

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего образования  
«Томский политехнический университет»

На правах рукописи



Филиппова Екатерина Олеговна

**РАЗРАБОТКА ПОЛИМЕРНЫХ КЕРАТОИМПЛАНТАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ  
БУЛЛЁЗНОЙ КЕРАТОПАТИИ**

Специальность: 2.2.12 – Приборы, системы и изделия медицинского назначения

Диссертация на соискание учёной степени  
доктора технических наук

Научные консультанты:

доктор физико-математических наук, профессор

Владимир Федорович Пичугин;

доктор физико-математических наук, профессор

Юрий Юрьевич Крючков

Томск – 2021

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	6
<b>ГЛАВА I АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР</b> .....	19
1.1 Анатомия и физиология роговой оболочки.....	19
1.2 Эпидемиология и этиопатогенез буллёзной кератопатии .....	21
1.3 Современные принципы лечения буллёзной кератопатии .....	24
1.4 Использование клеточной терапии в лечении буллёзной кератопатии .....	27
1.5 Использование искусственных материалов в кератопластике.....	28
1.6 Полимерные материалы в лечении буллёзной кератопатии .....	32
1.7 Биodeградируемые материалы, методы их изготовления и использование в медицине .....	35
1.8 Выбор материалов для изготовления кератоимплантатов в лечении буллёзной кератопатии.....	45
1.9 Полиэтилентерефталат .....	49
1.10 Полимолочная кислота .....	51
1.11 Трековые мембраны и основные принципы их получения .....	56
1.12 Требования к трековым мембранам как прототипам кератоимплантатов для лечения буллёзной кератопатии .....	58
1.13 Методы модификации поверхности полимерных мембран .....	59
1.14 Стерилизация полимерных изделий медицинского назначения.....	62
1.15 Цели и задачи исследования .....	64
Выводы по главе I .....	65
<b>ГЛАВА II МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	67
2.1 Материалы для создания кератоимплантатов из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты.....	67
2.1.1 Трековые мембраны из полиэтилентерефталата .....	67
2.1.2 Пленки и мембраны из полимолочной кислоты .....	67
2.2 Методики стерилизации: стерилизация в автоклаве, стерилизация гамма – лучами, стерилизация низкотемпературной плазмой атмосферного давления.....	69
2.3 Методика модификации поверхности материалов.....	70

2.4	Методика получения сколов .....	70
2.5	Методы изучения физических свойств .....	71
2.5.1	Электронно–микроскопические методы .....	71
2.5.2	Лазерная сканирующая микроскопия .....	71
2.5.3	Атомная силовая микроскопия.....	72
2.5.4	Порометрия полученных мембран .....	72
2.5.5	Определение среднего диаметра пор методом «точка пузырька».....	72
2.5.6	Исследование проницаемости мембран .....	73
2.5.7	Дифференциальная сканирующая калориметрия.....	73
2.5.8	Фазовый анализ и расчет степени кристалличности.....	74
2.5.9	Методы оптической спектроскопии.....	76
2.5.10	Измерение контактного угла и поверхностной энергии.....	76
2.5.11	ИК–спектроскопия .....	76
2.5.12	Спектроскопия комбинационного рассеяния света.....	78
2.5.13	Методика исследования прочности и механических характеристик .....	78
2.5.14	Трибологические испытания .....	79
2.5.15	Исследование скорости деградации биodeградируемого полимера.....	79
2.5.16	Анализ молекулярно-массовых характеристик .....	80
2.6	Медико-биологические исследования разработанных кератоимплантатов .....	81
2.6.1	Методика исследования цитотоксичности.....	81
2.6.2	Исследование биосовместимости <i>in vitro</i> на культуре мезенхимальных стволовых клеток.....	82
2.6.3	Исследования влияния имплантации разработанных кератоимплантатов на структуры глазного яблока биологических моделей <i>in vivo</i> .....	83
2.6.4	Методы морфологических исследований.....	86
2.6.4.1	Световая микроскопия.....	86
2.6.4.2	Просвечивающая электронная микроскопия .....	87
2.7	Методы статистической обработки экспериментальных данных.....	87
	Выводы по главе II .....	88
	<b>ГЛАВА III КЕРАТОИМПЛАНТАТ ИЗ ПОЛИЭТИЛЕНТЕРЕФТАЛАТА ....</b>	<b>89</b>

