

УДК 615.262

ИЗУЧЕНИЕ АЛЛЕРГИЗИРУЮЩЕГО И ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ «МАТЕРИАЛ КОЛЛАГЕНОВЫЙ РАССАСЫВАЮЩИЙСЯ КОЛЛОСТ®, ГЕЛЬ» НА ДОКЛИНИЧЕСКИХ МОДЕЛЯХ *IN VIVO*

И.А. Демьяненко¹, Н.В. Калмыкова^{1*}, С.В. Мельникова², А.В. Третьякова², А.И. Марченко², Л.В. Михина², А.П. Суслов¹

Резюме. Исследовали аллергизирующее и генотоксическое действие медицинского изделия «Материал коллагеновый рассасывающийся КОЛЛОСТ®» в форме 7% геля на лабораторных животных. Показано, что после сенсibilизации мышей в течение 30 дней с кратностью один раз в неделю гиперчувствительность немедленного типа у мышей в реакции активной кожной анафилаксии не выявляется. У морских свинок после трехкратной сенсibilизации с интервалом 48 ч конъюнктивальная проба не обнаруживает гиперчувствительности к медицинскому изделию. Методом максимального сенсibilизирующего воздействия кожно-сенсibilизирующее действие медицинского изделия на морских свинках не установлено. Учет хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей не обнаружил наличия генотоксического действия у медицинского изделия.

Ключевые слова: коллагеновый гель, аллергизирующее действие, генотоксическое действие, тест учета хромосомных aberrаций, лабораторные животные.

THE STUDY OF ALLERGENIC AND GENOTOXIC EFFECTS OF THE MEDICAL DEVICE «RESORBABLE COLLAGEN MATERIAL COLLOST®, GEL» IN THE PRE-CLINICAL MODELS *IN VIVO*

I.A. Demyanenko¹, N.V. Kalmykova^{1*}, S.V. Melnikova², A.V. Tretyakova², A.I. Marchenko², L.V. Mikhina², A.P. Suslov¹

Abstract. Allergenic and genotoxic effects of the medical device «Resorbable collagen material "COLLOST® gel» were studied in laboratory animals. It was shown that immediate-type hypersensitivity reaction is not detected in mice by the cutaneous anaphylaxis test after once weekly sensitization during 30 days. Conjunctival test revealed no hypersensitivity to medical device in guinea pigs after three times sensitization for every 48 hours. Guinea pig maximization test did not reveal any skin-sensitizing effect of the medical device. Bone marrow chromosome aberration test did not detect genotoxic effects of the medical device.

Keywords: collagen gel, allergenic effects, genotoxic effects, chromosome aberration test, laboratory animals.

1 – ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» (ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России), 123098, Россия, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18

2 – Научно-исследовательский центр токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов – филиал ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства (НИЦ ТБП – Филиал ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России), 142253, Россия, Московская обл., Серпуховский р-н, пос. Большевик, ул. Ленина, д. 102-А

1 – N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology & Microbiology, 18, Gamaley str., Moscow, 123098, Russia

2 – , Russia Research Center for Toxicology and Hygienic Regulation of Biopreparations - branch of FSBU "State Research Center Institute of Immunology of Federal Medical and Biological Agency, 102-A, Lenina str., Bolshevik village, Serpukhovskiy district, Moscow region, 142253, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: k.nina.v@mail.ru

Тел.: 8 (499) 190 57 21

ВВЕДЕНИЕ

Инъекционные биосовместимые материалы на протяжении длительного времени применяются в эстетической хирургии и косметологии с целью коррекции возрастных и атрофических изменений кожи. Наибольшую эффективность медицинские изделия и препараты данного типа проявляют при исправлении носогубных складок и морщин в нижней трети лица, а также при лечении атрофических рубцов, возникших вследствие

акне, травмы или хирургического вмешательства [1]. Основным компонентом инъекционных имплантатов служат различные нативные или химически модифицированные вещества биологического (коллаген, гиалуроновая кислота) и синтетического (поли-L-молочная кислота, гидроксипатит кальция, полиметилметакрилат и др.) происхождения [2]. Среди них коллаген, являющийся основным белком волокнистого внеклеточного матрикса [3], имеет наибольшую продолжительность широкого клинического

применения. Так, инъекционный имплантат Zyderm I (Inamed Aesthetics, США) на основе коллагена I типа, полученного из шкур крупного рогатого скота (КРС), был разработан в 1976 году и разрешен к применению Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA) в 1981 году [1]. Данные клинических исследований, а также обширный опыт практического применения свидетельствуют о высокой эффективности и безопасности инъекционных коллагеновых материалов [4–8].

