

# ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БИОСОВМЕСТИМОСТИ УГЛЕРОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КУЛЬТУРЫ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

И.А. Волчек<sup>1,4</sup>, Х.М. Аберяхимов<sup>3</sup>, Е.Л. Пехтасева<sup>2</sup>, А.С. Теряев<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Медицинский институт непрерывного образования ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)», Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Российский экономический университет имени Г.В. Плеханова», Москва, Россия

<sup>3</sup> Российская академия естественных наук (РАЕН), Москва, Россия

<sup>4</sup> ООО «Научно-исследовательский центр иммунологии и аллергологии», Москва, Россия

## АННОТАЦИЯ

**Введение.** Развитие современной медицины и медицинской промышленности связано с разработкой, ростом производства и широким внедрением медицинских изделий на основе углерода. Данный процесс требует более тщательного подбора и тестирования биосовместимости углеродных изделий, в том числе, с использованием культур живых клеток.

**Цель работы.** Провести сравнительный анализ биосовместимости материалов, используемых для изготовления углеродных имплантов и перевязочных материалов с помощью живых культур клеток человека.

**Материалы и методы.** В работе использованы моноклеарные клетки, полученные из крови здоровых доноров. Из каждого образца углеродной ткани готовили экстракт согласно ГОСТ 32075-2013 и ГОСТ 57467-2017. Тестировали цитотоксичность экстрактов с помощью трипанового синего. Определяли пролиферативную реакцию клеток по включению H3 тимидина. В культуре клеток смотрели влияние экстрактов на продукцию интерлейкинов 2,4,6 фактора некроза опухолей альфа.

**Результаты.** Установлено, что реакция на различные углеродные ткани также различалась. Цитотоксичность, стимулирующая пролиферацию клеток и выработку цитокинов активности ткани «Карпема» практически отсутствовали, в то время как углеродный войлок «Карботекстим-М» обладал некоторой, достоверно отличающейся от контроля, цитотоксичностью, а также выраженной тенденцией к стимуляции продукции цитокинов и пролиферативной активности клеток.

**Выводы.** Выявленные митогенные и стимулирующие продукцию цитокинов свойства углеродных тканей свидетельствуют о целесообразности совершенствования методов тестирования биосовместимости медицинских материалов, в том числе, с использованием культур клеток человека.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** медицинские изделия, углерод, клеточные культуры, цитокины, биосовместимость

**КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:** Волчек Игорь Анатольевич, e-mail: igor.volchek@gmail.com

**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:** Волчек И. А., Аберяхимов Х. М., Пехтасева Е. Л., Теряев А. С. Исследование показателей биосовместимости углеродных материалов медицинского назначения с использованием культуры моноклеарных клеток человека // Вестник Медицинского института непрерывного образования. — 2025. — Т. 5. — № 3. — С. 81-84. — DOI 10.36107/2782-1714\_2025-5-3-81-84.

**ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ:** Научно-исследовательский центр иммунологии и аллергологии, целевое финансирование.

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ:** Данные текущего исследования можно получить по обоснованному запросу у корреспондирующего автора.

## STUDYING OF BIOCOMPATIBILITY INDICES OF CARBON MATERIALS FOR MEDICAL PURPOSES USING HUMAN MONONUCLEAR CELL CULTURE

I.A. Volchek<sup>1,4</sup>, Kh.M. Aberyakhimov<sup>3</sup>, E.L. Pekhtasheva<sup>2</sup>, A.C. Teryaev<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Medical Institute of Continuing Education, Russian Biotechnological University (ROSBIOTECH), Moscow, Russia

<sup>2</sup> Plekhanov Russian University of Economics, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Russian Academy of Natural Sciences, Moscow, Russia

<sup>4</sup> Research Center for Immunology and Allergology, Moscow, Russia

## ABSTRACT

**Background.** The development of modern medicine and the medical industry is associated with the development, growth of production and widespread adoption of carbon-based medical devices. This process requires more thorough selection and testing of the biocompatibility of carbon products, including using live cell cultures.

**Purpose.** To conduct a comparative analysis of the biocompatibility of materials used for the manufacture of carbon implants and dressings using live human cell cultures.

**Materials and methods.** The work uses mononuclear cells obtained from the blood of healthy donors. An extract was prepared from each carbon tissue sample according to GOST 32075-2013 and GOST 57467-2017. Cytotoxicity of extracts was tested using trypan blue. The proliferative reaction of cells was determined by the inclusion of H3 thymidine. The effect of extracts on the production of interleukins 2, 4, 6 and tumor necrosis factor alpha was studied in the cell culture.

