

Н.А. Галатенко, Р.А. Рожнова, Л.В. Кулик, Д.В. Кулеш

ОЦІНКА БІОСУМІСНОСТІ ТА БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ КОМПОЗИЦІЙНИХ МАТЕРІАЛІВ З ФОЛАТ-ПОХІДНИМ ФЕРОЦЕНУ ДЛЯ МЕДИЦИНИ

*Інститут хімії високомолекулярних сполук Національної академії наук України
Харківське шосе, 48, Київ, 02160, Україна, E-mail: politoks@merlin.net.ua*

Досліджено композиційні матеріали на основі поліуретансечовин з фолат-похідним фероцену для медицини. Проведено токсикологічні, біохімічні та гістологічні дослідження. Встановлено, що введене до тканинної культури фолат-похідне фероцену активувало клітинні елементи фібробластичного і макрофагального рядів. При імплантації в організм експериментальних тварин фолат-похідне фероцену у складі полімерного матеріалу сприяло стимуляції моноцитарно-макрофагальних елементів на ранніх термінах дослідження та формуванню зрілої сполучнотканинної капсули навколо імплантованого матеріалу. Клітинні реакції навколо імплантованих полімерних зразків були типовими для асептичного запалення та не приводили до розвитку гострого та хронічного запалення.

Ключові слова: поліуретансечовина, фолат-похідне фероцену, біологічна активність, біосумісність

ВСТУП

На сьогоднішній день синтетичні полімерні матеріали знаходять все більше застосування в медичній практиці. Так, серед основних полімерів, що використовуються, можна виділити поліоксіалканати, поліметилметакрилати, політетрафторетилени, поліпропілени [1, 2], а також поліуретани [3]. До складу полімерного ланцюга поліуретанів входить уретанова група $-\text{NHCOO}-$, близька за будовою до пептидної групи білків, що є важливим для застосування цього класу синтетичних матеріалів [4]. Поліуретани за хімічною структурою дуже різноманітні, тому, змінюючи вихідні компоненти, умови синтезу, можна в широких межах регулювати їхню будову та фізико-механічні властивості [5]. Додаючи до поліуретанової матриці біологічно активні речовини, можна отримати біосумісні та біологічно активні імплантаційні матеріали з комплексом заданих характеристик [6, 7].

Особливий інтерес викликають сполуки й матеріали, які мають власну біологічну активність і здатні стимулювати регенераторні процеси. До таких сполук належить фероцен, який широко використовується в медичній практиці як лікарський препарат з антианемічною та кроворозріджуючою дією [8]. Викликають інтерес і властивості фероцену, пов'язані з протипухлинною

активністю за рахунок стимуляції імунної системи [9]. Серед матеріалів відоме фолат-кон'юговане біоскло, як носій лікарських речовин і генів, призначене для застосування у магнітно-індукованій гіпертермії [10]. В роботі [11] досліджували можливість використання фолат-кон'югованого магнетиту як системи адресної доставки терапевтичних препаратів з контрольованим виділенням лікарської речовини у місці патології.

Кон'югація фолієвої кислоти до фероцену дає змогу отримати нову сполуку, якій притаманні біологічна активність фолієвої кислоти [12] та імуностимулюючі властивості фероцену. Синтезоване раніше фолат-похідне фероцену (фолат-кон'югований фероцен, ФКФ) показало високу біологічну активність та біосумісність [13].

Метою даної роботи було отримання поліуретансечовин, які містять в своєму складі ФКФ, дослідження та оцінка їх біосумісності та біологічної активності.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Синтез ФКФ проводили в три стадії (схема 1) згідно з методикою, яка описана в роботі [13], через стадію синтезу фероценкарбонової кислоти, отриманої методом [14]. Фолат-похідне фероцену в подальшому було матеріалом для досліджень у тканинній культурі.

