles set forth in the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Purposes [17]. Animals were removed from

the experiment on 7, 14, 30, and 90 days after surgery by humane euthanasia. Polymer samples with surrounding connective tissue were fixed in a 10% formalin solution and embedded in paraffin after histological processing according to standard methods [18, 19]. Sections with a thickness of 10-12 µm were stained with hematoxylin and eosin. Assessment of biocompatibility, namely the tissue reaction of the organism of experimental animals and possible changes in the structure of the studied samples after the implantation of polymeric materials, was carried out using light-optical studies and analysis of histological micropreparations on microscopes “Mikmed-2”, Carl Zeiss Primo Star, photomicrography was carried out using a ScienceLab 3.0 video eyepiece and a camera Canon PowerShot A640. During the research, both the general reaction of the body of experimental animals to the implantation of polymer samples and the structure and morphology of the tissues surrounding the implants were evaluated.

Research results and their discussion. In order to investigate the possible toxicity of the components of the studied composite materials on the growth and development of the culture of fibroblastic elements, research was carried out by the tissue culture method *in vitro*.

The first signs of growth, which were manifested by the migration of single cells of an elongated shape, as well as single migrating fibroblastic elements that had a spindle-like and polygonal shape, both in control and in the experimental samples, were observed by the end of the 3rd day (fig. 1a, fig. 1b). Only for the PUU sample in the primary zone of polygonal cells was significantly more than in control (fig. 1c).

On the 7th day, in Karrel vials with samples, as in control, the growth areas are represented by three zones: compact, consisting of spindle-shaped and polygonal cells, reticular, consisting of bundles and cords of cells that are arranged in a reticular pattern, and zones of migrating fibroblastic elements (fig. 2a, fig. 2b, fig. 2c).

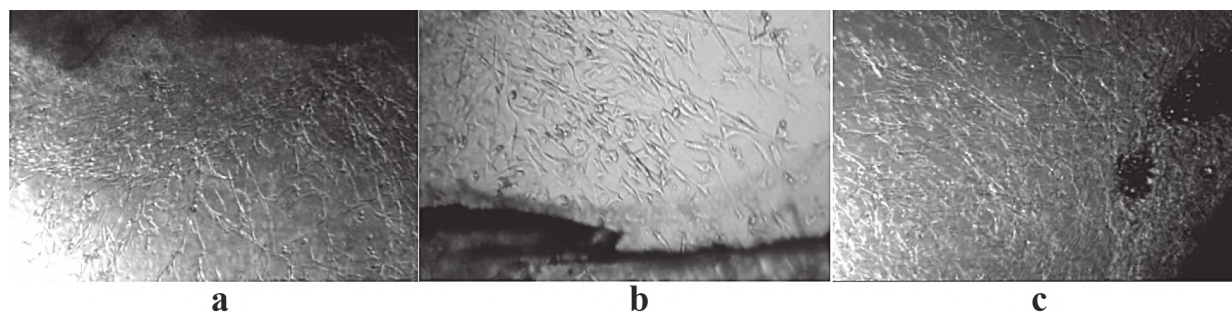


Figure 2 – Growth of fibroblast culture on the 7th day of cultivation in a vial with control (a), PUU (b), and PUU+02AgCu (c).

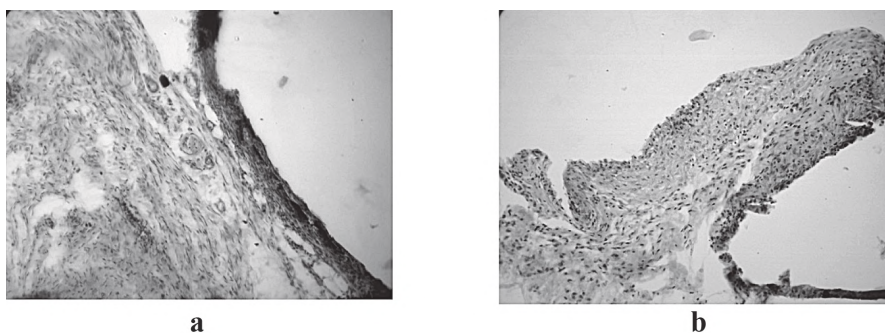


Figure 3 – Connective tissue capsule around the implanted sample of PUU (a) and PUU+02AgCu (b) on the 7th day of the experiment. Magnification: $\times 200$.

On the 10th day of the test, the zones of compact, reticular, and migrating cells increased. For all test samples, except for PUU, tissue-like growth is observed. In vials with a PUU sample, signs of degenerative changes of fibroblastic and fibroblast-like cells in the compact and reticular zones were revealed. In vials with the PUU+02AgCu sample, the area of tissue-like growth of fibroblastic elements significantly increased. The density of fibroblasts remained more pronounced in the zone of compact location of cells. Degenerative changes in individual cells are observed only in the compact zone.

On the 14th day of the study, the cell population enters the phase of degeneration, manifested in a significant vacuolization of the cytoplasm and its granular regeneration in cells in the experimental and control samples, which is characteristic of this period of this culture. But in vials with PUU+02AgCu polymer samples on the 14th day, despite the degeneration of the culture, new spindle-shaped and polygonal cells are present in the zone of migrating fibroblasts.

Thus, it was established that no biodegradation products from polymer samples entered the nutrient medium during 14 days of cultivation, and they did not show a toxic effect on tissue culture cells.

When studying the biocompatibility of polymeric materials, the processes occurring during implantation in the body of experimental animals, the analysis of cellular reactions, and the evaluation of the biological safety of materials during their long-term contact with the biological environment are of particular importance. Therefore, histological studies were carried out *in vivo*.

Daily visual assessment of the response of the epithelium at the operative site showed that the wound healed within 3 days after the operation without signs of an inflammatory reaction. According to morphological features, no degenerative changes, tumors, tissue necrosis were detected either in the short-term or in

the long-term postoperative period. Throughout the experiment, the implanted materials were palpated through the skin of the animals. Implantation of the studied samples did not cause aggression and changes in the behavior of the experimental animals.

Macroscopically, connective tissue was detected around the implanted samples at all times of the study, which was tightly connected to the surface of the implanted samples and did not

differ in color and structure from the tissues away from the implantation site.

The main attention during the analysis of histological micropreparations was directed to signs of the development of inflammatory phenomena in the area of implantation of polymer samples at the “implant-tissue” interface.

On the 7th day after surgery, a rather immature connective tissue capsule was observed around the PUU samples, which separated the implanted polymer sample from the surrounding tissues. The cellular composition of the capsule was mainly represented by leukocytes (polymorphonuclear neutrophils) and lymphocytes (fig. 3a). In some areas, a more mature capsule was observed, the main cellular elements of which were synthetically active fibroblasts located in the thickness of bundles of collagen fibers. At this time of the study, monocyte-macrophage elements were also presented in large quantities, which indicated the activation of phagocytic processes in the area of implantation material placement. A small number of blood vessels were observed without disturbances of microcirculatory processes.

On the 7th day, an immature connective tissue capsule was also observed around the PUU+02AgCu polymer samples and around the samples without silver. Infiltration by round cell elements, mainly leukocytes (polymorphonuclear neutrophils) and lymphocytes (fig. 3b) was characteristic for this study period. Foci of monocyte-macrophage cells were found locally. In some areas, a more structured capsule containing synthetically active fibroblasts was observed between rows of bundles of collagen fibers directed along the implanted sample. Blood vessels were represented in small numbers without signs of microcirculatory disturbances in them.