**Results.** It was found that the reaction to different carbon fabrics was also different. Cytotoxicity, stimulating cell proliferation and cytokine production, was practically absent in the Carpema tissue, while Carbotextim-M carbon felt had some cytotoxicity significantly different from the control, as well as a pronounced tendency to stimulate cytokine production and cell proliferative activity.

**Conclusion.** The revealed mitogenic and cytokine-stimulating properties of carbon tissues indicate the expediency of improving methods for testing the biocompatibility of medical materials, including using human cell cultures.

**KEYWORDS:** medical products, carbon, cell cultures, cytokines, biocompatibility

**CORRESPONDENCE:** Igor A. Volchek, e-mail: igor.volchek@gmail.com

**FOR CITATIONS:** Volchek I.A., Aberyakhimov Kh.M., Pekhtasheva E.L., Teryaev A.S. Studying of Biocompatibility Indices of Carbon Materials for Medical Purposes Using Human Mononuclear Cell Culture // Bulletin of the Medical Institute of Continuing Education. — 2025. — Vol. 5, No. 3. — P. 81–84. — DOI 10.36107/2782-1714\_2025-5-3-81-84

**FUNDING SOURCE:** Research Center for Immunology and Allergology, targeted funding.

**DECLARATION OF COMPETING INTEREST:** The authors declare no obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**DATA AVAILABILITY STATEMENT:** Data from the current study are available on reasonable request from the corresponding author.

## ВВЕДЕНИЕ

В последние годы углеродные материалы стали широко применяться в медицине благодаря наличию ряда уникальных свойств, в том числе, высокой биосовместимости. Появилось множество изделий с использованием различных форм углерода, предназначенных для имплантации в организм человека. Это, в свою очередь, потребовало уточнения терминологии и ужесточения требований, предъявляемых к подобным изделиям медицинского назначения [1, 2].

В связи с прогрессивным развитием современных технологий особое значение приобретает оценка биосовместимости, а точнее, молекулярных и клеточных реакций на изготовленный продукт.

Используемые согласно ГОСТ Р ИСО 10993.5–99 (2000 г.) методы тестирования материалов медицинского применения включают определение реакций клеток, в первую очередь цитотоксичности, на клеточных культурах [3]. Как правило, для этого используют стандартные клеточные культуры и линии [4].

Однако не исключается возможность, если требуется особая чувствительность, тестировать реакции первичных клеточных культур и линий клеток, полученных непосредственно из живых тканей [5].

Культуры клеток как тест-системы имеют ряд существенных преимуществ по сравнению с экспериментальными животными моделями. Клетки в культуре легко доступны для различных манипуляций, как, например, оценки модуляции ответа при непосредственном контакте тестируемого фактора или объекта с культивируемыми клетками, причем, в течение заданного периода времени [6].

Кроме того, что особенно актуально для имплантируемых изделий, возможно исследование ответа иммунных клеток на тестируемый материал с последующим прогнозированием вероятности отторжения конструкции и/или гиперэргических реакций.

**Цель исследования** — провести сравнительный анализ биосовместимости материалов, используемых для изготовления углеродных имплантов и перевязочных материалов с помощью живых культур клеток человека.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследованы образцы углеродных материалов: углеродная ткань ТГН-2М (углеродная повязка «Карпема») (образец 1) и углеродного войлока «Карботекстим-М» (имплант, замещающий удаленное глазное яблоко) (образец 2).

Препараты ранее стерилизованы согласно требованиям ГОСТа по стерилизации изделий медицинского назначения [7]. Из каждого образца готовили экстракт согласно ГОСТ 32075–2013 и ГОСТ 57467–2017. Для этого 100 мг материала помещали в 5,0 мл среды RPMI 1640. Экстракцию проводили в суховоздушном термостате при температуре 40°С в течение 24 ч.

В эксперименте использованы клетки 10 здоровых доноров, мужчин в возрасте от 25 до 34 лет. Мононуклеарные клетки (МНК) выделяли из периферической крови стандартным методом центрифугирования в градиенте фиколл-пак ( $\rho=1,077 \text{ г/см}^3$ ) [8].

Выделенные клетки разводили средой до рабочей концентрации  $2,5 \times 10^6$  клеток в мл и вносили в лунки трех (исследования 1, 2, 3) 96-луночных планшетов в объеме 200 мкл на лунку в среде RPMI 1640, содержащей 10% аутологичной плазмы, 0,3 мг/мл L-глутамин, 2 мМ/мл NEPES.