3.1 Трековая мембрана из полиэтилентерефталата .....	89
3.2 Модификация поверхности кератоимплантата из полиэтилентерефталата ...	92
3.3 Влияние $\gamma$ -стерилизации на свойства кератоимплантата из полиэтилентерефталата .....	99
3.4 Влияние паровой стерилизации на свойства кератоимплантата из полиэтилентерефталата .....	109
3.5 Результаты проницаемости кератоимплантата из полиэтилентерефталата .	117
3.6 Механические свойства кератоимплантата из полиэтилентерефталата .....	120
3.7 Трибологические испытания кератоимплантата из полиэтилентерефталата	125
3.8 Оптические характеристики кератоимплантата из полиэтилентерефталата	131
3.9 Результаты наблюдения микробоцидной эффективности воздействия низкотемпературной плазмы.....	135
3.10 Требования к параметрам кератоимплантата из полиэтилентерефталата для лечения буллёзной кератопатии .....	137
Выводы по главе III.....	138
<b>ГЛАВА IV КЕРАТОИМПЛАНТАТ ИЗ ПОЛИМОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ...</b>	<b>139</b>
4.1 Пленки из полимолочной кислоты.....	139
4.2 Модификация поверхности низкотемпературной плазмой.....	149
4.3 Влияние $\gamma$ -стерилизации на свойства пленок полимолочной кислоты .....	154
4.4 Влияние паровой стерилизации на свойства пленок полимолочной кислоты	159
4.5 Изменения молекулярной массы плёнок полимолочной кислоты .....	168
4.6 Изменение массы плёнок полимолочной кислоты в результате деградации	176
4.7 Кератоимплантат из полимолочной кислоты.....	178
4.8 Оптические характеристики кератоимплантата из полимолочной кислоты	195
4.9 Механические свойства и степень кристалличности .....	201
4.10 Результаты наблюдения микробоцидной эффективности воздействия низкотемпературной плазмы.....	208
4.11 Требования к параметрам кератоимплантата из полимолочной кислоты для лечения буллёзной кератопатии .....	208
Выводы по главе IV.....	209



<b>ГЛАВА V МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ РАЗРАБОТАННЫХ КЕРАТОИМПЛАНТАТОВ В ЛЕЧЕНИИ БУЛЛЁЗНОЙ КЕРАТОПАТИИ.....</b>	<b>211</b>
5.1 Цитотоксичность кератоимплантатов из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты.....	211
5.2 Результаты <i>in vitro</i> реакции стромальных клеток на кератоимплантаты из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты.....	214
5.3 Особенности патогенеза экспериментально индуцированной буллёзной кератопатии.....	219
5.4 Результаты внутростромальной имплантации кератоимплантата из полиэтилентерефталата на фоне экспериментально индуцированной буллёзной кератопатии в сравнении с традиционной фармакотерапией .....	228
5.5 Результаты внутрикамерной имплантации кератоимплантата из полимолочной кислоты с последующим наслоением суспензии аутологичных мононуклеарных лейкоцитов на фоне экспериментально индуцированной буллёзной кератопатии в сравнении с традиционной фармакотерапией.....	245
5.6 Рекомендации по применению кератоимплантатов из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты в хирургическом лечении буллёзной кератопатии .....	258
Выводы по главе V .....	259
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>261</b>
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....</b>	<b>263</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>265</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ «А» АКТЫ ВНЕДРЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ.....</b>	<b>328</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ «Б» ПАТЕНТЫ НА ИЗОБРЕТЕНИЯ.....</b>	<b>332</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ «В» ЗАКЛЮЧЕНИЯ ЭТИЧЕСКОГО КОМИТЕТА.....</b>	<b>336</b>

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы исследования.** В основе буллёзной кератопатии (БК) лежит повреждение эндотелия роговицы и утраты им функции полупроницаемой мембраны с постепенным развитием хронического отека роговой оболочки, сопровождающееся значительным снижением остроты зрения и выраженным болевым синдромом. БК занимает одну из лидирующих позиций среди причин корнеального слабовидения на территории Российской Федерации. По некоторым данным распространенность БК занимает 2-3% среди всей офтальмопатологии. Нарушение эндотелиального барьера роговицы возникает вследствие экстракции катаракты с имплантацией заднекамерной интраокулярной линзы (в 11% случаев) или переднекамерной интраокулярной линзы (в 14%); после антиглаукомных операций (6%), а также по причине эндотелиальной дистрофии Фукса.

