

indexes of mating, conception, fertility, pregnancy, and the length of precoital interval were taken into account. The studies were conducted in accordance with the recommendations of the Bioethics Commission and the standard operating procedures of the Center, within the Good Laboratory Practice (GLP) requirements.

Analysis of the study's results have shown that the maximum LCT dose causes systemic toxic effects on males and a modulating effect on the reproductive system of males and females, characterized by a decrease in body weight and impaired motility of sperm in males and a decrease of conception and fertility indexes and average weight of fetuses in females. Thus, the males were more sensitive to the systemic toxic effect of the test compound, and the females – to the damaging effect of this pesticide on the reproductive parameters. Within the studied range of doses in the experiment on the males and female of Wistan Han rats, no-observed effect level (NOEL) of LCT is the dose of 0.3 mg/kg of body weight; the low-observed effect level (LOEL) is 3 mg/kg of body weight.

**Key words:** reproductive toxicity, modulating effect, lambda-cyhalothrin, male and female Wistar Han rats.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.  
Стаття надійшла 20.08.2019 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2019-3-152-131-137

УДК 678.664; 57.086.83; 616-001.46

*Кулеш Д. В., Сташенко К. В., Наражайко Л. Ф., Гриценко В. П., Закашун Т. Є.*

### ДОСЛІДЖЕННЯ БІОДЕГРАДАЦІЇ ТА БІОСУМІСНОСТІ ПОЛІМЕРНИХ ПЛІВКОВИХ МАТЕРІАЛІВ З ЛІЗОЦИМОМ

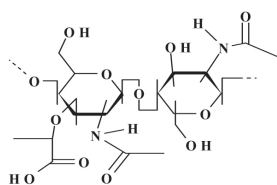
Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України (м. Київ)

d\_kulesh@ukr.net

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Робота виконана в рамках виконання науково-дослідної роботи №2.1.1.5-3 «Розробка наукових основ створення нових біологічно активних полімерних систем з пролонгованою гідролітичною активністю на основі функціоналізованих уретановмісних носіїв різної просторової будови», РК 0117U004028.

**Вступ.** Останнім часом синтез нових біосумісних полімерних матеріалів та створення на їх основі виробів медичного призначення є перспективним напрямком досліджень. Ключовими вимогами, що пред'являються до таких матеріалів, є біосумісність, відсутність токсичності та їх ефективне функціонування протягом всього терміну використання. Крім цього, медичний виріб на полімерній основі, в залежності від призначення, місця та терміну його застосування, повинен мати комплекс визначених фізико-механічних, хімічних та біологічних властивостей, які можуть мати вирішальне значення в безпечності застосування такого медичного виробу. Особливий інтерес викликають полімерні матеріали з пролонгованою біологічною активністю [1-5].

На нашу думку, поліуретансечовини (ПУС) можуть бути перспективними полімерними матеріалами для медичного застосування. Так, за даними літератури, ПУС використовують при створенні покриттів, що сприяють заживленню ран та опіків [6], при виготовленні контактних лінз [7], катетерів, протезів, судин [8] та антитромбогенних виробів [9]. Відомо, що ПУС є біосумісними матеріалами, що володіють високими фізико-механічними властивостями та проявляють стабільність до біодеградації [10-11]. Як лікарська речовина для іммобілізації на ПУС може бути перспективним фермент класу гідролаз – лізоцим, який є антибактеріальним агентом, що руйнує клітинні оболонки бактерій шляхом гідролізу пептидних зв'язків та володіє гідролітичною активністю [12]:



Лізоцим застосовують при лікуванні опіків, гнійних процесів, відмороження, кон'юнктивітах, ерозії роговиці ока, афтозних стоматитах та інших інфекційних захворюваннях [13].

**Метою дослідження** було дослідження біодеградації та біосумісності гідрофільних поліуретансечовин з лізоцимом в умовах *in vitro* та *in vivo*.

**Об'єкт і методи дослідження.** *Матеріали.* Для проведення біологічних досліджень було отримано ряд ПУС, синтезованих за різного відсоткового співвідношення подовжувача макроланцюга до кополімеру N-вінілпіролідону – вінілового спирту (ВП-ВС). Реакцію між діізоціанатним форполімером (ДФП) та гексаметилендіаміном (ГМДА) проводили до досягнення різного вмісту вільних NCO-груп (30, 50, 70 % конверсії). Наповнення синтезованих ПУС лізоцимом у кількості 1 мас. % здійснювали шляхом механічного перемішування полімерної основи та розчину лізоциму в диметилацетаміді (ДМАА). В роботі [14] наведено детальний опис отримання даних композиційних матеріалів та їх фізико-механічні дослідження, за результатами яких найкращими характеристиками володіють ПУС, синтезовані за співвідношення ГМДА до ВП-ВС як 70:30, тому дані полімерні матеріали були синтезовані для проведення комплексу біологічних досліджень.

*Метод дослідження біодеградації після інкубації в модельному середовищі.* Зразки композиційних матеріалів у вигляді смужок розміром 5 x 0,5 см поміщали в стерильні бюкси з 25 мл модельного середовища і витримували в термостаті за температури (37±1)°C протягом 1, 3 і 6 місяців, після чого полімерні зразки виймали, промивали дистильованою водою та сушили до постійної ваги за температури 70°C. Як модельне середовище було обране біологічне середовище 199 (БС 199) виробництва BioTestLab, Україна з рН 7,4-7,7. Біодеградацію зразків ПУС із фрагментами кополімеру ВП-ВС та іммобілізованим лізоцимом оцінювали за зміною фізико-механічних показників та за допомогою методу ІЧ-спектроскопії через 1, 3 та 6 місяців їх інкубації. Міцність при роз-

риві ( $\sigma$ , МПа), синтезованих ПУС визначали на розривній машині P5 згідно з ГОСТ 25.601-80.