В исследовании 1 (оценка цитотоксичности, планшет 1) клетки культивировали при 37°С во влажной атмосфере с 5%  $\text{CO}_2$  в течение 24 ч в присутствии указанных экстрактов образцов 1 и 2, или без них в контроле. Готовили рабочий 0,4% раствор трипанового синего в культуральной среде. Клетки инкубировали с красителем 10 минут при 37°С, затем в камере Горяева подсчитывали процент окрашенных (мертвых) клеток на 300 клеточных элементов.

В исследовании 2 (оценка пролиферативной активности клеток в ответ на экстракты образцов, планшет 2) МНК культивировали в течение 36 ч в присутствии экстрактов углеродного материала (образцы 1 и 2), а также стандартного митогена — фитогемагглютинаина в концентрации 10 мг/мл (PHA P, Sigma) (контроль 2) и без добавок в чистой среде (контроль 1).

По окончании культивирования определяли пролиферативный ответ клеток по включению в ДНК радиоактивной метки (НЗ-тимидин).

В исследовании 3 (оценка влияния экстрактов образцов на синтез МНК про- и противовоспалительных цитокинов, планшет 3) МНК культивировали в течение 36 ч в присутствии экстрактов углеродного материала (образцы 1 и 2), а также стандартного митогена — фитогемагглютинаина в концентрации 10 мг/мл (PHA P, Sigma) (контроль ФГА) и без добавок в чистой среде (контроль СП — спонтанный синтез).

По окончании культивирования в супернатантах определяли уровень IL-2, IL-4, IL-6, TNF $\alpha$  с помощью иммуноферментных тест-систем Cloud-Clone Corp. (CCC, Wuhan). Исследования осуществляли по протоколам производителя. Чувствительность исследований (The limits of detection — LOD) для отдельных тестов были следующими: IL2–0,51 пг/мл, диапазон определения: 1,56–100 пг/мл; IL4–3 пг/мл, диапазон определения: 7,8–500 пг/мл; IL6–0,31 пг/мл, диапазон определения: 0,78–50 пг/мл; TNF $\alpha$  — 0,52 пг/мл, диапазон определения: 1,56–100 пг/мл.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета программы «Statistica-7».

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Исследование 1.

Результаты исследования 1 представлены в табл. 1 и на рис. 1.

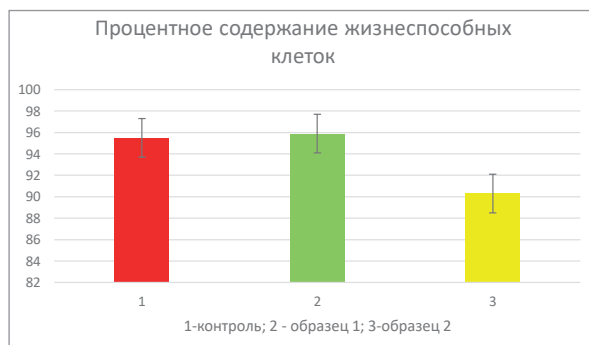


Рис. 1. Цитотоксичность углеродных материалов

Таблица 1. Процентное содержание жизнеспособных клеток после обработки экстрактами углеродных материалов

| Контроль  | Образец 1 | Образец 2  |
|-----------|-----------|------------|
| 95,5±1,62 | 95,9±0,96 | 90,3±1,84* |

Примечание: \* - статистически достоверно ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем

Как видно из иллюстраций, реакция на исследованные углеродные материалы была неоднозначной, когда цитотоксичность ткани «Карпема» практически отсутствовала, в то время как углеродный войлок «Карботекстим-М» обладал некоторой цитотоксичностью, достоверно отличающейся от контроля.

### Исследование 2.

Как видно из рисунка, все исследуемые образцы обладали антигенностью (чужеродностью) и вызвали пролиферативный ответ МНК периферической крови доноров (рис.2).

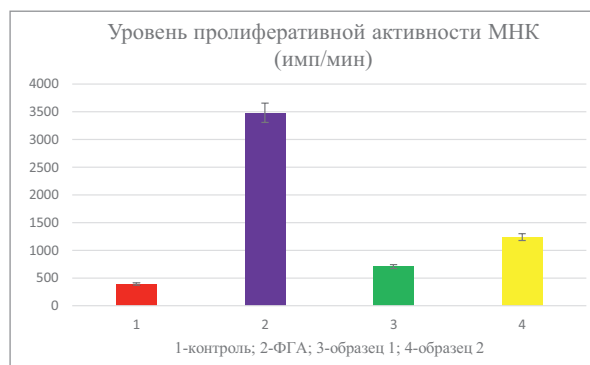


Рис. 2. Влияние углеродных материалов на лимфоидную пролиферацию

Установлено что оба исследованных образца обладали способностью стимулировать пролиферацию клеток, однако значительно ниже, чем стандартный митоген фитогемагглютинин (ФГА). При этом влияние образца 1 практически не отличалось от такового в контроле, а влияние образца 2, хотя и было очевидно выше, при статистической обработке оказалось недостоверным.