Повреждение эндотелиального слоя роговицы вследствие непосредственного контакта с хирургическими инструментами, радужкой, хрусталиком является интраоперационной причиной развития БК. В работе З.И. Мороз приводятся данные, что неадекватно охлажденный наконечник факоэмульсификатора способствует разрушению эндотелиоцитов роговицы и денатурации стромальных протеинов, что приводит к локальному «обнажению» десцеметовой мембраны и развитию отека стромы роговицы. Пациенты с исходно низкой плотностью эндотелиальных клеток роговой оболочки и наличием соматических заболеваний (сахарный диабет, гипертоническая болезнь) более подвержены риску возникновения интраоперационных осложнений с последующим развитием БК. Единого мнения относительно механизма, ведущего к понижению плотности эндотелия роговицы вследствие высокого внутриглазного давления, нет, однако существуют гипотезы, указывающие на роль компрессионного механизма воздействия на эндотелиоциты, а также на наследственную предрасположенность и токсическое влияние фармакологических препаратов. Недостаточность знаний о механизмах

инициации, развития и прогрессировании БК обуславливает отсутствие единой, патогенетически обоснованной тактики лечения заболевания.

Лечебные мероприятия данного заболевания ведутся в консервативном или хирургическом направлениях. По мнению многих авторов, консервативное лечение БК является малоэффективным и обеспечивает кратковременный положительный результат. Радикальным и патогенетически ориентированным способом лечения данного заболевания является кератопластика в различных ее модификациях.

Одним из перспективных направлений в хирургическом лечении БК является применение кератоимплантатов на основе полупроницаемых мембран, которые, вследствие своей избирательной проницаемости, способны к поддержанию роговицы в слабо дегидрированном состоянии. Для достижения ключевых задач лечения (уменьшение отека роговой оболочки, нормализации строения переднего эпителия) необходимо создать пористый имплантат, отвечающий ряду требований: биосовместимость с тканями, клетками, а также жидкостями (в данном случае – с внутриглазной жидкостью) органа зрения; биоинертность; высокие коэффициент пропускания и прозрачность; удовлетворительные механические характеристики (гибкость, эластичность и, в то же время, прочность); контролируемая растворимость и безопасный гидролиз для резорбируемого изделия, а также подходящий под задачи диаметр пор и геометрия сквозного отверстия. В связи с чем, необходим поиск материала и типа мембран, отвечающих указанным условиям будущего кератоимплантата.

Из всех существующих мембран (ионообменные, клеточные матрицы (скаффолды), жидкие) наиболее перспективными в создании кератоимплантата являются трековые, так как они обладают уникальными характеристиками, такими как возможность варьирования размеров пор и их количество на единицу площади в зависимости от функционального назначения, малая дисперсия пор по размерам, низкий уровень дефектности, высокая селективность. На сегодняшний день в качестве полимерной матрицы для создания трековых мембран используют плёнки из поликарбоната, полиэтилентерефталата (ПЭТФ), полиимида,

полипропилена, полиэтиленнафталата, фторированных полимеров. Каждый из указанных полимеров имеет свои преимущества и недостатки, а также отработанную методику создания однородной пористой структуры методом ионно-трековой технологии. Стоит указать, что трековые мембраны (ТМ) из ПЭТФ ранее использовались в офтальмологических приложениях как дренажная система в хирургии рефрактерной глаукомы (Л.И. Кравец, Т.В. Рязанцева). Несмотря на перспективные результаты применения ТМ в офтальмологических приложениях, остается неясным возможность использования данного типа мембран в хирургии заболеваний роговицы.

Использование ТМ в качестве кератоимплантатов в лечении буллезной кератопатии позволит решить актуальную проблему корнеального слабовидения среди пациентов с эндотелиальной дисфункцией как на территории РФ, так и за ее пределами. Кроме того, применение полимерного пористого кератоимплантата уменьшит отек роговой оболочки, нормализует строение переднего эпителия, купирует буллы и эрозии на поверхности роговицы, что улучшит качество жизни больного с нарушенной функцией эндотелия.

#### **Степень разработанности темы исследования.**

Разработка и создание роговичных имплантатов для применения в кератопластике ведутся на протяжении последних пятидесяти лет. Так, например, Claes H. Dohlman использовал имплантаты на основе глицерил-метакрилатных дисков, которые при длительном пребывании в роговице снижали способность проходить водянистой влаге в ее слои и, как следствие, нарушали метаболизм роговой оболочки. S.L. Lane и J.B. Crawford провели серию имплантаций полисульфоновых и силиконовых линз в слои роговой оболочки, однако они способствовали образованию капсулы, эпителиальных кист, истончению переднего эпителия, что нарушало оптические свойства роговицы. Ferrara de Chunha P. использовал имплантат на основе полиметилметакрилата, но материал давал высокий процент зрительных аберраций и нарушение сумеречного зрения. З.Н. Джанаева произвела имплантацию пористого тетрафторэтилена для закрытия дефектов роговицы, но спустя некоторое время полимер был отторгнут. К.