Биосовместимость, способность к контролируемой биодеградации и индукции образования аутологичной соединительной ткани при данном процессе, возможность выступать в качестве матрикса для клеточной миграции [9–11] обуславливают популярность использования коллагена в качестве компонента имплантатов. В то же время преимущественное применение для производства инъекционных материалов коллагена ксеногенного (в первую очередь из КРС) происхождения считают основной причиной возникновения аллергических реакций, наблюдающихся у небольшой части пациентов [12]. В частности, согласно различным данным литературы, имплантаты марки Zyderm вызывают развитие реакций повышенной чувствительности (покраснение, припухлость, уплотнение, зуд кожи, крапивница) у 1–5% пациентов [1, 2, 12, 13]. Помимо аллергических реакций, в ходе длительного клинического применения имплантатов на основе коллагена КРС в редких случаях было зафиксировано возникновение гранулематозных тканевых реакций в области инъекций [14], а также отмечена возможная связь между введением коллагеновых дермальных имплантатов и возможностью возникновения дерматомиозита [15].

Накопленные клинические данные о биологических свойствах и возможных побочных эффектах инъекционных материалов на основе ксеногенного коллагена привлекают дополнительное внимание к вопросам, касающимся испытаний их безопасности. В настоящей работе представлены результаты изучения аллергизирующего и генотоксического действия отечественного инъекционного медицинского изделия на основе нативного коллагена дермы кожи КРС «Материал коллагеновый рассасывающийся КОЛЛОСТ®» в форме 7% геля на моделях *in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Планирование и проведение экспериментов осуществляли в строгом соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики (GLP), утвержденными ГОСТ 33044-2014 [16] и приказом Министерства здравоохранения и социального развития РФ № 119н от 01.04.2016 [17].

Объектом исследования являлось медицинское изделие «Материал коллагеновый рассасывающийся КОЛЛОСТ®, гель». Форма выпуска – стерильный гель

7% в шприцах объемом 3 мл с заглушкой. Состав геля: 7% (по массе) коллагена I типа нативного нереконструированного из шкуры КРС в 10% растворе глюкозы для инфузий. Производитель – ООО «БиоФАРМАХОЛДИНГ» (Россия, серия № 002, годен до 15.01.18).

Изучение *аллергизирующего и генотоксического действия* данного медицинского изделия проводили на моделях *in vivo*, рекомендованных в ГОСТ ISO 10993-3-2011 [18], ГОСТ ISO 10993-10-2011 [19], а также в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» под ред. А.Н. Миронова [20]. Выбор вводимых доз изделия осуществляли согласно указанным ГОСТ, а также директивам Организации экономического сотрудничества и развития (OECD) № 474, 475 [21, 22].

Лабораторные животные. Для проведения экспериментов использовали мышей линий Balb/c (n=30) и C₅₇Bl/6 (n=50), а также морских свинок – альбиносов (n=46) в равном соотношении по полу, полученных из питомника ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, Филиал «Андреевка» (Московская область, Солнечногорский район). Животных содержали в поликарбонатных клетках с подстилом из стружки лиственных пород деревьев («Лабораторкорм», Россия) при контролируемых значениях температуры (20–26 °С), влажности (30–70%) и воздухообмена (15 объемов/ч), соблюдении равных по длительности (по 12 ч) светового и темного периодов, а также при неограниченном доступе к питьевой воде и стандартному гранулированному корму для содержания лабораторных грызунов («Лабораторкорм», Россия). Перед началом экспериментов животных рандомизировали по массе тела. Всех животных выводили из экспериментов путем ингаляционного воздействия углекислого газа.

Обеспечение соблюдения принципов гуманного обращения с подопытными животными. Обоснованность использования лабораторных животных в исследовании, размер выборок, прижизненные манипуляции, метод выведения животных из эксперимента рассмотрены и утверждены биоэтической комиссией НИЦ ТБП – филиала ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России (протоколы № 530, 531 от 29.05.2015).