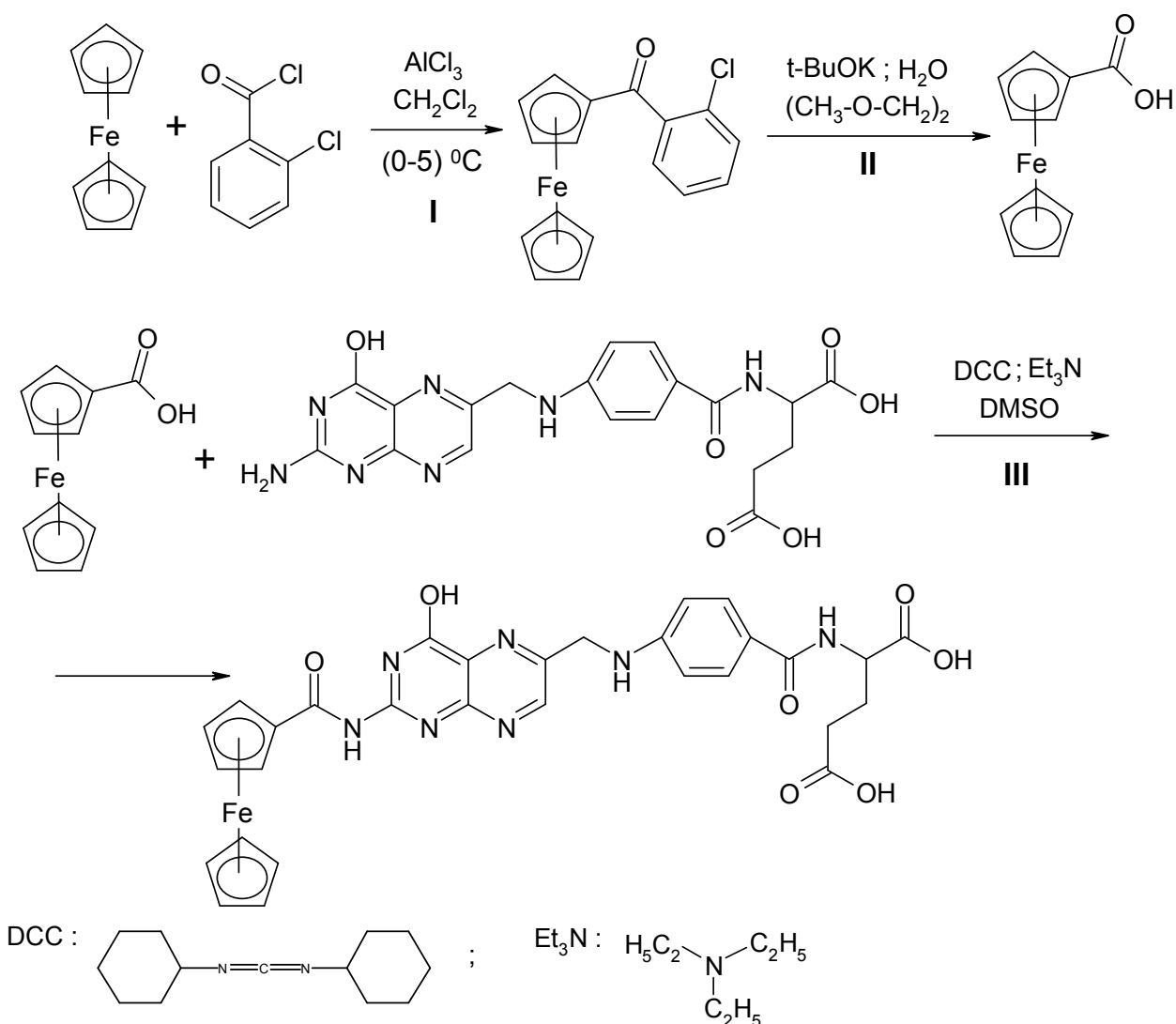


Схема 1. Синтез фолат-похідного фероцену

Полімерні матеріали, структурно модифіковані ФКФ, отримували у дві стадії. На першій стадії синтезували діізоціанатний форполімер (ДФП) на основі поліоксипропілен-гліколю (ПОПГ) молекулярної маси 1000 Да і 2,4-, 2,6-толуїлендіізоціанату (ТДІ, суміш ізомерів 80/20 мас. %) за мольного співвідношення ПОПГ : ТДІ = 1 : 2, з наступним подовженням макроланцюга 1,6-гексаметилендіаміном (ГМДА) (схема 2). На другій стадії наважки ФКФ у кількості 0.5 % від маси полімера розчиняли у N,N-диметил-ацетаміді (ДМАА), додавали до 20 %-го розчину полімера в ДМАА, виливали на тefлонові форми та висушували у сушильній

шафі при 70 ± 5 °C протягом 72 год до постійної маси. Отримані полімерні матеріали мали вигляд прозорих еластичних плівок.

Відомо, що у відповідь на пошкодження органів та тканин в організмі відбувається низка захисно-компенсаторних реакцій. З боку ферментативної системи значних змін зазнають кисла (КФ) та лужна (ЛФ) фосфатази. Цитохімічне визначення активності КФ та ЛФ в більшості випадків може служити надійним лабораторним тестом, що відображає характер і перебіг патологічного процесу в організмі. За даними літератури відомо, що ЛФ виявляється переважно в нейтрофілах і є показником інтенсивності запалення в організмі [15].

Нормалізація ЛФ свідчить про відсутність виразної запальної реакції, а значний рівень КФ – про активні процеси біодеструкції полімерних зразків під дією внутрішнього середовища організму [16, 17].

У наших дослідженнях визначали активність КФ в сироватці крові експериментальних тварин, яким було імплантовано біологічно активний полімерний матеріал з ФКФ. В досліді використовувалися білі лабораторні щури, чоловічої статі. Тварини були поділені на дві групи: першій групі тварин імплантували плівки з ДФП+ГМДА (контрольний зразок), другій – плівки з ДФП+ГМДА+0.5 % ФКФ (дослідний зразок, з ФКФ).

Щурів виводили з експерименту на 7 та 30 добу шляхом декапітації для отримання зразків крові. Всі етапи експерименту виконували у відповідності з правилами гуманітарного поводження з тваринами та вимогами [18]. Сироватку крові одержували шляхом інкубування крові в термостаті протягом 30 хв при 37 °С з подальшим

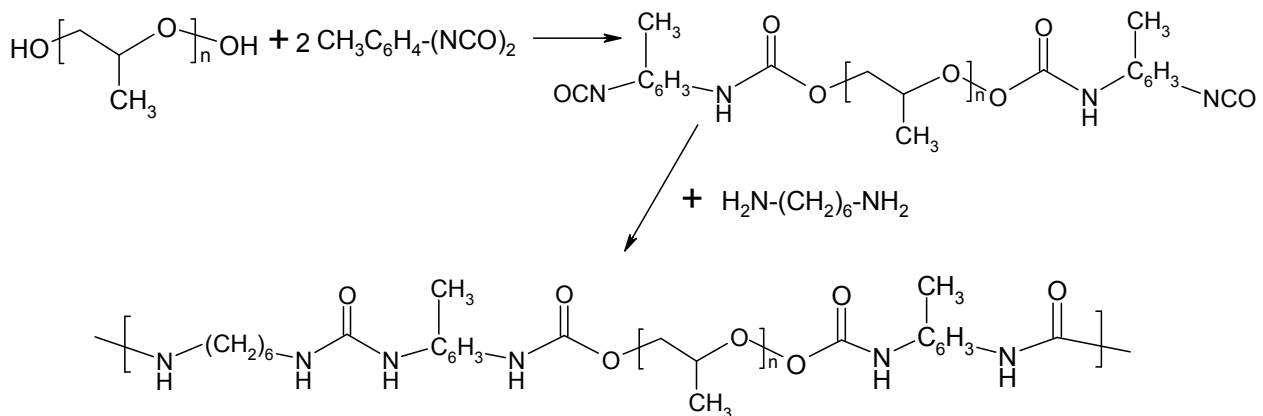
центрифугуванням при 3000 об/хв. Одержану сироватку використовували для визначення активності кислої фосфатази спектрофотометричним методом у модифікації Bessey, Lowry, Brock [19].