Міцність при розриві розраховували за формулою:

$$\sigma = \frac{F_{\max}}{b \cdot h} \quad (1)$$

де,  $F_{\max}$  – максимальне навантаження, що пере-  
дує руйнуванню випробного зразка, Н;

$b$  – ширина випробного зразка, мм;

$h$  – товщина випробного зразка, мм.

ІЧ-спектри поглинання в області 650-4000  $\text{см}^{-1}$  були зняті на ІЧ-спектрометр з Фур'є перетворенням «Tensor-37» фірми «Bruker» методом порушеного повного внутрішнього відбиття (ППВВ) з використанням призми-трапеції кристалу алмаза (число відображень  $N = 1$ , кут падіння  $\phi = 39^\circ$ ).

**Метод культури тканин.** Методом культури тканин здійснювали дослідження біосумісності зазначених матеріалів на культурі тканин підшкірно-жирової клітковини білих лабораторних щурів лінії Wistar, що за умов культивування викликає ріст фібробластичних і фібробластоподібних елементів [15]. Культуру тканин отримували шляхом експлантації шматочків підшкірно-жирової клітковини, які поміщали у флакони Карреля з живильною сумішшю, що складалася з БС 199 і курячої плазми. У флакони вносили витяжки зразків випробних полімерних матеріалів, потім додавали ембріональний екстракт та отримували згусток плазми (тверду фазу). Після формування твердої фази вносили БС 199 та сироватку великої рогатої худоби (рідка фаза). Культивування проводили за температури  $37^\circ\text{C}$ . Як контроль використовували флакони з експлантами підшкірно-жирової клітковини без додавання екстрактів з полімерних зразків.

Зміну рідкої фази живильного середовища та дослідження росту і розвитку клітинних елементів підшкірної клітковини білих щурів як в контрольній, так і в випробних групах проводили через 3, 7, 10 та 14 діб культивування. Культури досліджували під мікроскопом у нативному стані. З метою стандартизації характеру росту культур їх зони класифікували як компактну, сіткоподібну зони та зону мігруючих клітин, критерієм для виділення яких був характер розташування зростаючих фібробластичних елементів.

**Імплантаційний тест та гістологічні дослідження.** Вивчення клітинних реакцій на імплантацію потенційних матеріалів медичного застосування є важливим моментом в оцінці їх біосумісності. В ході імплантаційного тесту та гістологічних досліджень оцінювалася як загальна реакція організму експериментальних тварин на імплантацію полімерних зразків, так і структура та морфологія оточуючих імплантат тканин.

Експеримент проводився на 24 білих лабораторних щурах лінії Wistar, вагою 180-230 г. Всі маніпуляції з експериментальними тваринами проводилися з дотриманням принципів, викладених в Європейській конвенції по захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей [16]. Імплантаційний тест виконували в асептичних умовах, після обробки операційного поля проводили імплантацію випробних зразків розміром  $10 \times 10 \times 2$  мм субкутально експериментальним тваринам в область міжлопаточного простору. Така область характеризується малою рухливістю і недо-

ступністю для самої тварини, що зводили до мінімуму ризик її втручання в експериментальний процес. Дослідні зразки полімерних матеріалів поміщалися в організм експериментальних тварин без додаткової фіксації, для виключення впливу шовного матеріалу на рановий процес.

Тварин виводили з експерименту через 7, 14 та 30 діб після операції шляхом передозування ефіром. Випробні матеріали (полімерні зразки з оточуючою сполучною тканиною) фіксували в 10% розчині формаліну та заливали в парафін після проведеної гістологічної обробки за стандартною методикою [17]. Зрізи товщиною 10-15  $\mu\text{м}$  забарвлювали гематоксином і еозином. Тканинну реакцію організму експериментальних тварин і можливі зміни структури випробних зразків полімерних матеріалів після імплантації вивчали методом світлової мікроскопії шляхом аналізу гістологічних мікропрепаратів на мікроскопі Carl Zeiss Primo Star.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Дослідження біодеградації. В результаті проведеної роботи було досліджено біодеградацію полімерних композицій на основі ПУС, синтезованих за співвідношення ГМДА:ВП-ВС як 70:30. Шляхом випробувань фізико-механічних властивостей ПУС після їх інкубації в БС 199 вже через 1 місяць спостерігалось зниження значення міцності при розриві (рис. 1). Після 3 місяців інкубації в БС 199 всіх випробних зразків спостерігалось деяке підвищення фізико-механіч-

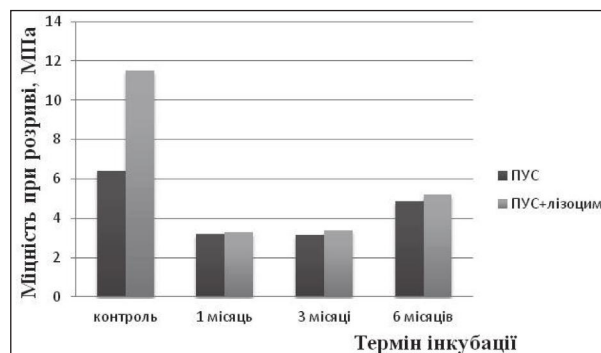


Рисунок 1 – Зміна міцності при розриві зразків ПУС до та після їх інкубації в БС 199.