Изучение аллергизирующего действия

Для оценки аллергизирующего действия коллагенового геля исследовали его способность вызывать гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ) у мышей при курсовом введении (эксперимент № 1) и у морских свинок при трехкратном внутрикожном введении (эксперимент № 2). Кроме того, изучали способность медицинского изделия формировать гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) у морских свинок методом максимального сенсibilизирующего воздействия (эксперимент № 3). В экспериментах № 1 и № 2 опытные и контрольная группы состояли из 10 животных при равном соотношении по полу. В экспе-

рименте № 3 опытная группа состояла из 10-и животных, а контрольная – из 6-и, также при равном соотношении по полу. Животным контрольных групп во всех экспериментах вместо геля вводили по 0,1 мл 10% раствора глюкозы для инфузий (ООО «МОСФАРМ», Россия) по аналогичной схеме.

Эксперимент № 1. Двум опытным группам мышей линии Balb/c вводили гель внутрикожно в объеме 0,1 мл и 0,025 мл один раз в неделю в течение месяца. Через 14 дней после последнего введения для выявления сенсibilизации проводили реакцию активной кожной анафилаксии. Для этого всем животным на одной из боковых поверхностей тела внутрикожно инъецировали гель в объеме 0,05 мл. На другой боковой поверхности тела инъецировали 10% раствор глюкозы в том же объеме. Через 20 мин мышам в хвостовую вену вводили 0,2 мл 1% раствора синего Эванса («Диаэм», производство США). Спустя 30 мин животных выводили из эксперимента и оценивали диаметр пятна, образованного окрашенным синим Эванса экссудатом, на внутренней поверхности кожи в местах инъекций.

Эксперимент № 2. Двум опытным группам морских свинок – альбиносов вводили гель внутрикожно в объеме 0,1 мл и 0,025 мл трехкратно с интервалом 48 ч. Через 20 дней после последнего введения для выявления сенсibilизации проводили тестирование животных методом конъюнктивальной пробы. Для этого всем морским свинкам под верхнее веко вводили гель в объеме 0,05 мл, во второй глаз (контрольный) вводили такой же объем 10% раствора глюкозы. Реакцию оценивали визуально через 1, 24, 48 ч, используя полуколичественную (балльную) систему оценки: 0 – отсутствие видимых изменений состояния склеры и конъюнктивы, 1 – легкое покраснение слезного протока, 2 – покраснение слезного протока и склеры, 3 – покраснение всей конъюнктивы и склеры.

Эксперимент № 3. Каждой морской свинке опытной группы в выстриженные участки кожи спины вводили внутрикожно в двух повторах по 0,1 мл: 1) полного адъюванта Фрейнда (ПАФ), 2) геля 3) геля в смеси с ПАФ в соотношении 1:1. Через 7 суток всем животным опытной группы проводили аппликацию геля на 48 ч (1,5 мл/особь) на межлопаточную область спины. Животным контрольной группы апплицировали тот же объем 10% раствора глюкозы. Зону аппликации за 24 ч обрабатывали раствором 10% лаурилсульфата натрия в вазелине, так как в предварительном эксперименте при подборе апплицирующей дозы гель не вызывал никаких видимых изменений в состоянии кожи. Через 14 дней проводили провокационную пробу с целью выявления сенсibilизации животных. Для этого всем животным на кожу боковой части тела, не использовавшуюся для инъекций и аппликаций, наносили 1,5 мл геля и закрепляли фиксирующей повязкой на 24 ч. Затем фиксирующую повязку снимали и визуально оценивали состояние кожи непосредственно после снятия, через 24, 48 и 72 ч, используя полуколичественную систему оценки: 0 – отсутствие видимых изменений, 1 – дискретная или очаговая эритема, 2 – умеренная и сплошная эритема, 3 – интенсивная эритема и припухлость.

чувственную систему оценки: 0 – отсутствие видимых изменений, 1 – дискретная или очаговая эритема, 2 – умеренная и сплошная эритема, 3 – интенсивная эритема и припухлость.

Изучение генотоксического действия

Для оценки генотоксического действия коллагенового геля исследовали его способность вызывать хромосомные aberrации в клетках костного мозга мышей линии C₅₇Bl/6 (эксперимент № 4). Три опытные группы, а также группы положительного и отрицательного контроля состояли из 10 животных при равном соотношении по полу.