Метод ґрунтується на гідролізі *n*-нітрофенілфосфату (при рН 4.8) кислою фосфатазою з утворенням *n*-нітрофенолу і неорганічного фосфату. Утворений *n*-нітрофенол у лужному середовищі має жовтий колір з максимумом поглинання при 410 нм. Активність ферменту визначали в *нмоль n*-нітрофенолу, утвореного за 1 хв 1 см³ сироватки. Розрахунок активності кислої фосфатази проводили, використовуючи коефіцієнт молярної екстинції за формулою:

$$A = \Delta E \cdot 130$$

де: *A* – активність ферменту, *нмоль* нітрофенолу/см³·хв; ΔE – різниця між першим і другим вимірюванням; 130 – коефіцієнт молярної екстинції.

Результати досліджень представлені в таблиці 1.



$$n = 17$$

Схема 2. Синтез полімерної основи

Таблиця 1. Активність кислої фосфатази в сироватці крові щурів при імплантації полімерних зразків (n=5)

Активність кислої фосфатази в сироватці інтактних щурів	Активність кислої фосфатази, в од. згідно з [20]			
	7 діб		30 діб	
	ДФП+ГМДА	ДФП+ГМДА + 0.5 % ФКФ	ДФП+ГМДА	ДФП+ГМДА + 0.5 % ФКФ
57.85±6.34	58.60±3.70	81.21±3.29*	85.80±6.56	63.14±5.62*

* – Відмінності у порівнянні з контролем достовірні ($p < 0.05$)

Результати дослідження активності кислої фосфатази в крові експериментальних тварин показали, що на 7 добу після імплантації полімерних зразків ДФП+ГМДА+0.5 % ФКФ значення активності ферменту вищі від контролю та норми, що є свідченням перебігу запального процесу в організмі. Через 30 днів після імплантації в групі дослідних тварин з ФКФ спостерігалася нормалізація активності кислої фосфатази порівняно з контролем, де визначали різке збільшення її активності. Таким чином, результати біохімічних досліджень підтверджують факт пролонгованого вивільнення ФКФ та його біологічну активність в складі полімерної композиції.

З метою дослідження біосумісності та біологічної активності поліуретансечовин, модифікованих ФКФ, були проведені токсикологічні дослідження за допомогою методу культури тканини, який є модельною тест-системою у токсикологічному експерименті. Метод культури тканин широко застосовується в різних галузях медицини та біології, а саме для визначення ступеня токсичності біологічно активних речовин [21–24], полімерних матеріалів, у т.ч. медичного призначення [25–30], лікарських препаратів [19, 31, 32] тощо.

Для оцінки біологічної активності ФКФ була використана підшкірна клітковина білих щурів, клітини якої мають високу чутливість, а сама методика характеризується відтворюваністю та надійністю [33]. Як основний спосіб культивування був використаний метод експлантації у флаконах Карреля з додаванням живильного середовища (рідка фаза) [33]. Культивування проводили при 37 °С протягом 3-х днів. Контрольним був ріст та розвиток культури фібробластів у флаконах Карреля з підшкірної клітковини інтактних тварин. З метою стандартизації характеру росту культур їхні зони класифікували на компактну, сіткоподібну і зону мігруючих клітин, критерієм для виділення яких був характер розташування зростаючих фібробластичних елементів [34].

На 3 добу культивування у флаконах Карреля, в які був внесений 0.1 % розчин ФКФ, як і в контролі, спостерігалася міграція фібробластичних елементів веретеноподібної форми, які на деяких ділянках були сформовані у тяжі, перпендикулярні до поверхні імплантату. На відміну від контролю,

спостерігалися клітини полігональної форми, які розміщувалися на відстані від експлантатів (рис. 1).

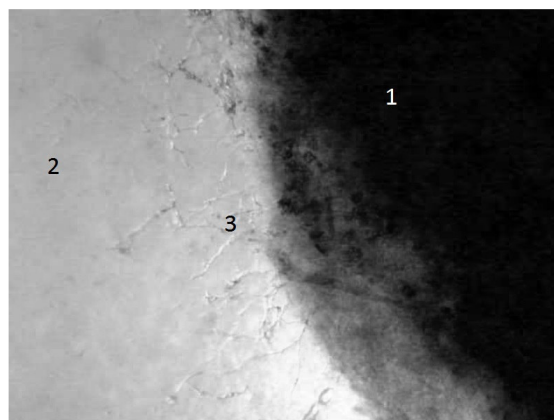


Рис. 1. Початок росту в культурі підшкірно-жирової клітковини щурів. Контроль: 1 – експлантат, 2 – живильне середовище, 3 – зростаючі клітини

На 5–7 добу культивування у флаконах Карреля, в які був внесений 0.1 % розчин ФКФ, як і в контрольних флаконах, відмічалася формування трьох зон росту: компактної, сіткоподібної та зони мігруючих клітин. Однак, на відміну від контролю, у компактній зоні росту спостерігався тканиноподібний ріст клітин. При цьому зростаючі клітини щільно прилягали одна до одної, а площа росту була значно більшою, ніж у контролі. В зоні мігруючих клітин були присутні клітини полігональної форми, за розмірами більші від фібробластичних елементів, які є клітинами гістіоцитарного ряду (рис. 2).



