

Мельников Виктор Львович

д-р мед. наук, заведующий кафедрой
ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет»

г. Пенза, Пензенская область

Митрофанова Наталья Николаевна

старший преподаватель
ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет»

г. Пенза, Пензенская область

Агейкин Алексей Викторович

студент
ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет»

г. Пенза, Пензенская область

Сурнина Мария Александровна

научный сотрудник

Лазерный центр г. Ганновера

г. Ганновер, Федеративная Республика Германия

К ВОПРОСУ БЕЗОПАСНОСТИ МЕДИЦИНСКИХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ СИЛИКОНА

Аннотация: статья посвящена современным медицинским материалам, которые должны соответствовать требованиям безопасности. Авторы определяют токсичные свойства силикона, дополнительно обработанного силиконовым маслом. Для выполнения поставленных целей использовался LDH-тест (лактатдегидрогеназный тест) для определения токсичности. Установленные числовые значения указывают на то, что токсичность экспериментальных образцов практически в 2 раза ниже токсичности контрольной группы. Использование данных видов силикона, обработанных дополнительно силиконовым маслом, предполагается возможным. Проведение дополнительных исследований в данной области с применением методик, позволяющих оценить как антибакте-

риальные, так и токсические свойства комбинации силиконового масла с различными медицинскими материалами, поможет с более высокой точностью сделать заключение о свойствах экспериментальных образцов.

Ключевые слова: *медицинские материалы, силиконовое масло, лактатдегидрогеназный тест.*

Введение. На сегодняшний день на мировом рынке медицинских материалов представлен широкий ассортимент синтетических продуктов, к которым предъявляются жесткие требования – наличие устойчивости к действию внешних температур, отсутствие токсичности, наличие антибактериальных свойств и т. д. В связи с этим, современные материалы практически лишены всех нежелательных свойств, но в процессе их эксплуатации имеется вероятность возникновения ряда побочных эффектов у пациентов, инфицирования медицинского материала в условиях стационара. В данном случае речь идет о различных катетерах, интубационных трубках и других материалах, изготовленных из силикона. Следовательно, необходимо минимизировать нежелательные отрицательные свойства, присущие этому материалу [1–3].

Мы предположили, что силиконовое масло способно придать силикону повышенные антибактериальные свойства путем проникновения в силикон части силиконового масла, что препятствует инфицированию катетерного и дренажного материала. Поэтому проведен ряд тестов, определяющих безопасность использования силиконовых материалов, обработанных силиконовым маслом [3; 4].

Целью исследования являлось определение токсичных свойств силикона, дополнительно обработанного силиконовым маслом, с использованием LDH-тестирования для определения возможности его использования в медицинской практике.

Материалы и методы. LDH-тест (лактатдегидрогеназный тест) используется для определения токсичности. Исследовали 2 образца различного силикона,

используемого в качестве интубационных трубок-terial Silicon Tubes и стандартный полидимексилсилоксан – PDMS Sylgarol 184. Силиконовое масло – Silicone Oil 317667 – 250 ml.

Для выполнения эксперимента использовались инкубатор Thermo HERA cell 150; 96 well-plate; мышинные фибробласты; медиум (DMEM) – питательная среда для клеток; Тритон X-100 – неионное поверхностно-активное вещество, перфорирующее клеточную мембрану с последующей гибелью клеток; LDH-субстрат – субстрат, необходимый для колориметрической оценки погибших клеток; Plate Reader – прибор для количественного определения по числовому показателю постоянного LDH и спонтанного LDH.

Исследовательская работа выполнялась в 2 этапа.

1 этап. Подготовка обработанных силиконовым маслом образцов силикона. Сначала были приготовлены чашки Петри с предварительно выращенными мышинными фибробластами в растворе чистого медиума (DMEM) в количестве 100 тыс. клеток в 1 мл.

Имеющиеся силиконовые кружки помещались в силиконовое масло на 1 сутки. После этого они извлекались из силиконового масла. Затем они помещались на 2 суток в раствор медиума (DMEM) в 1-ую 96 well-plate в 1-ый и 2-ой ряды соответственно с целью определения отсутствия или же наличия силиконового масла с последующим удалением его остатков с поверхности материала. В этой же 1-ой 96 well-plate в 7-ый ряд добавлялось 230 чистого медиума и 50 мкл тритона X-100.