On the 14th day after surgery, a thin and mature connective tissue capsule was observed around the PUU samples. The intensity of neutrophilic and lymphocytic infiltration decreased compared to the previous study period. The monocyte-macrophage reaction's intensity also decreased, indicating the activation of proliferative processes. Young forms of fibroblastic elements and spindle-shaped fibroblasts

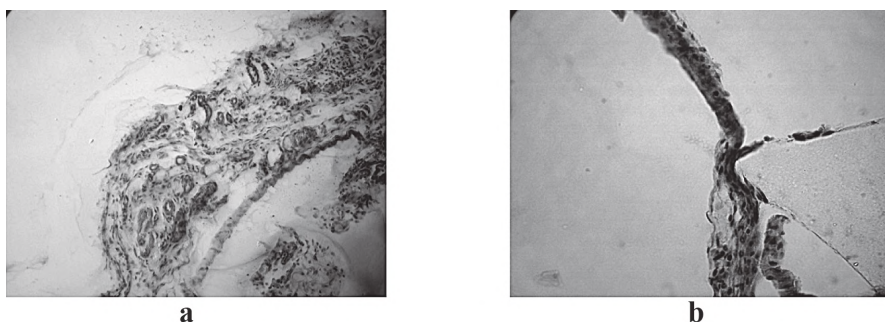


Figure 4 – Connective tissue capsule around the implanted sample of PUU (a) and PUU+02AgCu (1% wt.) (b) on the 14th day of the experiment. Magnification: $\times 200$.

lying in the thickness of bundles of mature collagen fibers were observed in separate capsule areas. Along with the capsule in the surrounding connective tissue, a large number of blood vessels were observed, compared to the previous period of the study, their lumen increased, but all of them were characterized by normal microcirculation. An insignificant cell of such connective tissue next to the capsule was characterized by an increased permeability of capillaries and venules, which led to local hemorrhagic exudation (fig. 4a).

On the 14th day, a thinner and more mature connective tissue capsule was formed around the PUU+02AgCu polymer samples than at the previous period of the study. The capsule consisted of synthetically active fibroblasts located in the thickness of bundles of mature collagen fibers directed along the implanted sample. In small separate areas, a less mature and structured capsule was observed, the cellular composition of which was represented by minor foci of leukocytes (polymorphonuclear neutrophils), as well as monocyte-macrophage cells with phagocytic activity (fig. 4b). The number of blood vessels was insignificant, the microcirculatory processes in them were without disturbances.

30 days after the operation, a sufficiently mature connective tissue capsule was observed around the PUU sample, the cellular composition of which was represented by local foci of monocyte-macrophage elements, minor leukocyte and lymphocyte infiltrations. In other capsule areas, bundles of mature collagen fibers and spindle-shaped fibroblasts were observed between them (fig. 5a), actively synthesizing collagen. A reduction of blood vessels was observed in comparison with the previous term of the study. Microcirculatory processes in vessels were without disturbances.

After 30 days, a connective tissue capsule was observed around the PUU+02AgCu sample, which varied in degree of maturity along its entire length. Some areas consisted of bundles of mature collagen fibers and synthetically active fibroblasts, oriented along the implanted material. In other parts of the capsule, round cell infiltration was observed, represented mainly by leukocytes, a pronounced monocyte-macrophage reaction, as well as young forms of fibroblastic elements and poorly differentiated cellular elements (fig. 5b). The intensity of the monocyte-macrophage reaction was high, which probably indicated an active phagocytic process in the area where the implant was placed. Blood vessels were represented in a small amount, without violations of microcirculatory processes.

90 days after the operation, fibroblasts observed an increase in the thickness and density of the connective tissue capsule around the implanted

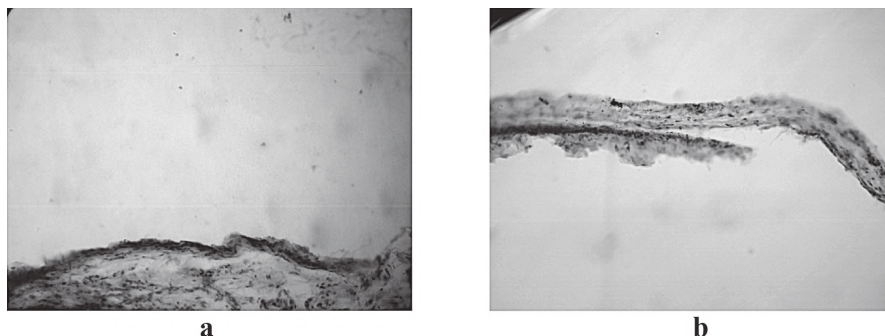


Figure 5 – Connective tissue capsule around the implanted sample of PUU (a) and PUU+02AgCu (b) on the 30th day of the experiment. Magnification: $\times 200$.

PUU sample due to the active synthesis of collagen fibers and other components of the extracellular matrix. At the same time, the capsule itself had a high degree of maturity along its entire length and consisted of bundles of wavy collagen fibers with spindle-shaped fibroblasts between them (fig. 6a). Small foci of round cell infiltration, mainly leukocyte, and a pronounced macrophage reaction were characteristic of some areas of the capsule. At this time of the study, the number of blood vessels was insignificant. Microcirculatory processes in vessels were without disturbances.

After 90 days, a rather thin and mature connective tissue capsule consisting of bundles of wavy collagen fibers and spindle-shaped fibroblasts between them was observed around the implanted PUU+02AgCu sample (fig. 6b). Small foci of round cell infiltration were characteristic in some areas of the capsule, as was the case around PUU samples without silver. Blood vessels were represented in small numbers with normal microcirculation.

Therefore, the histological studies showed that the implantation of the studied samples into the body of experimental animals led to the development of cellular reactions typical for aseptic inflammation without signs of acute inflammation and other reactive processes. Implantation of PUU+02AgCu composite materials led to morphologically similar cell reactions developing around PUU samples. Cellular reactions to the implantation of the studied samples already in the study's early stages were aimed at forming "barrier" connective tissue capsules and were insignificant in their intensity. Mainly, local round cell infiltrations were observed. The degree of ripening of the capsules remained low during the initial periods of observation. But there was a general tendency to form thin and mature capsules around PUU and around PUU+02AgCu, consisting of fibroblasts and bundles of mature collagen fibers located along the

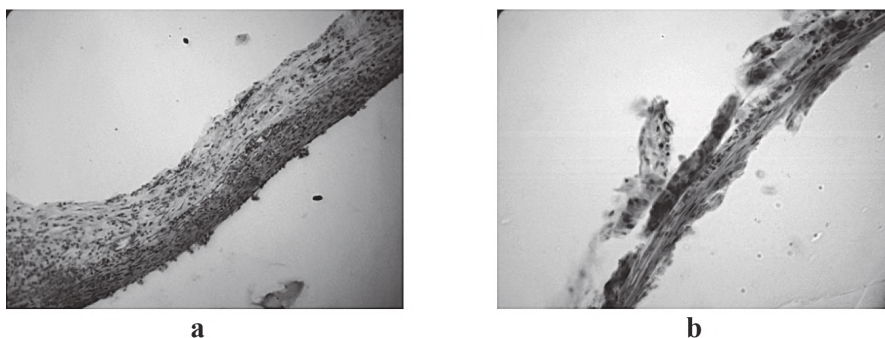


Figure 6 – Connective tissue capsule around the implanted sample of PUU (a) and PUU+02AgCu (b) on the 90th day of the experiment. Magnification: $\times 200$.

implanted samples. At the same time, an increase in the number of mononuclear cells (macrophages) aimed at the implementation of the body's protective and compensatory mechanisms in response to the presence of a foreign body was observed at almost all times of the study. It was established that the silver-containing silica nanocomposite in the composition of polymer samples did not significantly affect the course of cellular reactions during implantation and did not significantly differ from the cellular reactions around polymer samples without silver-containing nanocomposites.

Conclusions. Thus, based on the results of tissue culture studies, it can be concluded that the studied

materials PUU and PUU+02AgCu (1% wt.) do not have a histotoxic effect on cultured cells. Histological tests showed that the polymer samples had a fairly high degree of biocompatibility and gradually biointegrated into the subcutaneous connective tissue in the form of reactive encapsulation by the connective tissue. The researched composite materials can be proposed for use in various fields of medicine.

Prospects for further research. Since, according to the results of preclinical studies, composite materials filled with silver-containing silica nanocomposite are safe, clinical trials are planned in the future.