Эксперимент № 4. Мышам опытных групп вводили коллагеновый гель внутрикожно в дозе 2000 мг/кг массы тела. Двум опытным группам гель вводили однократно. При этом выведение животных из эксперимента и забор костного мозга проводили через 24 и 48 ч соответственно. Одной опытной группе гель вводили курсом по 3 раза в неделю в течение 14 дней. Забор костного мозга проводили через 24 ч после последнего введения. Группе отрицательного контроля вводили однократно внутрикожно 10% раствор глюкозы (в количестве, аналогичном объему геля, введенному опытным группам), группе положительного контроля – однократно внутривенно циклофосфамид (ООО «ЛЭНС-Фарм», Россия) в дозе 20 мг/кг; костный мозг в обоих случаях выделяли на анализ через 24 ч после введения.

За 3 ч до выведения из эксперимента всем животным вводили внутривенно 0,025% раствор колхицина (НПП «ПанЭко», Россия) в объеме 0,25 мл. После выведения мышам из эксперимента проводили выделение клеток костного мозга из бедренных костей и готовили препараты их метафазных хромосом стандартным суховоздушным способом [23]. Полученные препараты подвергали цитогенетическому исследованию. Анализировали по 100 метафаз от каждого животного. Подсчитывали число одиночных и парных фрагментов, хроматидных и хромосомных обменов, ахроматических пробелов (гепов), число метафазных пластинок с множественными повреждениями хромосом.

Статистическая обработка данных

Статистическую обработку полученных численных данных проводили при помощи программ STATISTICA 10 и SPSS. Для оценки нормальности распределения и равенства дисперсий использовали критерии Колмогорова – Смирнова и Левена соответственно. Для оценки статистической значимости отличий (эксперимент № 4) использовали критерий Краскелла – Уоллиса с последующим попарным сравнением групп по Данну [24]. Критическое значение уровня статистической значимости при проверке гипотез о нормальности распределения полученных

экспериментальных данных, равенстве дисперсий, а также отсутствии различий между экспериментальными группами принимали равным $p=0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение аллергизирующего действия

Исследование способности медицинского изделия вызывать у мышей гиперчувствительность немедленного типа (эксперимент № 1).

При проведении реакции активной кожной анафилаксии визуальный анализ кожи в местах инъекционного введения разрешающей дозы геля, а также 10% раствора глюкозы показал, что как в контрольной группе, так и в обеих опытных группах у 100% животных во всех точках инъекций область, окрашенная синим Эванса, была ограничена лишь местом введения иглы и составляла менее 1 мм в диаметре. Поскольку согласно «Методическим рекомендациям по оценке аллергизирующих свойств» [20] на наличие сенсibilизации указывает развитие в зоне введения разрешающей дозы выраженного пятна экссудата диаметром более 3 мм, полученные данные указывают на отсутствие ГНТ к медицинскому изделию у мышей в данной модели.

Исследование способности медицинского изделия вызывать гиперчувствительность немедленного типа у морских свинок (эксперимент № 2).

При проведении конъюнктивальной пробы полуколичественная оценка состояния склеры и конъюнктивы после введения под верхнее веко геля или 10% раствора глюкозы выявила, что у всех животных как в контрольной, так и в обеих опытных группах отсутствовали какие-либо визуальные изменения тканей обоих глаз (0 баллов) на всех исследованных сроках. Таким образом, отрицательная конъюнктивальная проба свидетельствует об отсутствии развития ГНТ к медицинскому изделию у морских свинок в данной модели [20].

Исследование способности медицинского изделия вызывать гиперчувствительность замедленного типа у морских свинок методом максимального сенсibilизирующего воздействия (эксперимент № 3).

В ходе полуколичественного исследования области аппликации геля изменение состояния кожи у 100% животных как в контрольной, так и в опытной группе на всех сроках было оценено в 0 баллов, что явилось показателем отсутствия эритемы и отека. Согласно ГОСТ ISO 10993-10-2011, о наличии сенсibilизации к компонентам медицинского изделия свидетельствует средняя полуколичественная оценка в опытной группе, равная или превышающая 1 балл, в том случае если у контрольных животных данный показатель менее 1 балла. Таким образом, результаты, полученные в данной модели, свидетельствуют об отсутствии развития ГЗТ к медицинскому изделию у морских свинок.

Изучение генотоксического действия

Исследование мутагенного действия медицинского изделия методом учета хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей (эксперимент № 4).