них показників порівняно з 1 місяцем інкубації та з наступним їх збільшенням після 6 місяців інкубації. Таким чином, зниження значення міцності при розриві, в порівнянні зі значеннями міцності при розриві до інкубації, свідчило про те, що під впливом БС 199 відбувалися процеси біодеградації зразків ПУС як з лізоцимом, так і без лізоциму.

З метою дослідження впливу лізоциму на процеси біодеградації випробного матеріалу були проведені ІЧ-спектроскопічні дослідження. За даними ІЧ-спектроскопії на спектрах ПУС, синтезованих за співвідношення ГМДА:ВП-ВС як 70:30 без лізоциму, під дією БС 199 та зі збільшенням терміну інкубації в БС 199 спостерігалось збільшення інтенсивності смуги поглинання  $3443 \text{ см}^{-1}$  валентних коливань NH-груп вільних від водневих зв'язків, зменшення інтенсивності смуги поглинання  $\nu_{\text{C=O}}$   $1727$  та  $1660 \text{ см}^{-1}$  (рис. 2). При цьому спостерігалось звуження та незначне збільшення смуги  $\nu_{\text{NH-зв'яз}}$   $3315 \text{ см}^{-1}$ , що вказувало на перерозподіл водневих зв'язків з утворення більш досконалої сітки фізичних взаємодій.

За даними ІЧ-спектроскопії для ПУС, синтезованих за співвідношення ГМДА:ВП-ВС як 70:30, з лізоцимом зі збільшенням часу їх перебування в БС 199 спостерігалось збільшення інтенсивності смуги поглинання  $\nu_{\text{NH}}^{\text{вільн}}$  3443  $\text{cm}^{-1}$  та  $\nu_{\text{NH}}^{\text{-зв'яз}}$  3315  $\text{cm}^{-1}$  і зменшення інтенсивності смуги поглинання  $\nu_{\text{C=O}}$  1727  $\text{cm}^{-1}$  (рис. 3). При цьому спостерігалось зменшення інтенсивності смуги поглинання  $\nu_{\text{C=O}}$  1660  $\text{cm}^{-1}$  та її зсув в бік менших частот з максимумом при 1643  $\text{cm}^{-1}$ .

Отже, згідно з результатами фізико-механічних та ІЧ-спектроскопічних досліджень ПУС з лізоцимом та без лізоциму, які містять у своїй структурі фрагменти кополімеру ВП-ВС, відбувався процес їх біодеградації який супроводжувався структуруванням полімерної матриці за рахунок перерозподілу міжмолекулярних водневих зв'язків. Лізоцим в структурі випробних зразків призводив до прискорення біодеградації полімерної матриці за рахунок гідролізу складних естерних зв'язків уретанового фрагменту, що підтверджувалось зменшенням інтенсивності  $\nu_{\text{C=O}}$  1727  $\text{cm}^{-1}$  зі збільшенням терміну інкубації в модельному середовищі.

*Дослідження методом культури тканин.* З метою дослідження можливої токсичності складових випробних композиційних матеріалів та впливу лізоциму на ріст та розвиток культури фібробластичних елементів були проведені дослідження методом культури тканин в умовах *in vitro*.

Об'єктами досліджень були полімерні композиції за співвідношення ГМДА:ВП-ВС як 70:30 з лізоцимом та без лізоциму. Як контроль використовували флакони з експлантатами підшкірно-жирової клітковини без додавання екстрактів полімерних зразків.

Перші ознаки росту, які проявлялися міграцією одиничних клітин витягнутої форми, а також одинично мігруючими фібробластичними елементами, що мали веретеноподібну форму, як в контролі, так і у флаконах з екстрактом випробних зразків спостерігалися на 3 добу культивування. У флаконах з екстрактом зі зразків ПУС без лізоциму також зустрічалися одиничні клітини неправильної полігональної форми. На 5-7 добу дослідження в контролі навколо експлантатів формувалися 3 зони росту: компактна, що складалася з клітин веретеноподібної та полігональної форми, сіткоподібна, яка формувалася з пучків і тяжів,

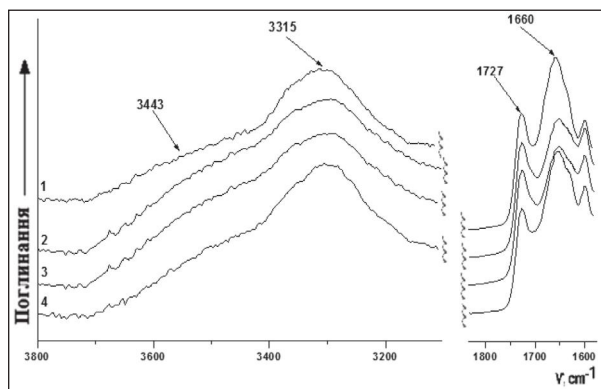


Рисунок 2 – ІЧ-спектри ПУС на основі ДФП+ГМДА+ВП-ВС (70:30) без лізоциму до (1) та після інкубації в БС 199 протягом 1 (2), 3 (3) та 6 (4) місяців.