Рис. 2. Компактна та сіткоподібна зони росту фібробластичних елементів на 7 добу культивування. Контроль: 1 – експлантат, 2 – зона зростаючих клітин

Спостереження за тканинною культурою на 10 добу не виявило дегенеративних змін, на відміну від контролю. Слід відмітити, що на даному терміні дослідження значно збільшувалася зона тканиноподібного росту, а також зона мігруючих клітин.

На 14 добу культивування у зонах росту клітинних елементів не спостерігалось ознак дегенеративних змін. Зони росту були представлені полями клітин у вигляді фібробластичних елементів полігональної форми – гістіоцитарними та макрофагальними елементами (рис. 3). Дегенеративні зміни у культивованих клітинах відмічалися лише на 20 добу культивування.



Рис. 3. Зона росту фібробластичних та фібробластоподібних елементів на 14 добу культивування. Зразок №1

За результатами проведених досліджень встановлено, що введений до тканинної культури ФКФ активує клітинні елементи фібробластичного і макрофагального рядів, що приводить до збільшення площі росту клітин. Також характерною рисою було подовження терміну росту культури з ФКФ майже до 20 доби дослідження без ознак дегенеративних змін.

Останнім та важливим етапом оцінки біосумісності та біоактивності матеріалів на основі полімерів було вивчення реакції оточуючих тканин на імплантацію досліджуваних зразків в організм експериментальних тварин. З цією метою було проведено розробку модельних операцій та підшкірно імплантовано розроблені полімерні матеріали в організм білих лабораторних щурів. Всі маніпуляції з тваринами проводилися з дотриманням принципів, викладених в [18]. Тварин виводили з

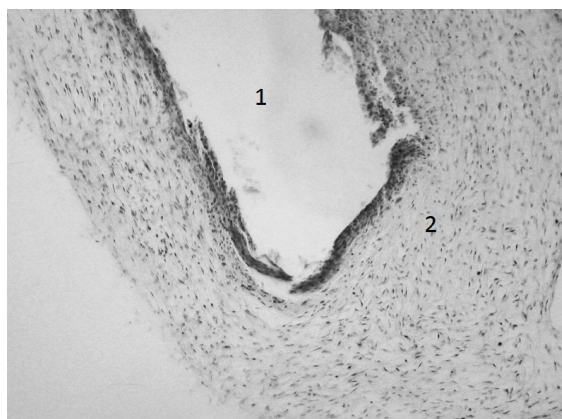
експерименту на 7, 14 та 30 добу шляхом передозування ефіром. Під час експерименту вивчали поведінкову реакцію тварин, їх зовнішній стан, післяопераційне поле. Протягом всього часу експерименту імплантовані матеріали пальпували через шкіру тварин. Встановлено, що імплантація досліджуваних зразків не викликала агресії та змін в поведінці експериментальних тварин.

Для морфологічного аналізу після стандартної гістологічної обробки (фіксація в 10 % розчині формаліну, дегідратація в зростаючих концентраціях етанолу, заливка в парафін) [35] полімерного матеріалу з оточуючою сполучною тканиною були виготовлені зрізи завтовшки 10-15 мкм, які забарвлювали гематоксиліном і еозином. Дослідження реакції оточуючих тканин на імплантацію та оцінку біосумісності полімерних матеріалів проводили шляхом аналізу гістологічних препаратів за допомогою світлової мікроскопії.

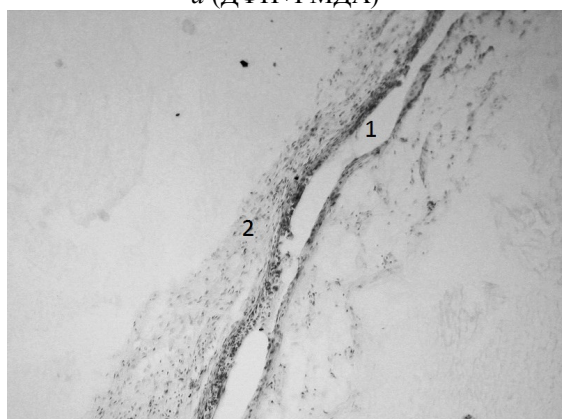
Макроскопічно при імплантації дослідних зразків в організм щурів на всіх термінах дослідження виявлялася сполучна тканина, яка була щільно з'єднана з поверхнею зразків, за кольором і структурою не відрізнялася від тканин подалі від місця імплантації.

Мікроскопічно на 7 добу після імплантації навколо полімерних зразків ДФП+ГМДА без ФКФ спостерігалася незріла сполучнотканинна капсула, що складалася, в основному, з малодиференційованих клітинних елементів. Внутрішній шар капсули відокремлювався від імплантованого матеріалу лейкоцитарним валом, що складався з поліморфно-ядерних лейкоцитів та лімфоїдних елементів (рис. 4 а). На відміну від імплантованих зразків ДФП+ГМДА без ФКФ, навколо полімерних зразків ДФП+ГМДА+0.5 %ФКФ на аналогічному терміні дослідження спостерігалася більш зріла сполучнотканинна капсула, яка мала різний ступінь зрілості по всій своїй довжині. Так, на одних ділянках капсули основними клітинними елементами були фібробласти веретеноподібної та овальної форм, що розташовувалися між рядами пучків колагенових волокон. На інших ділянках спостерігалися малодиференційовані клітинні елементи, що знаходилися на межі «імплантат – капсула» та були наявні слабка за інтенсивністю лейкоцитарна та моноцитарно-

макрофагальна інфільтрація, а також поодинокі лімфоцитарні елементи (рис. 4 б).