Микроскопический анализ цитогенетических препаратов показал, что в группе положительного контроля, находившейся под воздействием препарата циклофосфамид, обладающего мутагенной активностью, доля метафазных пластинок с повреждениями хромосом находилась в диапазоне 12–17%. В подавляющем числе случаев хромосомные aberrации были представлены одиночными фрагментами, в том числе и по несколько штук в одной метафазной пластинке, метафазные пластинки с множественными нарушениями составляли на различных препаратах 5–10%. В свою очередь, характер повреждений хромосом во всех опытных группах, а также в группе отрицательного контроля не различался: метафазные пластинки с множественными aberrациями не обнаружены, одиночные aberrации представлены концевыми делециями. Статистический анализ не выявил достоверных различий между опытными группами и отрицательным контролем (таблица 1). В то же время, группа положительного контроля достоверно превосходила все остальные экспериментальные группы по уровню хромосомных aberrаций. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии мутагенного действия у медицинского изделия в настоящей модели.

Таблица 1.

Результаты оценки мутагенного действия медицинского изделия после внутрикожного введения в дозе 2000 мг/кг

Экспериментальная группа	Продолжительность введения	Интервал между последним введением и аутопсией (часы)	Количество животных в группе	Количество метафазных пластинок с хромосомными повреждениями (% Me (Q1; Q3) ¹
1. Опыт	однократно	24	10	2 (1; 2,5)*
2. Опыт	однократно	48	10	1,25 (1; 2)*
3. Опыт	14 дней	24	10	1,75 (1; 2)*
4. Отрицательный контроль	однократно	24	10	1,75 (1; 2,5)*
5. Положительный контроль	однократно	24	10	15,00 (13; 16,5)

Примечания: ¹Me – медиана, (Q1; Q3) – квартили (нижняя, верхняя).

* $p<0,05$ по сравнению с группой положительного контроля.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на то, что коллаген обладает низкой иммуногенностью относительно большинства других белков [25], животное происхождение данного биорезорбируемого материала вызывает повышенную оза-

боченность практикующих специалистов касательно аллергических свойств и безопасности применения в целом медицинских изделий и лекарственных средств на его основе.

В настоящей работе проведено изучение аллергизирующего и генотоксического действия медицинского изделия «Материал коллагеновый рассасывающийся КОЛЛОСТ®, гель» на основе коллагена I типа из шкур КРС. Исследование выполнено на лабораторных животных (мыши, морские свинки) в экспериментальных моделях, рекомендованных принятой на законодательном уровне в Российской Федерации нормативной документацией, регламентирующей проведение доклинических испытаний безопасности медицинских изделий и лекарственных средств. Данные модели были предложены несколько десятилетий назад [23, 26–28] и на протяжении длительного времени являются стандартными для оценки аллергических и мутагенных свойств медицинских изделий *in vivo*.

Проведенный в различных экспериментах анализ аллергизирующего действия показал, что медицинское изделие не вызывает развития ГНТ у мышей и морских свинок при различных схемах сенсибилизации (курсовом и трехкратном внутрикожном введении). Также методом максимального сенсибилизирующего воздействия не выявлена способность геля формировать ГЗТ у морских свинок. Таким образом, аллергизирующие свойства медицинского изделия в использованных экспериментальных моделях *in vivo* не выявлены. Полученные данные свидетельствуют о низкой степени аллергенной активности компонентов медицинского изделия, а также в пользу низкого риска возможного проявления аллергических реакций при его клиническом применении. Тем не менее при экстраполяции на человека результатов, полученных в настоящей работе на лабораторных животных, необходимо принимать во внимание опубликованные данные о том, что характер иммунного ответа на коллаген, а также локализация распознаваемых антигенных детерминант на молекулах тропоколлагена в значительной степени может зависеть от видовой принадлежности как животного, из которого был получен коллаген, так и животного – реципиента данного белка [29]. Так, данные клинических наблюдений указывают на наличие у 2–4% популяции людей гиперчувствительности к коллагену КРС в составе инъекционных коллагеновых имплантатов [30–32].

Исследование генотоксического действия медицинского изделия КОЛЛОСТ® не выявило у него способности вызывать хромосомные aberrации в клетках костного мозга мышей как при однократном, так и при курсовом внутрикожном введении. Результат проведенного эксперимента, наряду с данными по отсутствию аллергенности в моделях *in vivo*, также говорит в пользу безопасности коллагенового геля. К настоящему времени не было опубликовано ни одной работы, свидетельствующей о возможном наличии какой-

либо мутагенной активности у коллагенов различных типов. Полученные экспериментальные данные об отсутствии цитогенетической активности у исследуемого медицинского изделия полностью соответствуют этому факту.