### Исследование 3.

Данные исследования влияния углеродных материалов на синтез МНК основных групп цитокинов in vitro приведены ниже на рис. 3, 4, 5, 6.

Установлено, что исследованные материалы не обладали специфичностью в отношении синтеза про- или противовоспалительных цитокинов. В целом их влияние на уровень продукции интерлейкинов и ФНО альфа

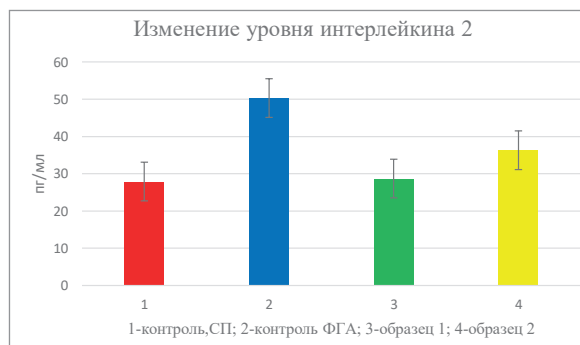


Рис. 3. Влияние углеродных материалов на синтез интерлейкина 2



Рис. 4. Влияние углеродных материалов на синтез интерлейкина 4

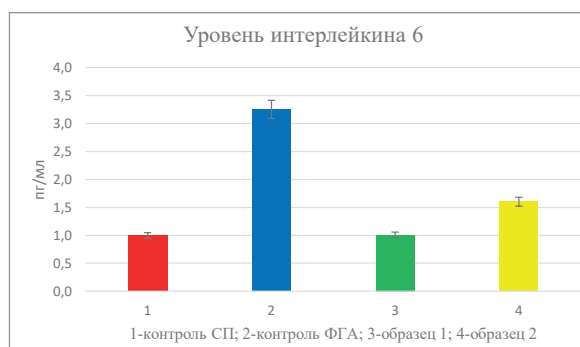


Рис. 5. Влияние углеродных материалов на синтез интерлейкина 6

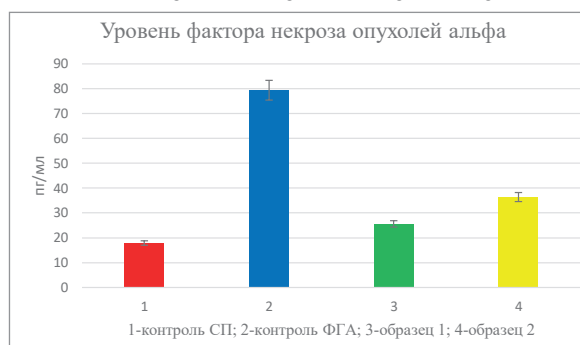


Рис. 6. Влияние углеродных материалов на синтез фактора некроза опухолей альфа

фа было подобно таковому в отношении стимуляции пролиферации. В отличие от ФГА, явно достоверно стимулировавшего синтез интерлейкинов 2,4,6, ФНО альфа, эффект исследованных образцов достоверно от контроля не отличался. Однако, как и в других опытах, относительно негативное влияние материала «Карботекстим-М» было более выраженным, хотя и оказалось недостоверным.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Как известно, совместимость углеродных материалов с биологической тканью обеспечивают физические свойства — электрохимический потенциал и поверхностная энергия и химический состав, в основном — наличие примесей.

Электрохимические исследования биосовместимости стеклогуглерода, пирографита, золота и платины методом электрохимии с использованием в качестве электролита сыворотки крови крупнорогатого скота показали, что электрохимический потенциал реакции на границе раздела имплантат — биосреда составил: стеклогуглерод + 0,315 мВ; пирографит + 0,346 мВ; золото + 0,340 мВ; платина + 0,332 мВ. Отсюда авторы делают вывод, что углерод по инертности близок к золоту и платине [9].

Полученные нами данные об имеющихся реакциях моноклеарных клеток человека на медицинские углеродные материалы, вероятнее всего, связаны с примесями, используемыми или попадающими в изделие в процессе изготовления.

Очевидно, неспецифический характер реакций, особенно синтеза цитокинов, указывает на общетоксический и раздражающий характер влияния данных примесей, что, несомненно, должно стать предметом детального исследования.