а (ДФП+ГМДА)



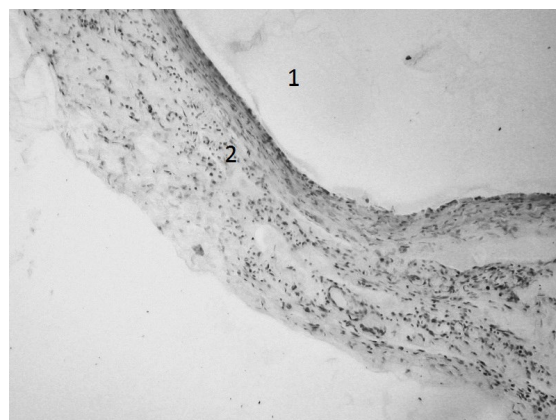
б (ДФП+ГМДА+0.5 %ФКФ)

1 – імплантат, 2 – сполучна тканина

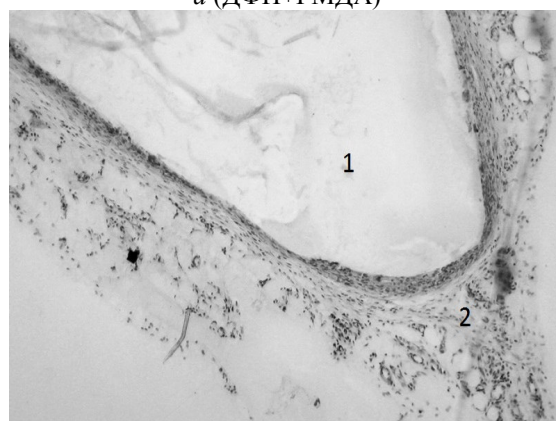
Рис. 4. Сполучнотканинні капсули навколо імплантованих матеріалів на 7 добу експерименту. Забарвлення гематоксилином і еозином. $\times 180$

На 14 добу після операції навколо всіх імплантованих полімерних зразків спостерігалось дозрівання сполучнотканинних капсул, в порівнянні з попереднім терміном дослідження. Так, навколо зразка ДФП+ГМДА спостерігалась капсула, що складалась з молодих фібробластичних елементів та веретеноподібних фібробластів, орієнтованих вздовж імплантованого матеріалу, що активно синтезували колаген. Це приводило до збільшення товщини самої капсули (рис. 5 а). Характерною була поява круглоклітинних елементів, зокрема макрофагів. На окремих ділянках спостерігались залишкові явища нейтрофільної інфільтрації та клітинний детрит. Навколо полімерних зразків ДФП+ГМДА+0.5 %ФКФ на 14 добу після

операції спостерігалась більш зріла та тонка сполучнотканинна капсула, на відміну від контролю, яка складалась з веретеноподібних фібробластів, що знаходились між рядами пучків колагенових волокон (рис. 5 б). На окремих ділянках спостерігались незначна лейкоцитарна інфільтрація та незначне збільшення кількості моноцитарно-макрофагальних клітин з фагоцитарною активністю.



а (ДФП+ГМДА)



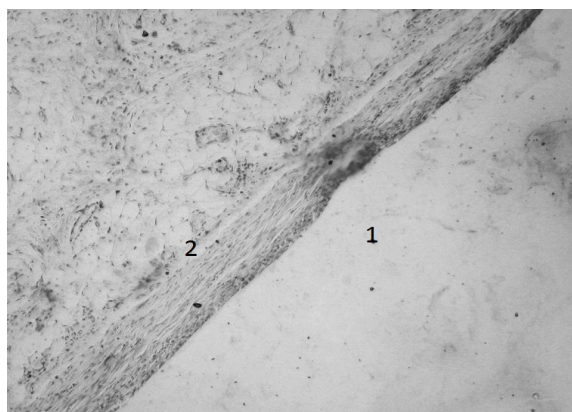
б (ДФП+ГМДА+0.5 %ФКФ)

1 – імплантат, 2 – сполучна тканина

Рис. 5. Сполучнотканинні капсули навколо імплантованих матеріалів на 14 добу експерименту. Забарвлення гематоксилином і еозином. $\times 180$

Через 30 діб після операції навколо зразка ДФП+ГМДА спостерігалось зменшення товщини сполучнотканинної капсули, в порівнянні з попереднім терміном дослідження. Капсула складалась з пучків зрілих колагенових волокон та фібробластів веретеноподібної форми між ними. Спостерігалась також інфільтрація нейтрофільними та лімфоцитарними елементами, посилювалась моноцитарно-макрофагальна реакція. Навколо

зразка ДФП+ГМДА+0.5 %ФКФ спостерігалось збільшення товщини сполучнотканинної капсули, що свідчило про активацію проліферативних процесів. Капсула складалася з пучків зрілих колагенових волокон та веретеноподібних фіброblastів, орієнтованих вздовж імплантованого матеріалу (рис. 6). Характерною була яскраво виражена моноцитарно-макрофагальна реакція на окремих ділянках капсули, але її інтенсивність дещо зменшувалася.



1 – імплантат, 2 – сполучна тканина

Рис. 6. Сполучнотканинна капсула навколо зразка ДФП+ГМДА+0.5 %ФКФ на 30 добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 180$

В результаті проведених гістологічних досліджень встановлено, що клітинні реакції навколо імплантованих полімерних зразків на основі ПУС з ФКФ були типовими для асептичного запалення та не призводили до розвитку гострих та хронічних запальних процесів. ФКФ у складі полімерного матеріалу сприяв стимуляції моноцитарно-макрофагальних елементів на ранніх термінах дослідження та більш швидкому дозріванню сполучнотканинної капсули вже до 14 доби.

ВИСНОВКИ

В результаті проведених досліджень показано, що ФКФ, введений до полімерної композиції стимулює клітинний імунітет, що підтверджується результатами випробувань у тканинній культурі *in vitro*. При імплантації полімерних композицій з ФКФ в організм експериментальних тварин відбувається стимуляція моноцитарно-макрофагальних елементів на ранніх термінах дослідження та формування зрілої сполучнотканинної капсули навколо імплантованих зразків вже до 14 доби. Виходячи з цього, можливо рекомендувати розроблені біологічно активні матеріали до проведення клінічних випробувань.