ЛИТЕРАТУРА

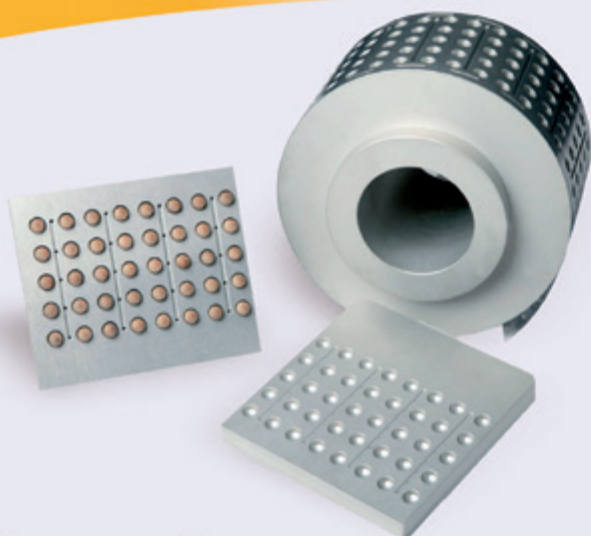
1. R.S. Narins, P.H. Bowman. Injectable skin fillers // *Clinics in plastic surgery*. 2005. V. 32. № 2. P. 151–162.
2. B.L. Eppley, B. Dadvand. Injectable soft-tissue fillers: clinical overview // *Plastic and reconstructive surgery*. 2006. V. 118. № 4. P. 98e–106e.
3. M.D. Shoulders, R.T. Raines. Collagen structure and stability // *Annual review of biochemistry*. 2009. V. 78. P. 929–958.
4. A.W. Klein, M.L. Elson. The history of substances for soft tissue augmentation // *Dermatologic surgery*. 2000. V. 26. № 12. P. 1096–1105.
5. T.R. Knapp, E.N. Kaplan, J.R. Daniels. Injectable collagen for soft tissue augmentation // *Plastic and reconstructive surgery*. 1977. V. 60. № 3. P. 398–405.
6. L.S. Cooperman, V. Mackinnon, G. Bechler, B.B. Pharriss. Injectable collagen: a six-year clinical investigation // *Aesthetic plastic surgery*. 1985. V. 9. № 2. P. 145–151.
7. B.A. Matti, F.V. Nicolle. Clinical use of Zyplast in correction of age- and disease-related contour deficiencies of the face // *Aesthetic plastic surgery*. 1990. V. 14. № 3. P. 227–234.
8. S.J. Stegman, T.A. Tromovitch. Implantation of collagen for depressed scars // *Journal of dermatologic surgery and oncology*. 1980. V. 6. № 6. P. 450–453.
9. А. М. Хилькин, А. Б. Шехтер, Л. П. Истратов, В. Л. Леманев. Коллаген и его применение в медицине. – М.: Медицина, 1976. 228 с.
10. S. Chattopadhyay, R.T. Raines. Collagen-based biomaterials for wound healing // *Biopolymers*. 2014. V. 101. № 8. P. 821–833.
11. D. Brett. A Review of collagen and collagen-based wound dressings // *Wounds* 2008. V. 20. № 12. P. 347–356.
12. S.H. Bentkover. The biology of facial fillers // *Fascial plastic surgery*. 2009. V. 25. № 2. P. 73–85.
13. F.M. Kamer, M.M. Churukian. Clinical use of injectable collagen. A three-year retrospective review // *Archives of otolaryngology*. 1984. V. 110. № 2. P. 93–98.
14. R.R. Moscona, R. Bergman, R. Friedman-Birnbaum. An unusual late reaction to Zyderm I injections: a challenge for treatment // *Plastic and reconstructive surgery*. 1993. V. 92. № 2. P. 331–334.
15. J. Cukier, R.A. Beauchamp, J.S. Spindler, S. Spindler, C. Lorenzo, D.E. Trentham. Association between bovine collagen dermal implants and a dermatomyositis or a polymyositis-like syndrome // *Annals of internal medicine*. 1993. V. 118. № 12. P. 920–928.
16. ГОСТ 33044-2014. Принципы надлежащей лабораторной практики. Введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 августа 2015 года приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 20 ноября 2014 года № 1700-ст.
17. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» от 01.04.16 г. № 199н.
18. ГОСТ ISO 10993-3-2011. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 3. Исследования генотоксичности, канцерогенности и токсического действия на репродуктивную функцию. Введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2013 года приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 13 декабря 2011 года № 1316-ст.