2 этап. Окончательное приготовление экспериментальных образцов для непосредственного исследования. Работа проводилась во 2-ой новой 96 well-plate. В 1-ый ряд добавлялся клеточный медиум, полученный на первоначальном этапе подготовки материала в размере 50 мкл. Во 2-ой ряд добавлялся чистый медиум в объеме 50 мкл. В 3-ий ряд добавлялось 50 мкл смеси чистого медиума с тритоном X-100 из 7 ряда 1-ой 96 well-plate. Затем в 4-ый и 5-ый ряды соответственно добавлялись полученные перемешанные растворы медиума и силиконового масла с двух образцов силиконовых трубок в объеме 50 мкл каждого из 1-ой

96 well-plate. 6-ой ряд – смесь клеточного медиума с тритоном X-100 (по 25 мкл каждого). 7-ой ряд – чистый, а 8-ой – чистый медиум в объеме 200 мкл.

Ко всем первым 6-ти рядам 2-ой 96 well-plate в объеме 150 мкл добавлялся LDH – субстрат. После этого производилось погружение well-plate в Plate Reader для считывания информации.

Полученные результаты. Измерения в Plate Reader производились каждые 15 минут в течение 1 часа. Визуально, уже через 5–10 минут, наблюдалось изменение окраски в 6-ом ряду: желтый цвет изменялся на красный. Это связано со способностью тритона X-100 перфорировать клеточную мембрану, вызывая гибель клеток, которая визуализируется в 6-ом ряду.

Для более точной верификации результатов был убран «шум», исходящий от чистого медиума, и нормированы результаты, которые были получены из Plate Reader. Для этого выполнено следующее: из средних значений 1-ого ряда (контрольной группы), 4-ого ряда (1-ой экспериментального образца) и 5-ого ряда (2-ого экспериментального образца) вычиталось среднее значение 2-ого ряда (шум, который исходил от чистого медиума). После этого были получены окончательные результаты.

Числовые значения указывают на то, что токсичность экспериментальных образцов практически в 2 раза ниже токсичности контрольной группы, что в свою очередь является практически невозможным. Следовательно, данный факт позволяет сделать вывод о том, что, скорее всего, силиконовое масло связывает с собой LDH-субстрат, что и приводит к двукратной разнице по сравнению с экспериментальной группой.

Использование данных видов силикона, обработанных дополнительно силиконовым маслом, предполагается возможным, несмотря даже на некую специфичность методики для этого эксперимента, описанной выше. Даже в случае отсутствия связывания LDH-субстрата с силиконовым маслом двукратное увеличение концентрации убитых клеток в экспериментальных группах по сравнению с контрольной группой будет также меньше, чем в группе с максимальной летальностью клеток.

Выводы. Таким образом, установлено, что LDH-тестирование с применением Plate Reader для количественной оценки погибших клеток позволяет с высокой достоверностью выявить токсичность медицинских материалов посредством определения количественного соотношения погибших клеток в экспериментальных и контрольных образцах.

Токсичность экспериментальных образцов после их нахождения в силиконовом масле не превышает допустимых значений и существенно ниже группы с максимальной летальностью клеток, поэтому данные виды силикона могут быть использованы в качестве интраоперационного и анестезиологического материала.

Список литературы

1. Соловьев В.Б. Морфологические изменения в зоне имплантации углеродсодержащих материалов в отдаленные сроки после операции / В.Б. Соловьев, М.Г. Федорова, О.Д. Любченко, В.Ф. Татаринцов // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2014. – №3 (31). – С. 39–48.
2. Blanc D.S. Frequency and molecular diversity of *Pseudomonas aeruginosa* upon admission and during hospitalization: a prospective epidemiologic study / D.S. Blanc, C. Petignat, B. Janin, J. Bille, P. Francioli // Clin. Microbiol. Infect. – 1998. – №4 (5). – P. 242–247.
3. Colas A. Silicone Biomaterials: History and Chemistry. In Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine / A. Colas, J. Curtis. – 2nd ed. – Elsevier: Amsterdam, 2004. – Pp. 80–85, 697–701.
4. Fernández L. Adaptive resistance to the «last hope» antibiotics polymyxin B and colistin in *Pseudomonas aeruginosa* is mediated by the novel two-component regulatory system ParR-ParS. Antimicrob / L. Fernández, W.J. Gooderham, M. Bains, J.B. McPhee, I. Wiegand, R.E.W. Hancock // Agents Chemother. – 2010. – №54 (8). – P. 3372–3382.