Tonsomboon разработал мембрану из альгината как имплантат для лечения роговичных заболеваний, однако он не обеспечивал достаточную адгезию материала к тканям глаза. Liqiang Wang предпринял попытки апробировать мембрану из аргинилглициласпарагиновой кислоты в хирургии роговицы, но не получил удовлетворительных результатов.

В последнее время всё больший интерес для офтальмологии вызывают биodeградируемые полимеры, которые изготавливаются на основе разнообразных материалов: сложные полиэфиры, полиамиды, гетерополисахариды, полимеры гликолевой кислоты и их сополимеры. Так, например, полиамино-ко-гликолевая кислота из-за своей высокой биосовместимости и прозрачности получила широкое распространение в медицине, однако в качестве роговичного имплантата при имплантации с слои роговицы полимер вызывал умеренную воспалительную макрофагально-лимфоцитарную реакцию в нижней 1/3 строме и значительную – в передней 1/3 собственного вещества роговой оболочки.

Naleh Bakhshandeh совместно с другими учёными разработали имплантат на основе мембраны из поли-ε-капролактона, обработав его предварительно плазмой. Несмотря на ряд достоинств данного изделия материал не получил своего дальнейшего развития в кератопластике из-за высокой себестоимости и сложности изготовления.

Российские ученые М.М. Дронов и В.С. Каранов апробировали желатиновую пленку в качестве имплантата для лечения дистрофий роговицы, однако получили выраженный индуцированный астигматизм.

Привлекательным материалом для разработки внутрироговичных имплантатов оказался гидрогель и различные его модификации. Множество работ по использованию имплантата на основе гидрогеля в кератопластике подтверждали факт помутнения материала, его чрезмерную «мягкость» и, как следствие, затрудненную имплантацию.

T. Fuchsluger осуществил имплантацию коллагеновых мембран, которые способствовали клеточной гиперплазии и реорганизации коллагеновых волокон. P. Rama, апробируя имплантацию фибринового матрикса с эпителиальными

клетками, получил случаи аллогенного отторжения данного типа полимера и развитие воспалительных реакций.

Таким образом, опыт применения различных имплантатов полимерного происхождения в кератопластике показал отсутствие единого решения в изготовлении изделий для роговицы и необходимость дальнейшей разработки материалов.

**Целью диссертационной работы** является разработка кератоимплантатов на основе полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты для хирургического лечения буллёзной кератопатии.

В соответствии с целью диссертационной работы поставлены следующие **задачи:**

1. Выбор материалов для изготовления кератоимплантатов в лечении буллёзной кератопатии.

2. Определить требования к параметрам кератоимплантатов – из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты – при их хирургическом лечении буллёзной кератопатии.

3. Разработать методику получения кератоимплантата из полимолочной кислоты для хирургического лечения буллёзной кератопатии.

4. Получить прототипы кератоимплантатов из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты с заданными характеристиками.

5. Исследовать влияние модификации прототипов кератоимплантатов в низкотемпературной плазме на топографию их поверхностей, структуру, оптические и механические свойства.

6. Изучить влияние стерилизации на топографию поверхностей, структуру, оптические и механические свойства прототипов кератоимплантатов, а также определить способ и режим стерилизации разработанных изделий офтальмологического назначения.

7. Выявить морфологические особенности роговицы при индуцированном повреждении ее эндотелиального слоя на фоне интрастромальной и внутрикамерной имплантации разработанных кератоимплантатов.

8. Определить рекомендации по применению разработанных кератоимплантатов в хирургическом лечении буллёзной кератопатии.

**Научная новизна работы:**

1. Определены конструктивы кератоимплантатов, позволяющие нормализовать движение жидкости в роговичных тканях и поддерживать роговицу в слабо дегидрированном состоянии.

2. Разработана методика формирования пор с геометрией сквозного канала, приближенной к цилиндрической, в пленках из полимолочной кислоты, позволяющая получить из них трековые мембраны для последующего использования в качестве кератоимплантатов.

3. Показано, что воздействие низкотемпературной плазмы (температура поверхности 35°C–40°C) при режиме обработки поверхности 30 секунд обладает бактерицидным действием, способствует гидрофилизации поверхности и оказывает наименьшее деструктивное действие на прототипы кератоимплантатов из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты по сравнению с  $\gamma$ -излучением и автоклавированием.

4. Предложены методики кератопластики с использованием кератоимплантатов из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты для хирургического лечения буллёзной кератопатии.