References

1. Liu X, Niu Y, Chen KC, Chen S. Rapid hemostatic and mild polyurethane-urea foam wound dressing for promoting wound healing. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 2017;71:289-297. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.10.019>.
2. Burke A, Hasirci N. Polyurethanes in Biomedical Applications. *Advances in Experimental Medicine and Biology.* 2004;553:83. DOI: https://doi.org/10.1007/978-0-306-48584-8_7.
3. Caracciolo PC, Queiroz AAA, Higa OZ, Buffa F, Abraham GA. Segmented poly(esterurethane urea)s from novel urea–diol chain extenders: Synthesis, characterization and in vitro biological properties. *Acta Biomaterialia.* 2008;4(4):976-988. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2008.02.016>.
4. Hong Y, Guan J, Fujimoto KL, Hashizume R, Pelinescu AL, Wagner WR. Tailoring the degradation kinetics of poly(ester carbonate urethane) urea thermoplastic elastomers for tissue engineering scaffolds. *Biomaterials.* 2010;31(15):4249-4258. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.02.005>.
5. Zieleniewska M, Auguscik M, Prociak A, Rojek P, Ryszkowska J. Polyurethane-urea substrates from rapeseed oil-based polyol for bone tissue cultures intended for application in tissue engineering. *Polymer Degradation and Stability.* 2014;108:241-249. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2014.03.010>.
6. Rozhnova R, Karpenko O, Rudenychuk T, Galatenko N, Kiselova T. Synthesis film materials with decametoxine on the basis of polyurethaneureas, which containing in the structure fragments of a copolymer of N-vinylpyrrolidone with vinylalcohol. *Naukovi Zapysky NaUKMa.* 2016;183:54-59. [in Ukrainian].
7. Rudenychuk T, Rozhnova R, Galatenko N, Nechaeva L. Study of Biodegradation of film materials with D-Cycloserine based on polyurethaneurea and the dynamics of drug release. *American Journal of Polymer Science and Technology.* 2019;5(4):97-104. DOI: <https://doi.org/10.11648/j.ajpst.20190504.11>
8. Rudenychuk TV, Rozhnova RA, Galatenko NA, Kiselova TO. Plivkovi materialy z tiamulin fumaratom na osnovi poliuretansechovyn z frahmentamy kopolimeru n-vinilpirolidonu z vinilovym spyrtom u yikh strukturi. *Visnyk Odeskoho Natsionalnoho Universytetu.* 2016;21(3(59)):67-76. DOI: [http://dx.doi.org/10.18524/2304-0947.2016.3\(59\).79591](http://dx.doi.org/10.18524/2304-0947.2016.3(59).79591). [in Ukrainian].
9. Stashenko KV, Rudenychuk TV, Rozhnova RA, Galatenko NA, Narazhaiko LF. Biosumisni kompozytsiyni materialy z lizotsymom na osnovi poliuretansechovyn z frahmentamy kopolimeru n-vinilpirolidonu, vinilatsetu ta vinilovoho spyrta. *Visnyk Odeskoho Natsionalnoho Universytetu.* 2018;23(2(66)):46-56. DOI: [http://dx.doi.org/10.18524/2304-0947.2018.2\(66\).132042](http://dx.doi.org/10.18524/2304-0947.2018.2(66).132042). [in Ukrainian].
10. Stashenko KV, Rudenychuk TV, Rozhnova RA, Kiselova TO. Development of composite materials based on polyurethaneurea with fragments of a copolymer of N-vinylpyrrolidone with vinyl alcohol and lysozyme. *Voprosy khimii i khimicheskoi tekhnologii.* 2018;2:115-121. [in Ukrainian].
11. Stashenko KV, Rudenychuk TV, Galatenko NA, Rozhnova RA. Syntez i vlastyvoli kompozytsiynykh materialiv na osnovi poliuretansechovyn z frahmentamy kopolimeru polivinilbutyralyu (vinilatsetatu z vinilovym spyrtom) ta lizotsymom. *Voprosy khimii i khimicheskoi tekhnologii.* 2020;1:71-79. DOI: <http://dx.doi.org/10.32434/0321-4095-2020-128-1-71-79>. [in Ukrainian].
12. Stashenko KV, Vislohuza TV, Galatenko NA, Rozhnova RA. Development of composite materials based on polyurethane ureas with fragments of a copolymer of poly(vinyl butyral, vinyl acetate and vinyl alcohol) and lysozyme. *Polymer Journal.* 2020;2:126-136. DOI: <https://doi.org/10.15407/polymerj.42.02.136>. [in Ukrainian].
13. Stashenko KV, Rudenychuk TV, Rozhnova RA, Galatenko NA, Nechaeva LYu. Study of the influence of the model biological environment on the structure and properties of polyurethaneureas with lysozyme, which contain fragments of copolymer of vinylbutyral, vinyl acetate and vinyl alcohol in the structure. *Polymer Journal.* 2019;41(3):198-205. DOI: <https://doi.org/10.15407/polymerj.41.03.198>. [in Ukrainian].
14. Vislohuza TV, Rozhnova RA, Bogatyrov VM. Film materials filled with biocidal silver-containing silica nanocomposites. *Ukrainian Conference with International Participation "Chemistry, physics and technology of surface"; 2020 October 21-23; Kyiv; 2020. p. 190.*
15. Bogatyrov VM, Gun'ko VM, Galaburda MV, Oranska OI, Petryk IS, Tsyganenko KS, et al. The effect of photoactivated transformations of Ag⁺ and Ag⁰ in silica fillers on their biocidal activity. *Research on Chemical Intermediates.* 2019;45(8):3985-4001. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11164-019-03885-2>.
16. Lebediev YeV, Konstantinov YuB, Galatenko NA, Yatsenko VP, Rozhnova RA, Maksymenko VB. Toksykolohe-hihienichni ta Doklinichni Doslidzhennia Polimerykh Materialiv i Vyrobiv na yikh Osnovi Medychnoho Pryznachennia. Kyiv: Naukova dumka; 2009. 99 s. [in Ukrainian].
17. Council of Europe. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg: Council of Europe; 1986. 53 p.
18. Sarkisov DS, Petrova YuL. Mikroskopicheskaia tekhnika. Moskva: Meditsina; 1996. 542 s.
19. Bagriy MM, Dibrova VA, Popadynets OG, Grischuk MI. Metodyky morpholohichnykh doslidzen. Vinnitsa: Nova Knyha; 2016. 328 s. [in Ukrainian].

ВИВЧЕННЯ БІОСУМІСНОСТІ КОМПОЗИЦІЙНИХ МАТЕРІАЛІВ, НАПОВНЕНИХ СРІБЛОВМІСНИМ КРЕМНЕЗЕМНИМ НАНОКОМПОЗИТОМ

Віслогузова Т. В., Кулеш Д. В., Рожнова Р. А., Галатенко Н. А., Наражайко Л. Ф.

Резюме. Сучасна медицина потребує нових полімерних матеріалів для виготовлення катетерів, дренажів і різноманітних плівкових покриттів зі стійкими антимікробними властивостями, що будуть забезпечувати пригнічення інфекції в самому виробу та осередку запалення. Оскільки основними вимогами до полімерних матеріалів медичного призначення є біосумісність і відсутність токсичності, постає необхідність у проведенні доклінічних випробувань.

Метою роботи є дослідження цитотоксичності та біосумісності композиційних матеріалів наповнених срібловмісним кремнеземним наноккомпозитом O2AgCu.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктами дослідження були композиційні матеріали на основі поліуретансечовин (ПУС) з фрагментами кополімеру полі(вінілбутираль-вінілацетат-вініловий спирт) та подовжувача макроланцюга 1,6-гексаметилендіаміну у структурі наповнених срібловмісним кремнеземним наноккомпозитом O2AgCu у кількості 1% мас. Дослідження цитотоксичності здійснювали методом культури тканин на культурі тканин підшкірно-жирової клітковини лабораторних білих щурів в умовах *in vitro*. Дослідження біосумісності здійснювали гістологічними випробуваннями шляхом вивчення клітинних реакцій на імплантацію полімерних матеріалів в умовах *in vivo*.

Результати. За результатами проведених досліджень культури тканин можна зробити висновок про відсутність гістотоксичного впливу досліджуваних ПУС і композиційних матеріалів на їх основі наповнених срібловмісним кремнеземним наноккомпозитом на культивовані клітини. Гістологічними випробування показало, що полімерні зразки мали досить високий ступінь біосумісності.

Висновки. Досліджувані композиційні матеріали наповнені срібловмісним кремнеземним наноккомпозитом O2AgCu у кількості 1 % мас. є безпечними та можуть бути запропоновані для використання в різних галузях медицини.

Ключові слова: композиційні матеріали, срібловмісний кремнеземний наноккомпозит, культура тканин, імплантація, біосумісність.

STUDY OF BIOSCOMPATIBILITY OF COMPOSITE MATERIALS FILLED WITH SILVER-CONTAINING SILICA NANOCOMPOSITE

Vislohuzova T. V., Kuliesh D. V., Rozhnova R. A., Galatenko N. A., Narazhayko L. F.