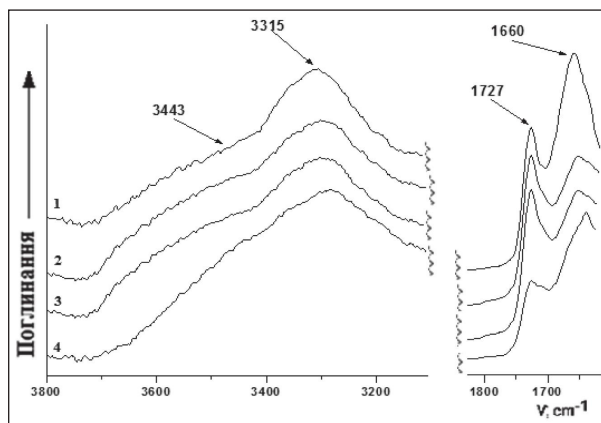


Рисунок 3 – ІЧ-спектри ПУС на основі ДФП+ГМДА+ВП-ВС (70:30) з лізоцимом до (1) та після інкубації в БС 199 протягом 1 (2), 3 (3) та 6 (4) місяців.

що були розташовані сіткоподібно, та зона одиничних мігруючих елементів. Для випробних зразків ПУС з лізоцимом на 5-7 добу дослідження також було характерно формування 3-х зон росту. Але слід зазначити, що у флаконах з екстрактом зразків ПУС з лізоцимом, клітини розташовувалися більш компактно, формуючи тяжі, площі зон росту були значно ширше в порівнянні з контролем, спостерігався тканинноподібний ріст (рис. 4, а). У флаконах з екстрактом зі зразків ПУС



а) зразок ПУС з лізоцимом



б) контроль

Рисунок 4 – Ріст культури тканин фібробластів на 7 добу культивування.  $\times 100$ .



без лізоциму та в контролі тканинноподібного росту не спостерігалось (рис. 4, б).

На 10 добу після експлантації у флаконах контролю та у флаконах з екстрактом зі зразків з лізоцимом збільшувалися площі тканинноподібного росту клітин. На даному терміні дослідження в компактній зоні характерними були клітини з вакуолізацією і деструкцією цитоплазми. На 14 добу дослідження у флаконах контролю та флаконах з екстрактом зі зразків ПУС без лізоциму клітинна популяція вступала у фазу дегенерації, що виявлялося в значній вакуолізації цитоплазми та її зернистому переродженні в клітинах. У флаконах, що містили екстракти зі зразків ПУС з лізоцимом на 14 добу культивування кількість клітин, що дегенерували, продовжувала збільшуватися, як і у флаконах контролю та флаконах з екстрактом зі зразків ПУС без лізоциму. Але, при цьому, в зоні мігруючих фібробластів спостерігалось формування нових веретеноподібних та полігональних клітин.

Таким чином, проведені дослідження методом культури тканин свідчать про те, що культура фібробластів, як в контролі так і при культивуванні тканин з екстрактом з випробних зразків перебувала в стадії стабільного росту. У флаконах з екстрактом зі зразків ПУС з лізоцимом спостерігався більш активний ріст фібробластичних елементів, ніж у флаконах контролю та у флаконах з екстрактом зі зразків ПУС без лізоциму – на 7 добу дослідження спостерігався тканинноподібний ріст, а на 14 добу – сповільнювався процес дегенерації клітин.

*Імплантаційний тест та гістологічні дослідження.* Особливе значення при дослідженні біосумісності потенційних медичних виробів на полімерній основі мають процеси, що відбуваються при імплантації таких матеріалів в організм експериментальних тварин, аналіз клітинних реакцій та оцінка біологічної безпечності матеріалів при їх довгостроковому контакті з біологічним середовищем.

Шляхом аналізу гістологічних препаратів було встановлено, що на 7 добу після імплантації навколо полімерних зразків ПУС без лізоциму формувалася недостатньо зріла, але досить тонка сполучнотка-

нинна капсула, внутрішній шар якої складався, в основному з нейтрофілів та лімфоцитів (рис. 5, а). Також характерною була незначна кількість макрофагів. На окремих ділянках спостерігалися молоді форми фібробластичних елементів без чітких ознак їх зрілості та фібробласти веретеноподібної форми, що розташовувалися в товщі пучків зрілих колагенових волокон. Кровоносні судини, в яких не спостерігалось порушень мікроциркуляторних процесів, були представлені в незначній кількості. На 7 добу після імплантації навколо полімерних зразків ПУС з лізоцимом спостерігалось відмежування основної частини випробного полімерного зразка від оточуючих тканин сполучнотканиною капсулою, що відрізнялася за клітинним складом по всій своїй протяжності. На одних ділянках спостерігався широкий лейкоцитарний вал, що відмежовував полімерний зразок від оточуючих тканин, на інших більш зрілі та сформовані ділянки капсули з переважанням веретеноподібних фібробластів, що свідчило про початок проліферації клітин в області розміщення імплантату. Поряд з цим відбувалася часткова деструкція полімерного матеріалу під дією біологічного середовища організму з одночасною «міграцією» окремих фрагментів полімеру в оточуючі тканини (рис. 5, б). Реакція сполучної тканини на такий процес був закономірним та полягав у розвитку яскраво вираженої клітинної реакції навколо кожного фрагменту полімерного матеріалу у вигляді їх чіткого відмежування широкими лейкоцитарними валами. При цьому спостерігалися локальні кружлоклітинні інфільтрації навколо фрагментів випробних зразків полімерного матеріалу. Макрофаги також були представлені в значній кількості на окремих ділянках капсули, що свідчило про активацію фагоцитарних процесів, пов'язаних, можливо, з деструкцією полімерного матеріалу з лізоцимом. Кровоносні судини були представлені в незначній кількості, без ознак порушень мікроциркуляції в них.