19. ГОСТ ISO 10993-10-2011. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Ч. 10. Исследования раздражающего и сенсибилизирующего действия. Введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2013 года приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 13 декабря 2011 года № 1347-ст.
20. Л.П. Коваленко, В.Н. Федосеева, А.Д. Дурнев, А.С. Иванова, Т.Б. Мастернак, А.Н. Миронов, Е.В. Арзамасцев, Т.А. Гуськова, И.Б. Жоголева, О.Л. Верстакова, Л.У. Радченко. Методические рекомендации по оценке аллергизирующих свойств лекарственных средств // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств: в 2 т. / Под ред. Миронова А.Н. – М.: Гриф и К, 2012. Т. I. С. 51–63.
21. OECD. Test № 474: Mammalian erythrocyte micronucleus test. – Paris: OECD Publishing, 2014. URL: <http://dx.doi.org/10.1787/9789264224292-en> (дата обращения 10.10.2017).
22. OECD. Test № 475. Mammalian Bone Marrow Chromosomal Aberration Test. – Paris: OECD Publishing, 2014. URL: <http://dx.doi.org/10.1787/9789264224407-en> (дата обращения 10.10.2017).
23. R.J. Preston, B.J. Dean, S. Galloway, H. Holden, A.F. McFee, M. Shelby. Mammalian in vivo cytogenetic assays. Analysis of chromosome aberrations in bone marrow cells // Mutation research. 1987. V. 189. № 2. P. 157–165.
24. С. Гланц. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1998. С. 351–352.
25. S. Gorgieva, V. Kokol. Collagen- vs. gelatin-based biomaterials and their biocompatibility: review and perspectives // Biomaterials Applications for Nanomedicine / Ed. R. Pignatello. – Rijeka: InTech, 2011. P. 17–52.
26. Z. Ovary. Immediate reaction in the skin of experimental animals provoked by antibody antigen interaction // Progress in allergy. 1958. V. 5. P. 459–508.
27. B. Magnusson, A.M. Kligman. The identification of contact allergens by animal assay. The guinea pig maximization test // Journal of investigative dermatology. 1969. V. 52. № 3. P. 268–276.
28. J.J. Parks, H.M. Leibowitz, A.E. Maumenee. Immediate hypersensitivity reactions in the cornea of the guinea pig // Journal of immunology. 1962. V. 69. P. 323–325.
29. A.K. Lynn, I.V. Yannas, W. Bonefield. Antigenicity and immunogenicity of collagen // Journal of biomedical material research. 2004. V. 71. № 2. P. 343–354.
30. L. Cooperman, D. Michaeli. The immunogenicity of injectable collagen. I. A 1-year prospective study // Journal of the American academy of dermatology. 1984. V. 10. № 4. P. 638–646.
31. L. Cooperman, D. Michaeli. The immunogenicity of injectable collagen. II. A retrospective review of seventy-two tested and treated patient // Journal of the American academy of dermatology. 1984. V. 10. № 4. P. 647–651.
32. G. Charriere, M. Bejot, L. Schnitzler, G. Ville, D.J. Hartmann. Reactions to a bovine collagen implant. Clinical and immunologic study in 705 patients // Journal of the American academy of dermatology. 1989. V. 21. № 6. P. 1203–1208.

teg

**РАСХОДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И КОМПЛЕКТУЮЩИЕ
ДЛЯ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ЛИНИЙ**

MPA
TECHNICAL DEVICES



**Оснастка для блистерно-картонажных
линий ведущих производителей от TEG**



**Роторно-поршневые насосы, иглы и
комплектующие для стерильных линий розлива
всех ведущих производителей от итальянской
компании MPA technical devices**

• оригинальные расходные материалы и комплектующие от европейских производителей
TEG и MPA technical devices - гарантия бесперебойной работы оборудования

• низкие эксплуатационные затраты
• срок поставки по РФ от 3 недель