Оценка биосовместимости и биологической активности композиционных материалов с фолат-производным ферроцена для медицины

Н.А. Галатенко, Р.А. Рожнова, Л.В. Кулик, Д.В. Кулеш

*Институт химии высокомолекулярных соединений Национальной академии наук Украины
Харьковское шоссе, 48, Киев, 02160, Украина, politoks@merlin.net.ua*

Исследованы композиционные материалы на основе полиуретанмочевин с фолат-производным ферроцена для медицины. Проведено токсикологические, биохимические и гистологические исследования. Установлено, что введенное в тканевую культуру фолат-производное ферроцена активизирует клеточные элементы фибробластического и макрофагального рядов. При имплантации в организм экспериментальных животных фолат-производное ферроцена в составе полимерного материала способствовало стимуляции моноцитарно-макрофагальных элементов на ранних сроках исследования и формированию зрелой соединительнотканной капсулы вокруг имплантированного материала. Клеточные реакции вокруг имплантированных полимерных образцов были типичными для асептического воспаления и не приводили к развитию острого и хронического воспаления.

Ключевые слова: полиуретанмочевина, фолат-производное ферроцена, биологическая активность, биосовместимость

The evaluation of biocompatibility and biological activity of composite materials with folate-derivative of ferrocene for medicine

N.A. Galatenko, R.A. Roznova, L.V. Kulyk, D.V. Kulyesh

*Institute of Macromolecular Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
48, Kharkivske shausse, Kyiv, 02160, Ukraine, politoks@merlin.net.ua*

Synthetic polymers are increasingly used in medical practice. Modification of polymers with biologically active substances, which can stimulate regenerative processes, is an urgent task. Conjugation of folic acid to ferrocene is resulted in a new compound, which may combine biological activity of folic acid and immune-boosting properties of ferrocene. The purpose of the study was to obtain polyurethane ureas with folate-derivative of ferrocene for medicine, research and assessment of their biocompatibility and biological activity. Toxicological, biochemical and histological studies were undertaken. It has been shown that folate-derivative of ferrocene entered to the tissue culture activates cellular elements of fibroblastic and macrophage rows. Folate-derivative of ferrocene entered to polymer material during implantation into the body of experimental animals stimulated monocyte-macrophage elements at the early stages and formation occurred of the fibrous capsule around the implant. Cellular reactions around the implanted polymeric samples were typical for aseptic inflammation and did not lead to the development of acute and chronic inflammation. Consequently, obtained polymeric materials with folate-derivative of ferrocene may be recommend for clinical trials.

Keywords: polyurethane urea, folate-derivative of ferrocene, biological activity, biocompatibility

ЛІТЕРАТУРА

1. Ходоренко В.Н., Ясенчук Ю.Ф., Гюнтер В.Э. Биосовместимые пористые проницаемые материалы // Биосовместимые материалы и имплантаты с памятью формы. – Томск: Нортхэмптон, 2001. – С. 9–24.
2. Медведев А.Ю. Сравнительная оценка применения полипропиленовых и политетрафторэтиленовых имплантов при плановом устранении паховых грыж: автореф. дис. ... канд. мед. наук. 14.00.27. – Тверь, 2009. – 20 с.
3. Галатенко Н.А., Рожнова Р.А. Биологически активные полимерные материалы для медицины. – Київ: Наукова думка, 2013. – 211 с.
4. Липатова Т.Э., Пхакадзе Г.А. Полимеры в эндопротезировании. – Киев: Наукова думка, 1983. – 160 с.
5. Пхакадзе Г.А. Биодеструктурируемые полимеры. – Киев: Наукова думка, 1990. – 160 с.
6. Кулеш Д.В., Ткач О.С., Демченко І.Б., Кебуладзе І.М. Розробка та вивчення властивостей поліуретанового адгезива з фолієвою кислотою як імплантаційного матеріалу // Пластична та реконструктивна хірургія. – 2012. – № 1. – С. 56–64.
7. Логинова И.С. Экспериментальное исследование регенераторных процессов в дефектах челюстной кости при использовании остеопластического материала Гапкол с гиалуроновой кислотой и хондроитин-сульфатом: автореферат дис. ... канд. мед. наук. 14.00.21, 14.00.16. – Москва, 2005. – 20 с.
8. Несмеянов А.Н. Ферроцен и родственные соединения (Избранные труды, 1969–1979 гг.). – Москва: Наука, 1982. – 441 с.
9. Kovjazin R., Eldar T., Patya M. et al. Ferrocene-induced lymphocyte activation and anti-tumor activity is mediated by redox-sensitive signaling // FASEB J. – 2003. – V. 17, N 3. – P. 467–469.
10. Chen M.-H., Hsu Ch.-K., Lin F.-H., Stobinski L., Peszke J. Folic acid immobilized ferrimagnetic DP-bioglass to target tumor cell for cancer hyperthermia treatment // Advances in Science and Technology. – 2006. – V. 53. – P. 50–57.
11. Zhang J., Rana S., Srivastava R.S., Misra R.D.K. On the chemical synthesis and drug delivery response of folate receptor-activated, polyethylene glycol-functionalized magnetite nanoparticles // Acta Biomat. – 2008. – V. 4, N 1. – P. 40–48.
12. Губський Ю. І. Біологічна хімія. – Київ: НОВА КНИГА, 2009. – 664 с.
13. Makeieva L., Gladyr I., Rozhnova R., Galatenko N. Syntesis of bioactive folate-ferrocene conjugate // Chemistry and Chemical Technology. – 2014. – V. 8, N 4. – P. 395–400.
14. Reeves P.C. Carboxylation of aromatic compounds: ferrocenecarboxylic acid // Org. synth. – 1988. – V. 6. – P. 625–628.