На 14 добу після операції навколо полімерних зразків ПУС ненаповнених лізоцимом спостерігалась не досить зріла та несформована сполучнотканинна капсула. Основними клітинними елементами

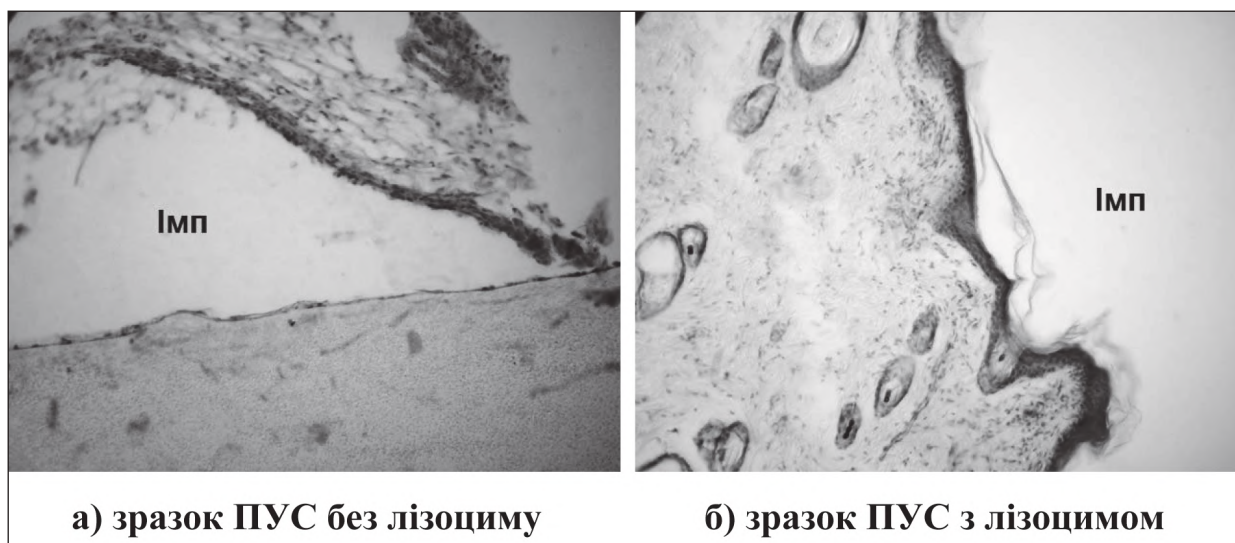


Рисунок 5 – Сполучнотканинні капсули навколо імплантованих зразків (І) на 7 добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном і еозином. ×150.

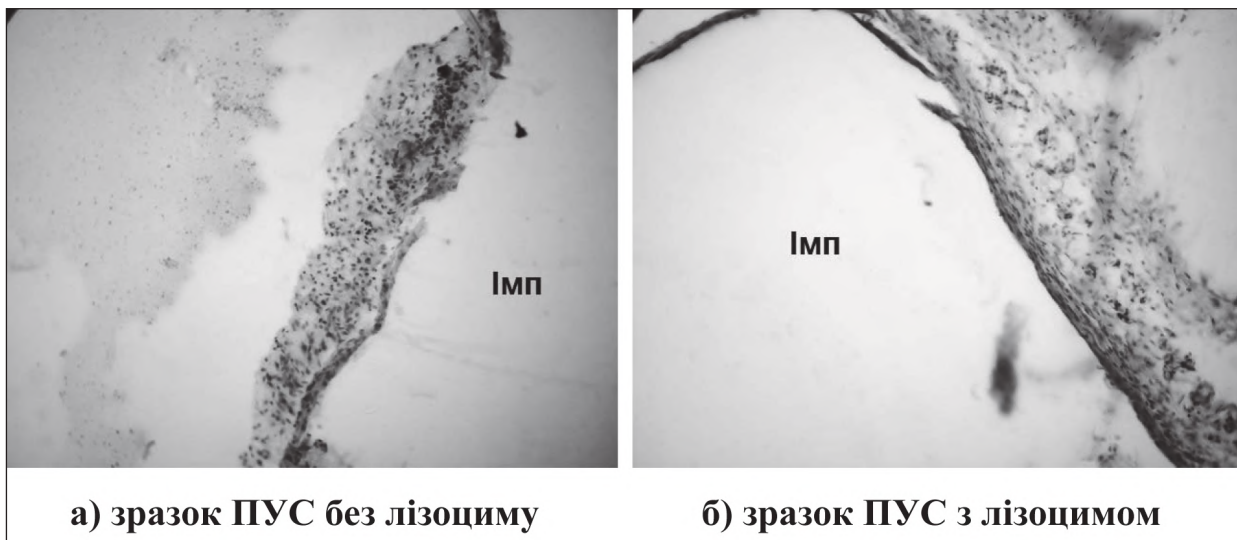


Рисунок 6 – Сполучнотканинні капсули навколо імплантованих зразків (Імп) на 14 добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном і еозином.  $\times 150$ .

капсули залишалися лейкоцити та клітинний детрит (рис. 6, а). Кількість макрофагів збільшувалася в порівнянні з попереднім терміном дослідження, що було свідченням активних фагоцитарних процесів. На окремих ділянках сполучнотканинної капсули спостерігалася збільшення кількості молодих форм фібробластів та зрілих фібробластів веретеноподібної форми, що розташовувалися в товщі пучків зрілих колагенових волокон. Спостерігалися поодинокі кровоносні судини з нормальною мікроциркуляцією. На 14 добу після операції навколо полімерних зразків з лізоцимом спостерігалися менш виражені клітинні реакції, ніж на попередньому терміні дослідження. Характерною особливістю клітинних реакцій на даному терміні дослідження була досить тонка сполучнотканинна капсула, що відмежовувала полімерний зразок від оточуючих тканин. Основними клітинними елементами капсули були веретеноподібні фібробласти, що розташовувалися між рядами пучків зрілих колагенових волокон (рис. 6, б). Це свідчило про активні проліферативні процеси в оточуючих імплантат тканинах. На окремих ділянках, як і на по-

передньому терміні дослідження спостерігалася де-струкція полімерного зразка з інкапсуляцією кожного з фрагментів. В цьому випадку характерними були незрілі та несформовані сполучнотканинні капсули, які складалася з молодих форм фібробластичних елементів та малодиференційованих клітин. Крім того, були наявні залишкові явища лейкоцитарної інфільтрації, клітинний детрит, а також велика кількість моноцитарно-макрофагальних клітин з фагоцитарною активністю. Кровоносні судини були представлені в незначній кількості без порушень мікроциркуляторних процесів в них.