Вместе с тем факты митогенного эффекта, и, в особенности, факты стимуляции синтеза цитокинов, в том числе, провоспалительных, в ответ на материал, используемый в качестве имплантов, заставляют задуматься о совершенствовании технологий получения изделий, методов определения биосовместимости и более тщательном отборе реципиентов с учетом их иммунного статуса.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенные исследования позволили выявить незначительную цитотоксичность тестируемых медицинских углеродных материалов. При этом выявлены их митогенные и стимулирующие продукцию цитокинов свойства. Данный факт свидетельствует о целесообразности совершенствования методов тестирования биосовместимости медицинских материалов, в том числе, с использованием культур клеток человека.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Вирхов С.П., Холомина Т.А., Бегун П.И. и др. Биомедицинское материаловедение: учебное пособие для вузов // М.: Горячая линия-Телеком. — 2006. — 383 с.
2. Murray P.E. How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated / P.E. Murray, Godoy C. García, Godoy F. García // Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal. — 2007. — Vol. 12. — № 3. — P. 258–66.
3. ГОСТ Р ИСО 10993.5–99 (2000 г.), п. 5.1.
4. Пехташева Е.Л. Биоповреждения и защита непродовольственных товаров: Учеб. для студ. высш. учеб. заведений / Под ред. А. Н. Неверова // М.: Мастерство. — 2002. — 224 с. ISBN 5–294–00112–8.
5. ГОСТ Р ИСО 10993.5–99 (2000 г.), п. 5.2.
6. Волова Л.Т. Биологическая система оценки качества биоимплантатов с помощью клеточных технологий // Успехи современного естествознания. — 2008. — № 5. — С. 86–88.
7. Межгосударственный стандарт ГОСТ 1172–93 «Бинты марлевые медицинские. Технические условия» (введен в действие постановлением Комитета РФ по стандартизации, метрологии и сертификации от 2 июня 1994 г. № 160).
8. Практикум по иммунологии: Учеб. пособие / Под ред. И. А. Кондратьевой, В. Д. Самуилова // М.: Изд-во МГУ. — 2001. — 224 с.
9. Маянов Е.П., Золкин П.И., Аберяхимов Х.М. и др. Углеродные материалы в медицине // Журнал «Вестник Российской академии естественных наук». Вып. № 2. — 2016. — С. 26–30. ISSN 1682–1696.

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Волчек Игорь Анатольевич** — д.м.н., профессор кафедры кожных и венерических болезней с курсом косметологии МИНО ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ». Главный научный сотрудник НИИ иммунологии и аллергологии. Член-корр. Российской академии естественных наук. ORCID 0009-0000-1451-6145; SPIN-код: 6743-2105; AuthorID: 740245

**Аберяхимов Харис Максимович** — к.тех.н., член-корр. Российской академии естественных наук, вице-президент РАЕН, председатель отделения материаловедения РАЕН. ORCID 0009-0004-7726-8176

**Пехташева Елена Леонидовна** — д.тех.н., профессор кафедры товарной экспертизы и таможенного дела Российского экономического университета имени Г. В. Плеханова. ORCID 0000-0001-6474-3709

**Теряев Андрей Сергеевич** — Генеральный директор научно-исследовательского центра иммунологии и аллергологии. ORCID 0009-0005-8393-2093, SPIN-код: 6743-2105, AuthorID: 740245

## АВТОРСКИЙ ВКЛАД

**Волчек И.А.** — разработка концепции статьи, анализ публикаций по теме статьи; написание текста рукописи и ее редактирование.

**Аберяхимов Х.М.** — разработка и создание углерод-содержащих материалов, написание текста рукописи, редактирование.

**Пехташева Е.Л.** — обоснование и разработка технологических регламентов углерод-содержащих тканей, написание текста рукописи, обзор и редактирование.

**Теряев А.С.** — выполнение лабораторных исследований, написание и редактирование лабораторного раздела текста рукописи.

**ИНФОРМИРОВАННОЕ СОГЛАСИЕ НА ПУБЛИКАЦИЮ:** авторы получили письменное согласие пациентов на публикацию медицинских данных и фотографий.

**СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ:** проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации (Declaration Helsinki) в редакции 2024 г., соответствие протокола исследования этическим принципам было подтверждено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ» (Москва, Волоколамское шоссе, дом 11), протокол №11/6-5 от 9.09.2025.

**ПОСТУПИЛА:** 30.07.2025  
**ПРИНЯТА ПОСЛЕ РЕЦЕНЗИРОВАНИЯ:** 30.08.2025  
**ОПУБЛИКОВАНА:** 22.09.2025