Abstract. Modern medicine needs new polymer materials for the manufacture of catheters, drains and a variety of film coatings with resistant antimicrobial properties that will ensure suppression of infection in the product and the focus of inflammation. Since the main requirements for medical polymer materials are biocompatibility and non-toxicity there is a need for preclinical tests.

The aim of the work is to study the cytotoxicity and biocompatibility of composite materials filled with silver-containing silica nanocomposite O2AgCu.

Object and methods of research. The objects of the study were composite materials based on polyurethaneureas (PUU) with copolymer fragments of poly(vinyl butyral-vinyl acetate-vinyl alcohol) and macrochain extender 1,6-hexamethylenediamine in the structure filled with silver-containing silica nanocomposite O2AgCu in the amount of 1 wt. %. Cytotoxicity studies were performed by tissue culture method on the culture of tissue of subcutaneous fatty tissue of white laboratory rats *in vitro*. Biocompatibility studies were performed by histological tests by studying cellular responses to the implantation of polymer materials *in vivo*.

Results. According to the results of tissue culture studies it can be concluded that there is no histotoxic effect of the investigated PUU and composite materials on their basis filled with silver-containing silica nanocomposite on cultured cells. Histological tests showed that the polymer samples had a fairly high degree of biocompatibility.

Conclusions. The investigated composite materials filled with silver-containing silica nanocomposite O2AgCu in the amount of 1 wt. % are safe and can be proposed for use in various branches of medicine.

Key words: composite materials, silver-containing silica nanocomposite, tissue culture, implantation, biocompatibility.

ORCID and contributionship:

Vislohuzova T. V.: 0000-0002-4071-4329 ^{BD}

Kuliesh D. V.: 0000-0002-0484-7853 ^B

Rozhnova R. A.: 0000-0003-3284-3435 ^{AE}

Galatenko N. A.: 0000-0002-5961-5750 ^{AF}

Narazhayko L.F.: 0000-0001-7031-9998 ^B

Conflict of interest:

The Authors declare no conflict of interest

Corresponding author

Vislohuzova Tetyana Volodymyrivna

Institute of Macromolecular Chemistry of the National Academy of Science of Ukraine

Ukraine, 02160, Kyiv, 48 Kharkivs'ke shose st

Tel.: 0961683675

E-mail: rudenchyk@gmail.com

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article.

Received 16.03.2022

Accepted 06.08.2022

ВИВЧЕННЯ БІОСУМІСНОСТІ КОМПОЗИЦІЙНИХ МАТЕРІАЛІВ, НАПОВНЕНИХ СРІБЛОВМІСНИМ КРЕМНЕЗЕМНИМ НАНОКОМПОЗИТОМ

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України (м. Київ, Україна)

rudenchyk@gmail.com

Дана робота стосується полімерних матеріалів для виготовлення катетерів, дренажів і різноманітних плівкових покриттів зі стійкими антимікробними властивостями, що будуть забезпечувати пригнічення інфекції в самому виробу та осередку запалення. Оскільки основними вимогами до полімерних матеріалів медичного призначення є біосумісність і відсутність токсичності, постає необхідність у проведенні доклінічних випробувань. Тому, метою нашої роботи є дослідження цитотоксичності та біосумісності композиційних матеріалів наповнених срібловмісним кремнеземним наноконкомпозитом. Об'єктами дослідження були композиційні матеріали на основі поліуретансечовин (ПУС) з фрагментами кополімеру полі(вінілбутираль-вінілацетат-вініловий спирт) та подовжувача макроланцюга 1,6-гексаметилендіаміну у структурі наповнених срібловмісним кремнеземним наноконкомпозитом $02AgCu$ у кількості 1% мас. Дослідження цитотоксичності здійснювали методом культури тканин на культурі тканин підшкірно-жирової клітковини лабораторних білих щурів в умовах *in vitro*. Дослідження біосумісності здійснювали гістологічними випробуваннями шляхом вивчення клітинних реакцій на імплантацію полімерних матеріалів в умовах *in vivo*. За результатами проведених досліджень культури тканин можна зробити висновок про відсутність гістотоксичного впливу досліджуваних ПУС і композиційних матеріалів на їх основі наповнених срібловмісним кремнеземним наноконкомпозитом на культивовані клітини. Гістологічними випробуваннями показано, що полімерні зразки мали досить високий ступінь біосумісності. Досліджувані композиційні матеріали наповнені срібловмісним кремнеземним наноконкомпозитом $02AgCu$ у кількості 1% мас. є безпечними та можуть бути запропоновані для використання в різних галузях медицини.

Ключові слова: композиційні матеріали, срібловмісний кремнеземний наноконкомпозит, культура тканин, імплантація, біосумісність.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота виконана в рамках виконання науково-дослідної роботи № 2.1.4.4-3 «Формування полімерів різної просторової будови та композицій на їх основі для іммобілізації біологічно активних сполук та лікарських речовин» (2019-2022 рр.), РК 0119U001237.

Вступ. Сучасні хірургія, урологія та гінекологія потребують розробки нових біологічно активних полімерних плівкоутворювальних матеріалів зі стійкими антимікробними властивостями, для виготовлення катетерів, дренажів та різноманітних плівкових покриттів, що будуть забезпечувати пригнічення інфекції в самому виробу та осередку запалення.

Поліуретансечовини (ПУС) є перспективними полімерними матеріалами медичного застосування. Відоме їх використання при створенні покриттів на рани [1], катетерів, протезів, штучних судин [2], антитромбогенних виробів [3], підтримуючих конструкцій для м'яких тканин [4], в інженерії кісткової тканини [5] тощо. Зокрема, на основі ПУС з фрагментами кополімеру N-вінілпіролідону з вінілацетатом та вініловим спиртом у структурі розроблено протимікробні плівкові матеріали з декаметоксином для лікування ран та опіків [6], плівкові матеріали з циклосерином, як покриття для лікування туберкульозу шкіри [7], антимікробні плівкові матеріали з тіаулінфумаратом для виготовлення дренажів в абдомінальній хірургії [8], композиційні матеріали з лізоцимом, для лікування некротичних ран [9, 10]. На основі ПУС з фрагментами кополімеру полі(вінілбутираль-вінілацетат-вініловий спирт) у структурі розроблено плівкові матеріали з лізоцимом [11, 12] як покриття для опікових ран [13].

Тому, враховуючи вищезазначене, на основі ПУС з фрагментами кополімеру полі(вінілбутираль-вінілацетат-вініловий спирт) та подовжувача макроланцюга 1,6-гексаметилендіаміну у структурі отримано композиційні матеріали, які містять у своєму складі срібловмісні кремнеземні наноконкомпозити різного складу ($02AgCu$; $AgCu$; $01Ag$) у кількості 0,1, 0,5 та 1 мас. % [14].

Вибір срібловмісних кремнеземних наноконкомпозитів – композитів, які містять оксиди металів і наночастинки металічного срібла [15] як біологічно активних наповнювачів обумовлений проявом антибактеріальних властивостей щодо найбільш поширених грампозитивних і грамнегативних бактерій.

Ключовими вимогами до полімерних матеріалів медичного призначення є біосумісність і відсутність токсичності. Тому, з метою можливості подальшого впровадження зазначених матеріалів в медичну практику, постала необхідність в проведенні доклінічних випробувань зазначених матеріалів.

Метою дослідження є дослідження цитотоксичності та біосумісності композиційних матеріалів, наповнених срібловмісним кремнеземним наноконкомпозитом $02AgCu$.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктами досліджень були композиційні матеріали на основі ПУС із фрагментами кополімеру полі(вінілбутираль-вінілацетат-вініловий спирт) і подовжувача макроланцюга 1,6-гексаметилендіаміну у структурі наповнених срібловмісним кремнеземним наноконкомпозитом $02AgCu$ у кількості 1% мас.