Через 30 днів після операції навколо зразка ПУС без лізоциму спостерігалася дозрівання сполучнотканинної капсули, що приводило до зменшення її товщини (рис. 7, а), в порівнянні з попереднім терміном дослідження. Внутрішній шар капсули був представлений фібробластами веретеноподібної форми, що знаходилися в товщі пучків зрілих колагенових волокон, що активно синтезували колаген. На окремих ділянках капсули була представлена незначна кількість моноцитарно-макрофагальних елементів,

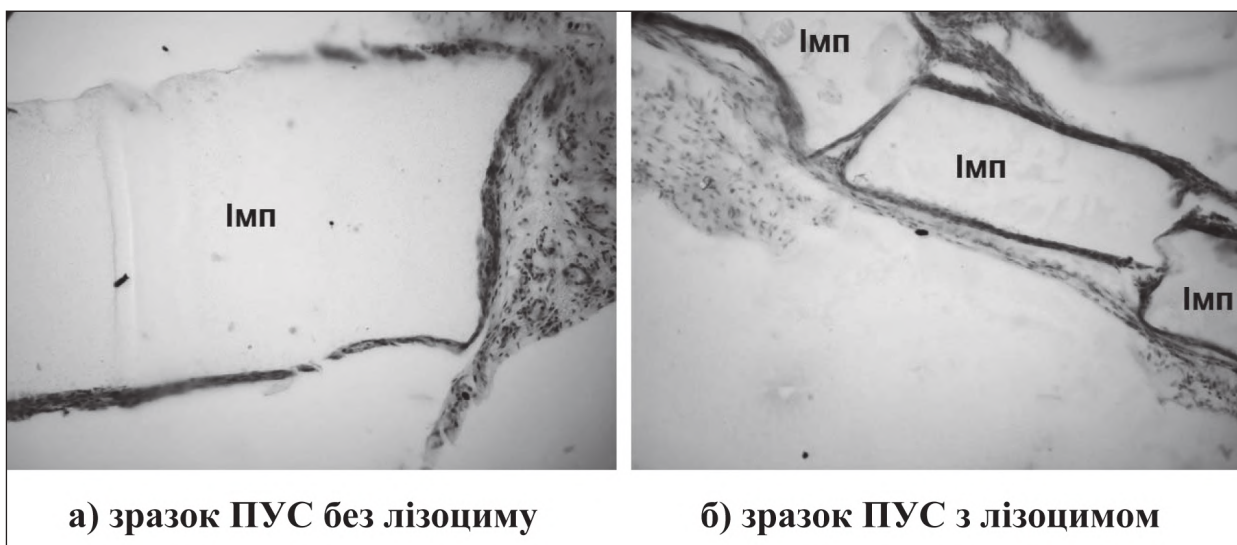


Рисунок 7 – Сполучнотканинні капсули навколо імплантованих зразків (Імп) на 30 добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном і еозином.  $\times 150$ .

спостерігалася невелика кількість лейкоцитів та лімфоцитів. На даному терміні дослідження відбувалася васкуляризація оточуючих імплантат тканин кровоносними судинами невеликого калібру. При цьому мікроциркуляторні процеси в судинах не були порушені. Через 30 днів після операції навколо зразку ПУС з лізоцимом спостерігалася деструкція полімерного матеріалу під дією біологічного середовища організму та його фрагментація, як і на попередніх термінах дослідження. Спостерігалася відокремлення фрагментів полімерного зразка сполучнотканинними капсулами, ступінь зрілості яких був різний. Так на одних ділянках основними клітинними елементами були веретеноподібні фібробласти, що розташовувалися в пучках зрілих колагенових волокон, орієнтованих вздовж імплантованих матеріалів, на інших – спостерігалися залишкові явища лейкоцитарної інфільтрації, малодиференційовані клітинні елементи та молоді форми фібробластів (рис. 7, б). Макрофаги були представлені у невеликій кількості, але мали високу фагоцитарну активність. Кількість кровоносних судин була невеликою, всі вони були без порушень мікроциркуляторних процесів в них.