15. Мамедов Л.А., Николаев А.В., Захаров В.В. и др. Фосфатазная активность лейкоцитов крови и раневого экссудата при заживлении асептической раны в эксперименте // Бюл. экспер. биологии и медицины. – 1987. – Т. 104, № 9. – С. 306–309.
16. Salthouse T. N. Cellular enzyme activity at the polymer–tissue interface // J. Biomed. Mater. Res. – 1976. – V. 10, N 2. – P. 197–229.
17. Пхакадзе Г.А., Терещенко Т.Л., Яценко В.П. и др. Сравнительная оценка активности фосфомоноэстераз в качестве теста для определения биосовместимости полимерных аллоимплантатов // Докл. АН УССР. Сер. Б. – 1982. – № 6. – С. 71–73.
18. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Strasbourg: Council of Europe, 1986. – 53 p.
19. Лебедев С.В., Константинов Ю.Б., Галатенко Н.А. та ін. Токсиколого-гігієнічні та доклінічні дослідження полімерних матеріалів і виробів на їх основі медичного призначення. – Київ: Методичні вказівки, 2009. – 98 с.
20. Bessey O.A., Lowry O.H., Brock M.J. A method for the rapid determination of alkaline phosphates with five cubic millimeters of serum // J. Biol. Chem. – 1946. – V. 164, N 7. – P. 321–329.
21. Ильницкий А.П. Некоторые вопросы тканевых культур в токсикологическом эксперименте // Гигиеническая оценка химических факторов внешней среды. – 1966. – С. 41–45.
22. Wemborg A., Hasselgren G., Tronstad L. A method for toxicity screening of biomaterials using cells cultured on Millipore filters // J. Biomed. Mater. Res. – 1979. – V. 13, N 1. – P. 109–120.
23. Ekwall B. Screening of toxic compounds in tissue culture // Toxicology. – 1969. – V. 17, N 12. – P. 127–142.
24. Галатенко Н.А., Кулеш Д.В., Пінчук В.Д. та ін. Вивчення гістотоксичності та біосумісності силіконових ендопротезів методом культури тканин та за допомогою імплантаційного тесту // Доповіді НАН України. – 2011. – № 1. – С. 135–140.
25. Кулеш Д.В., Зленко А.Б., Демченко І.Б., Галатенко Н.А. Аналіз кваліфікаційних випробувань гідрофільного гелю «Aquafilling» // Доповіді НАН України. – 2012. – № 7. – С. 153–157.
26. Галатенко Н.А., Кебуладзе І.М., Наражайко Л.Ф. Изучение биосовместимости нового полиакриламидного геля «Ринапласт» // Пластична та реконструктивна хірургія. – 2009. – № 2. – С. 49–54.
27. Moynard I.R., Heckman C.A., Pitlick N.A. et al. Association of tissue factor activity with the surface of cultured cells // J. Clin. Invest. – 1975. – V. 55, N 4. – P. 814–824.
28. Sisca R. L. Responses of epithelial–like cells in tissue culture to implant materials // Journal of Dental Research. – 1967. – N 46. – P. 248–252.
29. Имишенцкий А.А., Касатки И.Д., Солнцева Л.И. и др. Применение метода культуры тканей для определения токсичности фибролитических препаратов. – Изв. АН СССР, 1977. – № 4. – С. 36–38.
30. Rena S.D., Hyghes R.S. Fibronectin-plasmamembrane interactions in the adhesion and speeding of hamster fibroblasts // Nature. – 1978. – V. 276, N 5683. – P. 70–83.
31. Культуры животных клеток. Методы / Под ред. Р. Фрешни. – Москва: Мир, 1989. – 326 с.
32. Залкинд Р.Я., Юрская Г.Б. Проблемы дифференцировки и детерминации культивируемых вне организма клеток // Успехи современ. биол. – 1970. – № 4. – С. 85–106.
33. Галатенко Н.А., Яценко В.П., Пхакадзе Г.А. Определение гистотоксичности полимеров медицинского назначения с использованием тканевой культуры // Доклады АН УССР. – 1982. – № 9. – С. 54–58.
34. Яценко В.П., Галатенко Н.А., Пхакадзе Г.А. и др. Метод кількісного дослідження росту фібробластичних клітин у культурі тканини // Цитологія і генетика. – 1984. – № 4. – С. 280–284.
35. Саркисов Д.С., Петрова Ю.Л. Микроскопическая техника. – Москва: Медицина, 1996. – 542 с.

REFERENCES

1. Hodorenko V.N., Yasenychuk Yu.F., Gunter V.E. Biocompatible porous permeable materials. *Biocompatible Materials and Implants with Shape Memory* (Tomsk: Northampton, 2001): 9–24.
2. Medvedev A.Yu. PhD (Med.) Comparative evaluation of the use of polypropylene and polytetrafluoroethylene implants with the planned elimination of inguinal hernias (Tver, 2009). [in Russian].
3. Galatenko N.A., Rozhnova R.A. *Biologically active polymeric materials for medicine*. (Kyiv: Naukova dumka, 2013). [in Russian].
4. Lipatova T.E., Pchakadze G.A. *Polymers in arthroplasty*. (Kyiv: Naukova dumka, 1983). [in Russian].
5. Pchakadze G.A. *Biodegradable polymers*. (Kyiv: Naukova dumka, 1990). [in Russian].