Метод культури тканин. Методом культури тканин здійснювали дослідження цитотоксичності на культурі тканин підшкірно-жирової клітковини лабо-

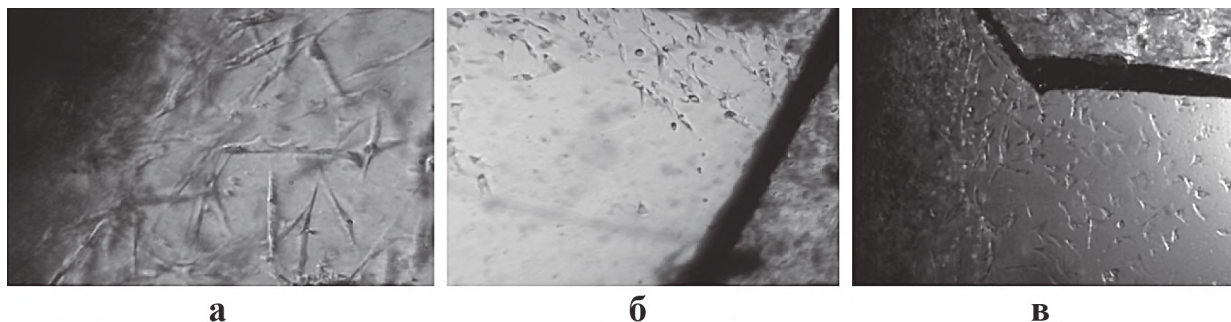


Рисунок 1 – Початок росту в культурі підшкірно-жирової клітковини щурів у флаконі з контролем (а), ПУС (б), та ПУС+02AgCu (в).

раторних білих щурів лінії Wistar, що за умов культивування викликає ріст фібробластичних і фібробластоподібних елементів [16]. Культуру тканин отримували шляхом експлантації шматочків підшкірно-жирової клітковини, які поміщали у флакони Карреля з живильною сумішшю, що складається з середовища 199 та курячої плазми. У флакони також вносили зразки досліджуваних полімерних матеріалів розміром 0,5x0,5 см, потім додавали ембріональний екстракт та одержували згусток плазми (тверду фазу). Після формування твердої фази (10-15 хв.) вносили живильне середовище 199 та сироватку великої рогатої худоби (рідка фаза). Культивування проводили за температури 37 °С. Як контроль використовували флакони з експлантатами підшкірно-жирової клітковини без додавання полімерних зразків. Зміну рідкої фази живильного середовища та дослідження росту та розвитку клітинних елементів підшкірної клітковини білих щурів як в контролі, так і в дослідних зразках проводили на 3, 7, 10 та 14 добу культивування. Культури досліджували під мікроскопом у нативному стані. З метою стандартизації характеру росту культур їх зони класифікували як компакту, сіткоподібну зони та зону мігруючих клітин, критерієм для виділення яких був характер розташування зростаючих фібробластичних елементів.

Гістологічні дослідження. Гістологічними дослідженнями здійснювали вивчення клітинних реакцій на імплантацію полімерних матеріалів, що є важливим моментом в оцінці їх біосумісності. В асептичних умовах були проведені модельні операції по імплантації зразків в організм експериментальних тварин – лабораторних щурів лінії Wistar (загальна кількість прооперованих тварин 40 штук, самці вагою 180-220 г). Після обробки операційного поля проводили субкутальну імплантацію полімерних зразків у вигляді монолітних плівок розміром 10x10x2 мм експериментальним тваринам в область міжлопаточного простору. Така область є оптимальною для імплантації та характеризується малою рухливістю і недоступністю для самої тварини, що зводить до мінімуму ризик її втру-

чання в експериментальний процес. Дослідні зразки полімерних матеріалів поміщалися в організм експериментальних тварин без додаткової фіксації, для виключення впливу шовного матеріалу на рановий процес. Всі маніпуляції з експериментальними тваринами проводилися під наркозом, а також із дотриманням принципів, викладених в Європейській конвенції по захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших цілей [17]. Тварин виводили з експерименту на 7, 14, 30 та 90 добу після операції шляхом гуманної евтаназії. Полімерні зразки з оточуючою сполучною тканиною фіксували в 10% розчині формаліну та заливали в парафін після проведеної гістологічної обробки за стандартною методикою [18, 19]. Зрізи товщиною 10-12 мкм забарвлювали гематоксиліном і еозином. Оцінка біосумісності, а саме тканинну реакцію організму експериментальних тварин і можливі зміни структури досліджуваних зразків після імплантації полімерних матеріалів проводилася шляхом світлооптичних досліджень та аналізу гістологічних мікропрепаратів на мікроскопах «Мікмед-2», Carl Zeiss Primo Star, мікрофотозйомка проводилася за допомогою відеоокуляру ScienceLab 3.0 та фотоапарату Canon PowerShot A640. Під час досліджень оцінювали як загальну реакцію організму експериментальних тварин на імплантацію полімерних зразків, так і структуру та морфологію оточуючих імплантат тканин.

Результати дослідження та їх обговорення. З метою дослідження можливої токсичності складових досліджуваних композиційних матеріалів на ріст та розвиток культури фібробластичних елементів були проведені дослідження методом культури тканин в умовах *in vitro*.

Перші ознаки росту, які проявлялися міграцією одиничних клітин витягнутої форми, а також одинично мігруючими фібробластичними елементами, що мали веретеноподібну та полігональну форму, як в контролі, так і у дослідних зразках спостерігалися до кінця 3 доби (рис. 1а, рис. 1в). Лише для зразка ПУС в

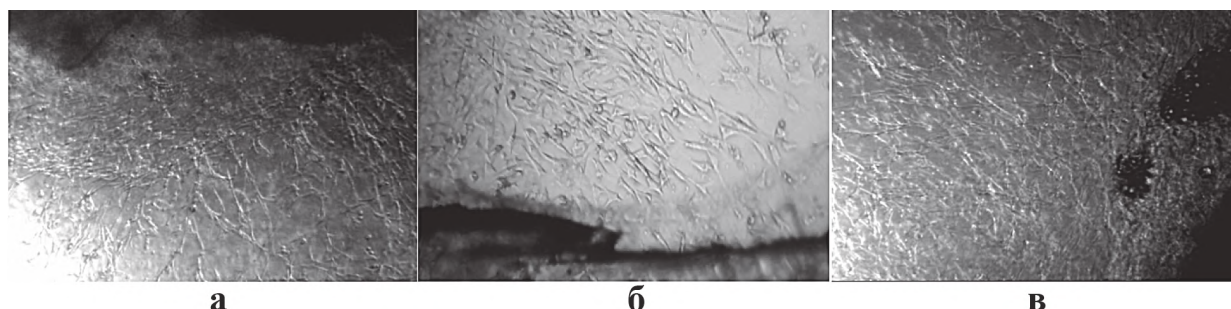
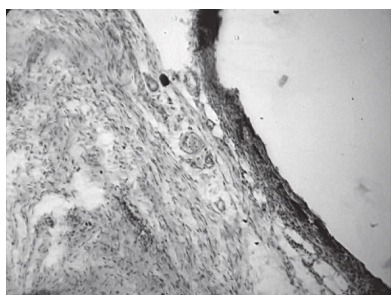
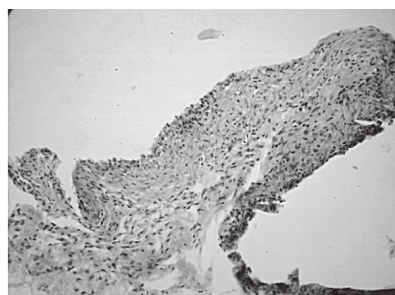


Рисунок 2 – Ріст культури фібробластів на 7 добу культивування у флаконі з контролем (а), ПУС (б), та ПУС+02AgCu (в).



а



б

Рисунок 3 – Сполучнотканинна капсула навколо імплантованого зразка ПУС (а) та ПУС+02AgCu (б) на 7 добу експерименту. Зб.: ×200.

первинній зоні полігональних клітин було значно більше, ніж у контролі (рис. 1б).

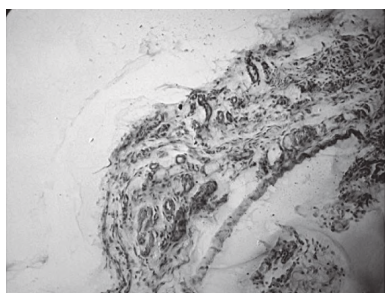
На 7 добу у флаконах Карреля зі зразками, як і в контролі, площі росту представлені трьома зонами: компактною, що складається із клітин веретеноподібної та полігональної форми, сіткоподібною, що складається з пучків і тяжів клітин, які розташовані сіткоподібно та зони мігруючих фібробластичних елементів (рис. 2а, рис. 2б, рис. 2в).