Таким чином, проведені гістологічні дослідження показали, що вже на ранніх термінах дослідження відбувався закономірний процес перебування чужорідного тіла в живому організмі – його відмежування від оточуючих тканин за рахунок формування сполучнотканинних капсул, ступінь зрілості яких був незначним. При цьому навколо зразків ПУС з лізоцимом спостерігалася часткова деструкція імплантованого матеріалу під дією біологічного середовища організму та інкапсуляція його окремих фрагментів вже через 7 днів після операції. Цей процес призводив до міграції в зону розміщення імплантату значної кількості лейкоцитів та відмежування імплантату широким лейкоцитарним валом. Також різко зростала кількість макрофагів, які брали активну участь у процесі фагоцитозу продуктів метаболізму клітин у вогнищі запалення. Такі процеси біодеструкції спостерігалися і на більш пізніх термінах дослідження та призводили до формування окремих сполучнотканинних капсул навколо кожного з фрагментів, що супроводжувалося розвитком більш яскраво вираже-

них клітинних реакцій в порівнянні зі зразками ПУС без лізоциму. Тому можна припустити, що саме лізоцим у складі ПУС призводив до активного процесу біодеструкції випробних зразків починаючи з ранніх термінів дослідження, а інтенсивність клітинних реакцій була наслідком збільшення навколо полімерних зразків з лізоцимом реагуючої площі поверхні внаслідок їх часткового руйнування. На більш пізніх термінах дослідження навколо всіх імплантованих зразків спостерігався класичний перебіг клітинних реакцій, де характерними були проліферативні процеси за участю основних клітин сполучнотканинних капсул – веретеноподібних фібробластів, які розташовувалися між пучками зрілих колагенових волокон та активно синтезували колаген. Збільшення кількості моноцитарно-макрофагальних елементів навколо імплантованих зразків може свідчити про активацію місцевих клітинних реакцій, направлену на реалізацію захисно-компенсаторних механізмів та процесів пов'язаних з деструкцією полімерних зразків під дією внутрішнього середовища організму експериментальних тварин.

### Висновки

1. Встановлено, що відбувався процес біодеградації гідрофільних ПУС з лізоцимом та без лізоциму в модельному середовищі, який супроводжувався структуруванням полімерної матриці за рахунок перерозподілу міжмолекулярних водневих зв'язків.

2. Встановлено, що культура фібробластів з екстрактом зі зразка ПУС з лізоцимом перебувала в стадії стабільного росту, клітини розташовувалися більш компактно, формуючи тяжі, площі зон росту були значно ширше в порівнянні з контролем та з екстрактом зі зразка ПУС без лізоциму, що свідчило про їх нетоксичність.

3. Встановлено, що полімерні матеріали ПУС з лізоцимом володіють біологічною активністю та є біосумісними з тканинами експериментальних тварин.

**Перспективи подальших досліджень.** Досліджені полімерні матеріали на полімерній основі з біологічною активністю можуть бути перспективними матеріалами для використання як покриттів, що сприятимуть заживленню ран та опіків.

### Література

- Galatenko NA, Rozhnova RA. Biologicheski aktivnyye polimernyye materialy dlya meditsiny. Kiiv: Naukova dumka; 2013. 210 s. [in Russian].
- Shal'nova LI, Lavrov NA, Sel'kov SA, Platonov VG, Zubritskaya NG, Ivanova TV, i dr. Osobennosti sinteza biologicheskii aktivnykh karboksilsoderzhashchikh (so)polimerov vinilovogo i akrilovogo ryada. Khimiya i khimicheskaya tekhnologiya vysokomolekulyarnykh soyedineniy. Izvestiya SPbGTI (TU). 2013;18(44):56-62. [in Russian].
- Shtil'man MI. Polimery mediko-biologicheskogo naznacheniya. Moskva: IKTS «Akademkniga»; 2006. 400 s. [in Russian].
- Shal'nova LI, Lavrov NA, Nikolayev AF. O vozmozhnosti prognozirovaniya prolongatsii farmakologicheskogo deystviya polimernykh biologicheskii aktivnykh veshchestv. Plasticheskiye massy. 2011;9:6-11. [in Russian].
- Kutyreva MP, Babkina SS, Atanasyan TK. Novyye materialy: biologicheskii aktivnyye giperrazvetvlenyye polimery i ikh metallokompleksy. Moskva: MPGU; 2014. 136 s. [in Russian].
- Raygorodskiy IM, Kolganova IV, Kirilin AD, Kopylov VM, Matyushin GA. Gazodiffuzionnyye membrannyye materialy dlya oksigenatsii krovi i «iskusstvennoy kozhi». Kriticheskiye tekhnologii. Membrany. 2002;14:18-28. [in Russian].
- Braatz JA, Kehr CL. Contact lenses based on biocompatible polyurethane and polyurea-urethane hydrated polymers. 07/312331; appl. 16.02.1989; publ. 12.12.1989. Pat. 4886866 USA.
- Zdrahala R, Strand M. Fluorinated polyetherurethanes and medical devices therefrom. 325476; appl. 20.03.89; publ. 19.06.1990. Pat. 4935480 USA.
- Takakura T, Kato M, Yamabe M. Synthesis and characterization of fluorinecontaining segmented poly(urethane-urea)s. Macromolecular Chemistry. 1990;3(191):625-32.
- Laschke M, Strohe A, Scheuer C, Eglin D, Verrier S, Alini M, et al. In vivo biocompatibility and vascularization of biodegradable porous polyurethane scaffolds for tissue engineering. Acta Biomaterialia. 2009;6(5):1991-2001.
- McBane JE, Sharifpoor S, Cai K, Labow RS, Santerre JP. Biodegradation and in vivo biocompatibility of a degradable, polar/hydrophobic/ionic polyurethane for tissue engineering applications. Biomaterials. 2011;26(32):6034-44.
- Hrehirchak NM, Antonyuk MM. Immobilizovani fermenty i klitiny v biotekhnolohiyi. Konspekt lektsiy. Kyiv: NUKHT; 2011. 59 s. [in Ukrainian].