6. Kulyesh D.V., Tkach O.S., Demchenko I.B., Kebuladze I.M. Development and study of properties of polyurethane adhesives with folic acid as implantation material. *Plastic reconstructive and aesthetic surgery*. 2012. **1**: 56. [in Ukrainian].
7. Loginova I.S. PhD (Med.) Experimental research of regenerative processes in the jawbone defects using osteoplastic Gapkol material hyaluronic acid and chondroitin sulfate (Moscow, 2005). [in Russian].
8. Nesmeyanov A.N. *Ferrocene and related compounds*. (Moscow: Nauka, 1982). [in Russian].
9. Kovjazin R., Eldar T., Patya M., Vanichkin A., Lander H.M., Novogrodsky A. Ferrocene-induced lymphocyte activation and anti-tumor activity is mediated by redox-sensitive signaling. *FASEB J*. 2003. **17**(3): 467.
10. Min-Hua Chen, Chung-King Hsu, Feng-Huei Lin, Stobinski L., Peszke J. Folic acid immobilized ferrimagnetic DP-bioglass to target tumor cell for cancer hyperthermia treatment. *Advances in Science and Technology*. 2006. **53**: 50.
11. Zhang J., Rana S., Srivastava R.S., Misra R.D.K. On the chemical synthesis and drug delivery response of folate receptor-activated, polyethylene glycol-functionalized magnetite nanoparticles. *Acta Biomat*. 2008. **4**: 40.
12. Gubskij Yu.I. *Biological chemistry*. (Kyiv: Nova knyga, 2009). [in Ukrainian].
13. Makeieva L., Gladyr I., Rozhnova R., Galatenko N. Syntesis of bioactive folate-ferrocene conjugate. *Chemistry and Chemical Technology*. 2014. **8**(4): 395.
14. Reeves P.C. Carboxylation of aromatic compounds: ferrocenecarboxylic acid. *Org. synth*. 1988. **6**: 625.
15. Mamedov L.A., Nikolaev A.V., Zaharov V.V. Phosphatase activity of white blood cells and wound exudate in the healing of aseptic wounds in the experiment. *Bull. exper. biology and medicine*. 1987. **104** (9): 306.
16. Salthouse T. N. Cellular enzyme activity at the polymer–tissue interface. *Biomed. Mater. Res*. 1976. **10**(2): 197.
17. Pchakadze G.A., Tereshenko T.L., Yatsenko V.P. Comparative evaluation phosphomonoesterase activity as a test for determining the biocompatibility of polymer alloimplants. *Doklady AN USSR. Ser. B*. 1982. **6** : 71.
18. *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes*. (Strasbourg: Council of Europe, 1986).
19. Lebedev E.V., Konstantinov Yu.B., Galatenko N.A. *Toxicological-hygienic and clinical trials of polymer materials and products based on them for medical appointment. Guidance*. (Kyiv, 2009). [in Ukrainian].
20. Bessey O.A., Lowry O.H., Brock M.J. A method for the rapid determination of alkaline phosphates with five cubic millimeters of serum. *J. Biol. Chem*. 1946. **164**(7): 321.
21. Ilitskiy A.P. Some questions of tissue culture in toxicological experiment. *Hygienic evaluation of chemical environmental factors*. (Moscow, 1966). [in Russian].
22. Wemborg A., Hasselgren G., Tronstad L. A method for toxicity screening of biomaterials using cells cultured on Millipore filters. *J. Biomed. Mater. Res*. 1979. **13**(1): 109.
23. Ekwall B. Screening of toxic compounds in tissue culture. *Toxicology*. 1969. **17**(12): 127.
24. Galatenko N.A., Kulyesh D.V., Pinchuk V.D., Narozhajko L.F., Karpik E.N. Study on histo toxicity and biocompatibility of silicone endoprosthesis by tissue culture method and by implantation test. *Dopovidi NANU*. 2011. **1**: 135. [in Ukrainian].
25. Kulyesh D.V., Zlenko A.B., Demchenko I.B., Galatenko N.A. Analysis of proficiency testing of hydrophilic gel «Aquafilling». *Dopovidi NANU*. 2012. **7**:153.
26. Galatenko N.A., Kebuladze I.M., Narozhajko L.F. Study of biocompatibility of a new polyacrylamide gel «Rinaplast». *Plastic reconstructive and aesthetic surgery*. 2009. **2**(13): 49. [in Russian].
27. Moynard I.R., Heckman C.A., Pitlick N.A., Nemerson Y. Assotiation of tissue factor activity with the surface of cultured cells. *J. Clin. Invest*. 1975. **55**(4): 814.
28. Sisca R. L. Responses of epithelial–like cells in tissue culture to implant materials. *Journal of Dental Research*. 1967. **46**: 248.
29. Imshenetskij A.A., Kasatki I.D., Solntseva L.I. Application of tissue culture method to determine the toxicity of fibrinolytic drugs. *Izv. AN SSSR*. 1977. **4**: 36.
30. Rena S.D., Hyghes R.S. Fibronectin-plasmamembrane interactions in the adhesion and speeding of hamster fibroblasts. *Nature*. 1978. **276**(5683): 70.
31. Freshni R. *Animal Cell Culture. Methods*. (Moscow: Mir, 1989). [in Russian].
32. Zalkind R.Ya., Yurskaya G.B. Problems of determination and differentiation of cultured cells in vitro. *Uspechi sovremen. biol. (Successes of modern biology)*. 1970. **4**: 85. [in Russian].
33. Galatenko N.A., Yatsenko V.P., Pchakadze G.A. Determination of the cytotoxicity of polymers for medical purposes with the use of tissue culture. *Doklady AN USSR*. 1982. **9**: 54. [in Russian].
34. Yatsenko V.P., Galatenko N.A., Pchakadze G.A. The method of quantitative study of fibroblastic cells growth in tissue culture. *Cytology and Genetics*. 1984. **4**: 280. [in Ukrainian].
35. Sarkisov D.S., Petrova Yu.L. *Microscopic technique*. (Moscow: Medicine, 1996). [in Russian].

Надійшла 16.03.2016, прийнята 16.06.2016