На 10 добу випробувань збільшилися зони компактної, сіткоподібної та зони мігруючих клітин. Для всіх дослідних зразків, крім ПУС спостерігається тканинноподібний ріст. У флаконах із зразком ПУС виявлено ознаки дегенеративних змін фібробластичних і фібробластоподібних клітин в компактній і сіткоподібній зонах. У флаконах з зразком ПУС+02AgCu значно збільшилася площа тканинноподібного росту фібробластичних елементів. Щільність фібробластів залишалася більш виражена в зоні компактного розташування клітин. Ознаки дегенеративних змін окремих клітин спостерігаються тільки в компактній зоні.

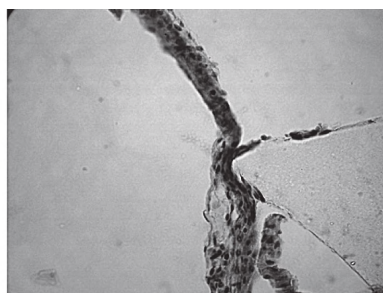
На 14 добу дослідження клітинна популяція вступає у фазу дегенерації, що проявляється в значній вакуолізації цитоплазми та зернистому переродженні її в клітинах як у дослідних, так і в контрольних зразках, що характерно для даного терміну цієї культури. Але у флаконах з полімерними зразками ПУС+02AgCu на 14 добу, незважаючи на дегенерацію культури, у зоні мігруючих фібробластів присутні нові веретеноподібні та полігональні клітини.

Таким чином було встановлено, що за 14 дів культивування в живильне середовище не надходило продуктів біодеградації з полімерних зразків і вони не виявляли токсичного ефекту на клітини тканинної культури.

При дослідженні біосумісності полімерних матеріалів особливе значення мають процеси, що від-



а



б

Рисунок 4 – Сполучнотканинна капсула навколо імплантованого зразка ПУС (а) та ПУС+02AgCu (1% мас.) (б) на 14 добу експерименту. Зб.: ×200.

бувають при імплантації в організм експериментальних тварин, аналіз клітинних реакцій та оцінка біологічної безпечності матеріалів при їх довгостроковому контакті з біологічним середовищем. Тому, проведені гістологічні дослідження в умовах *in vivo*.

Щоденна візуальна оцінка реакції епітелію на операційному місці показала, що рана загоювалася протягом 3 дів після операції без ознак запальної реакції. За морфологічними ознаками не було виявлено дегенеративних змін, пухлин, некрозу тканин ні у короткочасному, ні у віддаленому післяопераційному періоді. Протягом всього часу експерименту імплантовані матеріали пальпувалися через шкіру тварин. Імплантація досліджуваних зразків не викликала агресії та змін у поведінці експериментальних тварин.

Макроскопічно навколо імплантованих зразків на всіх термінах дослідження виявлялася сполучна тканина, яка була щільно з'єднана з поверхнею імплантованих зразків, за кольором і структурою не відрізнялася від тканин подалі від місця імплантації.

Основна увага при аналізі гістологічних мікропрепаратів зверталася на ознаки розвитку запальних явищ в зоні імплантації полімерних зразків на межі «імплантат – тканина».

На 7 добу після операції навколо зразків ПУС спостерігалася доволі незріла сполучнотканинна капсула, яка відмежовувала імплантований зразок полімерного матеріалу від оточуючих тканин. Клітинний склад капсули був представлений, в основному, лейкоцитами (поліморфноядерними нейтрофілами) та лімфоцитами (рис. 3а). На окремих ділянках спостерігалася більш зріла капсула, основними клітинними елементами якої були синтетично активні фібробласти, що знаходилися в товщі пучків колагенових волокон. На даному терміні дослідження також були представлені моноцитарно-макрофагальні елементи у великій кількості, що свідчило про активацію фагоцитарних процесів в зоні розміщення імплантаційного матеріалу. Спостерігалися кровоносні судини в незначній кількості без порушень мікроциркуляторних процесів.

На 7 добу навколо полімерних зразків ПУС+02AgCu також спостерігалася незріла сполучнотканинна капсула, як і навколо зразків без срібла. Характерною для даного терміну дослідження була інфільтрація круглоклітинними елементами, в основному лейкоцитами (поліморфноядерними нейтрофілами) та лімфоцитами (рис. 3б). Локально виявлялися вогнища моноцитарно-макрофагальних клітин. На окремих ділянках спостерігалася більш структурована капсула, що містила синтетично активні фібробласти між рядами пучків колагенових волокон, направлених вздовж імплантованого зразка. Кровоносні судини

бувають при імплантації в організм експериментальних тварин, аналіз клітинних реакцій та оцінка біологічної безпечності матеріалів при їх довгостроковому контакті з біологічним середовищем. Тому, проведені гістологічні дослідження в умовах *in vivo*.

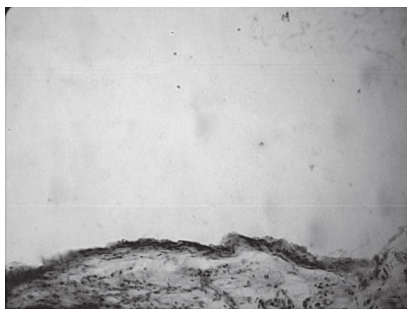
були представлені в незначній кількості без ознак порушень мікроциркуляторних процесів в них.

На 14 добу після операції навколо зразків ПУС спостерігалася тонка та зріла сполучнотканинна капсула. В порівнянні з попереднім терміном дослідження відбувалося зменшення інтенсивності нейтрофільної та лімфоцитарної інфільтрації. Інтенсивність моноцитарно-макрофагальної реакції також зменшувалася, що свідчило про активацію проліферативних процесів. На окремих ділянках капсули спостерігалися молоді форми фібробластичних елементів і фібробласти веретеноподібної форми, що лежали в товщі пучків зрілих колагенових волокон. Поряд з капсулою в оточуючій сполучній тканині спостерігалася велика кількість кровоносних судин, в порівнянні з попереднім терміном дослідження, їх просвіт збільшувався, але всі вони характеризувалися нормальною мікроциркуляцією. На незначному осередку такої сполучної тканини поряд з капсулою характерною була підвищена проникність капілярів та венул, що призводило до локальної геморагічної ексудації (рис. 4а).

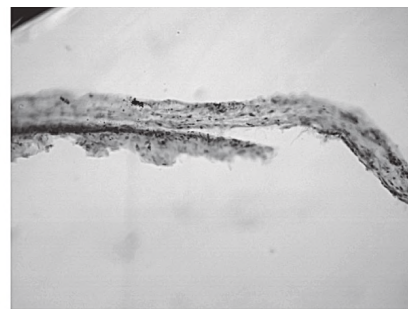
На 14 добу навколо полімерних зразків ПУС+02AgCu спостерігалася формування більш тонкої та зрілої сполучнотканинної капсули, ніж на попередньому терміні дослідження. Капсула складалася з синтетично активних фібробластів, що знаходилися в товщі пучків зрілих колагенових волокон, направлених вздовж імплантованого зразка. На невеликих окремих ділянках спостерігалася менш зріла та структурована капсула, клітинний склад якої був представлений незначними вогнищами лейкоцитів (поліморфноядерних нейтрофілів), а також моноцитарно-макрофагальних клітин з фагоцитарною активністю (рис. 4б). Кількість кровоносних судин була незначною, мікроциркуляторні процеси в них були без порушень.

Через 30 днів після операції навколо зразка ПУС спостерігалася достатньо зріла сполучнотканинна капсула, клітинний склад якої був представлений локальними осередками моноцитарно-макрофагальних елементів, незначною лейкоцитарною та лімфоцитарною інфільтраціями. На інших ділянках капсули спостерігалися пучки зрілих колагенових волокон та фібробластів веретеноподібної форми між ними (рис. 5а), що активно синтезували колаген. Спостерігалася редукція кровоносних судин в порівнянні з попереднім терміном дослідження. Мікроциркуляторні процеси в судинах були без порушень.