13. Zhang X, Sun M, Wang QY. Screening condition for lysozyme production of marine bacteria S-12-86. J. Fishery Sci. China. 2007;14(3):425-9.
14. Stashenko KV, Rudenchuk TV, Rozhnova RA, Kisel'ova TO. Rozrobka kompozytsiynkh materialiv na osnovi poliuretansechovyn z frahmentamy kopolimeru N-vinilpirolidonu z vinilovym spyrtom ta lizotsydom. Voprosy khymyyu y khymycheskoy tekhnolohyy. 2018;2:115-21. [in Ukrainian].
15. Lebedyev YeV, Konstantinov YuB, Halatenko NA. Toksykolohe-hihiyenichni ta doklinichni doslidzhennya polimernykh materialiv i vyrobiv na yikh osnovi medychnoho pryznachennya. Kyiv: Naukova dumka; 2009. 98 s. [in Ukrainian].
16. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg: Council of Europe, Strasbourg; 1986. 53 p.
17. Sarkisov DS, Petrova YuL. Mikroskopicheskaya tekhnika. Moskva: Meditsina; 1996. 542 s. [in Russian].

### ДОСЛІДЖЕННЯ БІОДЕГРАДАЦІЇ ТА БІОСУМІСНОСТІ ПОЛІМЕРНИХ ПЛІВКОВИХ МАТЕРІАЛІВ З ЛІЗОЦИМОМ

Кулеш Д. В., Сташенко К. В., Наражайко Л. Ф., Гриценко В. П., Закашун Т. Є.

**Резюме.** Проведено дослідження біодеградації та біосумісності гідрофільних плівкових матеріалів на основі поліуретансечовин з лізоцимом. Встановлено, що процес біодеградації випробних зразків у модельному середовищі супроводжувався структуруванням полімерної матриці за рахунок перерозподілу міжмолекулярних водневих зв'язків. Встановлено, що культура фібробластів з екстрактом зі зразка поліуретансечовин з лізоцимом перебувала в стадії стабільного росту, клітини розташовувалися більш компактно, формуючи тяжі, площі зон росту були значно ширше в порівнянні з контролем та з екстрактом зі зразка поліуретансечовин без лізоциму, що свідчило про їх нетоксичність. Показано, що лізоцим у складі поліуретансечовини приводив до активації процесу біодеструкції випробних зразків вже на ранніх термінах дослідження. Таким чином, досліджені полімерні матеріали з біологічною активністю можуть бути перспективними матеріалами для використання як покриттів, що сприятимуть заживленню ран та опіків.

**Ключові слова:** поліуретансечовина, лізоцим, біодеградація, культура тканин, імплантація, біосумісність.

### ИССЛЕДОВАНИЕ БИОДЕГРАДАЦИИ И БИОСОВМЕСТИМОСТИ ПОЛИМЕРНЫХ ПЛЕНОЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ С ЛИЗОЦИМОМ

Кулеш Д. В., Сташенко К. В., Наражайко Л. Ф., Гриценко В. П., Закашун Т. Е.

**Резюме.** Проведено исследование биодegradации и биосовместимости гидрофильных пленочных материалов на основе полиуретанмочевин с лизоцимом. Установлено, что процесс биодegradации исследуемых образцов в модельной среде сопровождался структурированием полимерной матрицы за счет перераспределения межмолекулярных водородных связей. Установлено, что культура фибробластов с экстрактом из образца полиуретанмочевин с лизоцимом находилась в стадии стабильного роста, клетки располагались более компактно, формируя тяжи, площади зон роста были значительно шире по сравнению с контролем и с экстрактом из образца полиуретанмочевин без лизоцима, что свидетельствовало об их нетоксичности. Показано, что лизоцим в составе полиуретанмочевин способствовал активации процесса биодеструкции исследуемых образцов уже на ранних сроках исследования. Таким образом, исследованные полимерные материалы с биологической активностью могут быть перспективными материалами для использования в качестве покрытий, способствующие заживлению ран и ожогов.

**Ключевые слова:** полиуретанмочевина, лизоцим, биодegradация, культура тканей, имплантация, биосовместимость.

### RESEARCH OF BIODEGRADATION AND BIOCOMPATIBILITY OF POLYMERIC FILM MATERIALS WITH LYSOZYME

Kuliesh D. V., Stashenko K. V., Narazhayko L. F., Gritsenko V. P., Zakashun T. E.

**Abstract.** The synthesis of new biocompatible polymeric materials and the creation of medical products on their basis is a promising area of research. Main requirements for such materials are biocompatibility, lack of toxicity and their effective functioning throughout the lifetime. In our opinion, polyurethaneurea may be promising polymer materials for medical use.

The aim of the study was to study biodegradation and biocompatibility of hydrophilic polyurethaneurea with lysozyme *in vitro* and *in vivo*.

Biodegradation and biocompatibility study of hydrophilic film materials based on polyurethaneurea with lysozyme was conducted. It was established that the process of biodegradation of test samples in the model environment was accompanied by the structuring of the polymer matrix due to the redistribution of intermolecular hydrogen bonds. It was established that the culture of fibroblasts with the extract from the sample of polyurethaneurea with lysozyme was in a stable growth stage, the cells were located more compactly, forming the grains, the areas of growth zones were much wider than the control and with the extract from the sample of polyurethaneurea without lysozyme, indicating their non-toxicity. It was shown that lysozyme in the polyurethaneurea led to the activation of the process of biodegradation of test samples already in the early stages of the study. Thus, investigated polymeric materials with biological activity can be promising materials for use as coatings that contribute to the healing of wounds and burns.

**Key words:** polyurethane urea, lysozyme, biodegradation, tissue culture, implantation, biocompatibility.

Рецензент – проф. Білаш С. М.  
Стаття надійшла 19.07.2019 року