Через 30 днів навколо зразка ПУС+02AgCu спостерігалася сполучнотканинна капсула, що була різною за ступенем зрілості на всій своїй протяжності. На одних ділянках вона складалася з пучків зрілих колагенових волокон і синтетично активних фібробластів



а



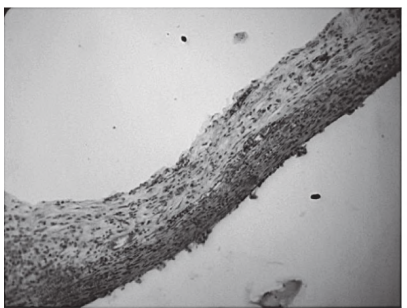
б

Рисунок 5 – Сполучнотканинна капсула навколо імплантованого зразка ПУС (а) та ПУС+02AgCu (б) на 30 добу експерименту. 36.: ×200.

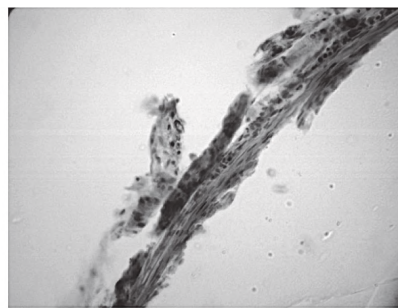
між ними, орієнтованих вздовж імплантованого матеріалу. На інших ділянках капсули спостерігалася круглоклітинна інфільтрація, представлена, в основному лейкоцитами, виражена моноцитарно-макрофагальна реакція, а також молоді форми фібробластичних елементів та малодиференційовані клітинні елементи (рис. 5б). Інтенсивність моноцитарно-макрофагальної реакції була високою, що свідчило, ймовірно, про активний фагоцитарний процес в зоні розміщення імплантату. Кровоносні судини були представлені в незначній кількості, без порушень мікроциркуляторних процесів в них.

Через 90 днів після операції навколо імплантованого зразка ПУС спостерігалася збільшення товщини та щільності сполучнотканинної капсули за рахунок активного синтезу фібробластами колагенових волокон та інших компонентів екстрацелюлярного матриксу. При цьому сама капсула мала високий ступінь зрілості по всій своїй протяжності та складалася з пучків хвилястих колагенових волокон з веретеноподібними фібробластами між ними (рис. 6а). На окремих ділянках капсули характерними були незначні осередки круглоклітинної інфільтрації, в основному, лейкоцитарної, та яскраво виражена макрофагальна реакція. На даному терміні дослідження кількість кровоносних судин була незначною. Мікроциркуляторні процеси в судинах були без порушень.

Через 90 днів навколо імплантованого зразка ПУС+02AgCu спостерігалася доволі тонка і зріла сполучнотканинна капсула, що складалася з пучків хвилястих колагенових волокон та веретеноподібних фібробластів між ними (рис. 6б). На окремих ділянках капсули характерними були незначні осередки круглоклітинної інфільтрації, як і навколо зразків ПУС без срібла. Кровоносні судини були представлені в незначній кількості з нормальною мікроциркуляцією.



а



б

Рисунок 6 – Сполучнотканинна капсула навколо імплантованого зразка ПУС (а) та ПУС+02AgCu (б) на 90 добу експерименту. 36.: ×200.

Отже, проведені гістологічні дослідження показали, що імплантатія досліджуваних зразків в організм експериментальних тварин приводило до розвитку клітинних реакцій типових для асептичного запалення, без ознак гострих запальних та інших реактивних процесів. Імплантатія композиційних матеріалів ПУС+02AgCu призводила до схожих за своєю морфологією клітинних реакцій, що розвивалися навколо зразків ПУС. Клітинні реакції на імплантатію досліджуваних зразків вже на ранніх термінах дослідження були направлені на формування «бар'єрних» сполучнотканинних капсул і були незначними за своєю інтенсивністю. Спостерігалися, в основному, локальні круглоклітинні інфільтрації. Ступінь дозрівання капсул залишався невисоким на початкових термінах спостереження. Але спостерігалася загальна тенденція до формування тонких і зрілих капсул навколо ПУС, так і навколо ПУС+02AgCu, що складалися з фібробластів та пучків зрілих колагенових волокон, розташованих вздовж імплантованих зразків. При цьому майже на всіх термінах дослідження спостерігалася зростання кількості мононуклеарних клітин (макрофагів), направлене на реалізацію захисно-компенсаторних

механізмів організму у відповідь на присутність чужорідного тіла. Встановлено, що срібловмісний кремнеземний нанокондит в складі полімерних зразків суттєво не впливали на перебіг клітинних реакцій при імплантатії, та суттєво не відрізнялися від клітинних реакцій навколо полімерних зразків без срібловмісних нанокондитів.

Висновки. Таким чином, за результатами досліджень культури тканин можна зробити висновок про відсутність гістотоксичного впливу досліджуваних матеріалів ПУС і ПУС+02AgCu (1% мас.) на культивовані клітини. Гістологічними випробуваннями показано, що полімерні зразки мали досить високий ступінь біосумісності та поступово біоінтегрувалися в підшкірну сполучну тканину у вигляді ареактивної інкапсуляції сполучною тканиною. Досліджувані композиційні матеріали можуть бути запропоновані для використання в різних галузях медицини.

Перспективи подальших досліджень. Оскільки за результатами доклінічних досліджень композиційні матеріали наповнені срібловмісним кремнеземним нанокондитом є безпечними, в подальшому планується проведення клінічних випробувань.

Література

- Liu X, Niu Y, Chen KC, Chen S. Rapid hemostatic and mild polyurethane-urea foam wound dressing for promoting wound healing. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 2017;71:289-297. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.10.019>.
- Burke A, Hasirci N. Polyurethanes in Biomedical Applications. *Advances in Experimental Medicine and Biology.* 2004;553:83. DOI: https://doi.org/10.1007/978-0-306-48584-8_7.
- Caracciolo PC, Queiroz AAA, Higa OZ, Buffa F, Abraham GA. Segmented poly(esterurethane urea)s from novel urea–diol chain extenders: Synthesis, characterization and in vitro biological properties. *Acta Biomaterialia.* 2008;4(4):976-988. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2008.02.016>.
- Hong Y, Guan J, Fujimoto KL, Hashizume R, Pelinescu AL, Wagner WR. Tailoring the degradation kinetics of poly(ester carbonate urethane) urea thermoplastic elastomers for tissue engineering scaffolds. *Biomaterials.* 2010;31(15):4249-4258. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.02.005>.
- Zieleniewska M, Auguscik M, Prociak A, Rojek P, Ryszkowska J. Polyurethane-urea substrates from rapeseed oil-based polyol for bone tissue cultures intended for application in tissue engineering. *Polymer Degradation and Stability.* 2014;108:241-249. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2014.03.010>.
- Rozhnova R, Karpenko O, Rudenychuk T, Galatenko N, Kiselova T. Synthesis film materials with decametoxine on the basis of polyurethaneureas, which containing in the structure fragments of a copolymer of N-vinylpyrrolidone with vinylalcohol. *Naukovi Zapysky NaUKMa.* 2016;183:54-59. [in Ukrainian].
- Rudenychuk T, Rozhnova R, Galatenko N, Nechaeva L. Study of Biodegradation of film materials with D-Cycloserine based on polyurethaneurea and the dynamics of drug release. *American Journal of Polymer Science and Technology.* 2019;5(4):97-104. DOI: <https://doi.org/10.11648/j.ajpst.20190504.11>
- Rudenychuk TV, Rozhnova RA, Galatenko NA, Kiselova TO. Plivkovi materialy z tiamulin fumaratom na osnovi poliuretansechovyn z frahmentamy kopolimeru n-vinilpirolidonu z vinilovym spyrtom u yikh strukturі. *Visnyk Odeskoho Natsionalnoho Universytetu.* 2016;21(3(59)):67-76. DOI: [http://dx.doi.org/10.18524/2304-0947.2016.3\(59\).79591](http://dx.doi.org/10.18524/2304-0947.2016.3(59).79591). [in Ukrainian].
- Stashenko KV, Rudenychuk TV, Rozhnova RA, Galatenko NA, Narazhaiko LF. Biosumisni kompozytsiyni materialy z lizotsymom na osnovi poliuretansechovyn z frahmentamy kopolimeru n-vinilpirolidonu, vinilatsetu ta vinilovoho spyrta. *Visnyk Odeskoho Natsionalnoho Universytetu.* 2018;23(2(66)):46-56. DOI: [http://dx.doi.org/10.18524/2304-0947.2018.2\(66\).132042](http://dx.doi.org/10.18524/2304-0947.2018.2(66).132042). [in Ukrainian].
- Stashenko KV, Rudenychuk TV, Rozhnova RA, Kiselova TO. Development of composite materials based on polyurethaneurea with fragments of a copolymer of N-vinylpyrrolidone with vinyl alcohol and lysozyme. *Voprosy khimii i khimicheskoi tekhnologii.* 2018;2:115-121. [in Ukrainian].
- Stashenko KV, Rudenychuk TV, Galatenko NA, Rozhnova RA. Syntez i vlastyvoli kompozytsiynykh materialiv na osnovi poliuretansechovyn z frahmentamy kopolimeru polivinilbutyraly (vinilatsetatu z vinilovym spyrtom) ta lizotsymom. *Voprosy khimii i khimicheskoi tekhnologii.* 2020;1:71-79. DOI: <http://dx.doi.org/10.32434/0321-4095-2020-128-1-71-79>. [in Ukrainian].
- Stashenko KV, Vislohuzova TV, Galatenko NA, Rozhnova RA. Development of composite materials based on polyurethane ureas with fragments of a copolymer of poly(vinyl butyral, vinyl acetate and vinyl alcohol) and lysozyme. *Polymer Journal.* 2020;2:126-136. DOI: <https://doi.org/10.15407/polymerj.42.02.136>. [in Ukrainian].
- Stashenko KV, Rudenychuk TV, Rozhnova RA, Galatenko NA, Nechaeva LYu. Study of the influence of the model biological environment on the structure and properties of polyurethaneureas with lysozyme, which contain fragments of copolymer of vinylbutyral, vinyl acetate and vinyl alcohol in the structure. *Polymer Journal.* 2019;41(3):198-205. DOI: <https://doi.org/10.15407/polymerj.41.03.198>. [in Ukrainian].
- Vislohuzova TV, Rozhnova RA, Bogatyrov VM. Film materials filled with biocidal silver-containing silica nanocomposites. *Ukrainian Conference with International Participation "Chemistry, physics and technology of surface"; 2020 October 21-23; Kyiv; 2020. p. 190.*
- Bogatyrov VM, Gun'ko VM, Galaburda MV, Oranska OI, Petryk IS, Tsyganenko KS, et al. The effect of photoactivated transformations of Ag⁺ and Ag⁰ in silica fillers on their biocidal activity. *Research on Chemical Intermediates.* 2019;45(8):3985-4001. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11164-019-03885-2>.
- Lebediev YeV, Konstantinov YuB, Galatenko NA, Yatsenko VP, Rozhnova RA, Maksymenko VB. Toksykologho-hihienichni ta Doklinichni Doslidzhennia Polimernykh Materialiv i Vyrobiv na yikh Osnovi Medychnoho Pryznachennia. *Kyiv: Naukova dumka; 2009. 99 s.* [in Ukrainian].
- Council of Europe. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. *Strasbourg: Council of Europe; 1986. 53 p.*
- Sarkisov DS, Petrova YuL. *Mikroskopicheskaia tekhnika.* Moskva: Meditsina; 1996. 542 s.
- Bagriy MM, Dibrova VA, Popadynets OG, Grischuk MI. *Metodyky morfolohichnykh doslidzen.* Vinnitsa: Nova Knyha; 2016. 328 s. [in Ukrainian].

ВИВЧЕННЯ БІОСУМІСНОСТІ КОМПОЗИЦІЙНИХ МАТЕРІАЛІВ, НАПОВНЕНИХ СРІБЛОВМІСНИМ КРЕМНЕЗЕМНИМ НАНОКОМПОЗИТОМ

Віслогузова Т. В., Кулеш Д. В., Рожнова Р. А., Галатенко Н. А., Наражайко Л. Ф.

Резюме. Сучасна медицина потребує нових полімерних матеріалів для виготовлення катетерів, дренажів і різноманітних плівкових покриттів зі стійкими антимікробними властивостями, що будуть забезпечувати пригнічення інфекції в самому виробу та осередку запалення. Оскільки основними вимогами до полімерних матеріалів медичного призначення є біосумісність і відсутність токсичності, постає необхідність у проведенні доклінічних випробувань.

Метою роботи є дослідження цитотоксичності та біосумісності композиційних матеріалів наповнених срібловмісним кремнеземним наноконкомпозитом O_2AgCu .

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктами дослідження були композиційні матеріали на основі поліуретансечовин (ПУС) з фрагментами кополімеру полі(вінілбутираль-вінілацетат-вініловий спирт) та подовжувача макроланцюга 1,6-гексаметилендіаміну у структурі наповнених срібловмісним кремнеземним наноконкомпозитом O_2AgCu у кількості 1% мас. Дослідження цитотоксичності здійснювали методом культури тканин на культурі тканин підшкірно-жирової клітковини лабораторних білих щурів в умовах *in vitro*. Дослідження біосумісності здійснювали гістологічними випробуваннями шляхом вивчення клітинних реакцій на імплантацію полімерних матеріалів в умовах *in vivo*.

Результати. За результатами проведених досліджень культури тканин можна зробити висновок про відсутність гістотоксичного впливу досліджуваних ПУС і композиційних матеріалів на їх основі наповнених срібловмісним кремнеземним наноконкомпозитом на культивовані клітини. Гістологічними випробування показало, що полімерні зразки мали досить високий ступінь біосумісності.

Висновки. Досліджувані композиційні матеріали наповнені срібловмісним кремнеземним наноконкомпозитом O_2AgCu у кількості 1 % мас. є безпечними та можуть бути запропоновані для використання в різних галузях медицини.

Ключові слова: композиційні матеріали, срібловмісний кремнеземний наноконкомпозит, культура тканин, імплантація, біосумісність.

STUDY OF BIOSCOMPATIBILITY OF COMPOSITE MATERIALS FILLED WITH SILVER-CONTAINING SILICA NANOCOMPOSITE

Vislohuza T. V., Kuliesh D. V., Rozhnova R. A., Galatenko N. A., Narazhayko L. F.

Abstract. Modern medicine needs new polymer materials for the manufacture of catheters, drains and a variety of film coatings with resistant antimicrobial properties that will ensure suppression of infection in the product and the focus of inflammation. Since the main requirements for medical polymer materials are biocompatibility and non-toxicity there is a need for preclinical tests.

The aim of the work is to study the cytotoxicity and biocompatibility of composite materials filled with silver-containing silica nanocomposite O_2AgCu .

Object and methods of research. The objects of the study were composite materials based on polyurethaneureas (PUU) with copolymer fragments of poly(vinyl butyral-vinyl acetate-vinyl alcohol) and macrochain extender 1,6-hexamethylenediamine in the structure filled with silver-containing silica nanocomposite O_2AgCu in the amount of 1 wt. %. Cytotoxicity studies were performed by tissue culture method on the culture of tissue of subcutaneous fatty tissue of white laboratory rats *in vitro*. Biocompatibility studies were performed by histological tests by studying cellular responses to the implantation of polymer materials *in vivo*.

Results. According to the results of tissue culture studies it can be concluded that there is no histotoxic effect of the investigated PUU and composite materials on their basis filled with silver-containing silica nanocomposite on cultured cells. Histological tests showed that the polymer samples had a fairly high degree of biocompatibility.

Conclusions. The investigated composite materials filled with silver-containing silica nanocomposite O_2AgCu in the amount of 1 wt. % are safe and can be proposed for use in various branches of medicine.

Key words: composite materials, silver-containing silica nanocomposite, tissue culture, implantation, biocompatibility.

ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Vislohuza T. V.: 0000-0002-4071-4329^{BD}

Kuliesh D. V.: 0000-0002-0484-7853^B

Rozhnova R. A.: 0000-0003-3284-3435^{AE}

Galatenko N. A.: 0000-0002-5961-5750^{AF}

Narazhayko L.F.: 0000-0001-7031-9998^B

Конфлікт інтересів:

Автори статті підтверджують відсутність конфлікту інтересів.

Адреса для кореспонденції

Віслогузова Тетяна Володимирівна

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України

Адреса: Україна, 02160, Київ, Харківське шосе, 48

Тел.: 0961683675

E-mail: rudenchyk@gmail.com

А – концепція роботи та дизайн, В – збір та аналіз даних, С – відповідальність за статичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Стаття надійшла 16.03.2022 року
Стаття прийнята до друку 06.08.2022 року