5. В работе экспериментально доказано, что имплантация разработанного кератоимплантата из полиэтилентерефталата в слои роговой оболочки животных с индуцированной буллёзной кератопатией способствует уменьшению отека стромы на 31,7%, толщины переднего эпителия на 27,5% и нормализации строения клеток переднего эпителия роговицы по сравнению с показателями до имплантации.

6. Получены результаты имплантации кератоимплантата из полимолочной кислоты в переднюю камеру и последующего наслоения аутологичных мононуклеарных лейкоцитов на внутреннюю поверхность роговицы экспериментальных животных с индуцированной буллёзной кератопатией, свидетельствующие об купировании воспалительной реакции, эндотелиально–

мезенхимальном переходе эндотелия, и, как следствие, уменьшению отека стромы на 40,1%, толщины переднего эпителия на 37,7% и нормализации строения клеток переднего эпителия роговой оболочки по сравнению с показателями до имплантации.

### **Теоретическая и практическая значимость работы.**

Разработаны и созданы конструктивы кератоимплантатов для последующего их использования в хирургическом лечении буллезной кератопатии.

Разработанная методика создания сквозных пор в пленках из полимолочной кислоты путем ее облучения тяжелыми ионами  $^{132}\text{Xe}^{+26}$  и последующего химического травления открывает новые возможности в создании трековых мембран биodeградируемого типа.

Результаты по воздействию низкотемпературной плазмы и последующей стерилизации открывают новые возможности для решения научных задач в области исследования свойств материалов, в частности – свойств трековых мембран из биodeградируемого и нерастворимого материалов.

Результаты экспериментальных исследований *in vivo* расширяют имеющиеся представления о патогенезе буллезной кератопатии. Выявлено, что при удалении эндотелия роговой оболочки развивается альтеративная воспалительная реакция с выраженными структурно-функциональными нарушениями роговицы.

Экспериментальные исследования *in vivo* по имплантации трековых мембран из полиэтилентерефталата в слои роговой оболочки экспериментального животного с индуцированной буллезной кератопатией доказали переход альтеративных изменений в роговице в фазу пролиферативного воспаления, уменьшение отека стромы и нормализацию строения клеток переднего эпителия.

Экспериментальные исследования *in vivo* по имплантации трековых мембран из полимолочной кислоты в переднюю камеру глаза с последующим наслоением аутологичных мононуклеарных лейкоцитов крови на поврежденную поверхность роговицы экспериментального животного с индуцированной



буллёзной кератопатией доказали купирование альтеративной реакции, эндотелиально-мезенхимальный переход эндотелия, уменьшение отека стромы, нормализацию строения клеток переднего эпителия.

Разработанные имплантаты и методики по их применению в кератопластике откроют новые возможности в лечении буллёзной кератопатии.

#### **Методология и методы исследования.**

Методами исследования физико–химических свойств кератоимплантатов из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты являлись: электронная и атомная силовая микроскопия, порометрия, дифференциальная сканирующая калориметрия, рентгенофазовый анализ для расчета степени кристалличности, измерение контактного угла и поверхностной энергии, ИК–спектроскопия, спектроскопия комбинационного рассеяния света, анализ молекулярно-массовых характеристик, методы оптической спектроскопии, исследования механических и трибологических характеристик.

Исследования по применению прототипов кератоимплантатов из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты в лечении буллёзной кератопатии были проведены на биологических моделях в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Протоколы проведения экспериментальных исследований утверждены локальным этическим комитетом ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России (регистрационный номер № 3898 от 24.11.2014 г., №7892 от 27.05.2019 г.) и соответствует руководству ARVO по использованию животных в офтальмологических исследованиях.

Статистическая обработка данных проводилась с применением программы «IBM SPSS Statistics 23».

#### **На защиту выносятся следующие положения:**

1. Кератоимплантат из полиэтилентерефталата толщиной 8мкм характеризуется наличием пор с цилиндрической геометрией сквозного канала, средним диаметром 0,5мкм и плотностью  $6,2 \times 10^7$  пор/см<sup>2</sup>, шероховатостью  $R_a$  0,57мкм, средним краевым углом смачивания водой 33°, поверхностной энергией 132,7мДж/м<sup>2</sup>, коэффициентом коллимированного пропускания в видимой области

(38,5–41)%, не оказывает цитотоксического действия на изолированные клетки костного мозга, обеспечивая их жизнеспособность 95,25%.

2. Технология изготовления мембраны путем облучения тяжелыми ионами  $^{132}\text{Xe}^{+26}$  плёнок из полимолочной кислоты с последующим травлением в 1,0М растворе NaOH при температуре травления 44°C в течении 15 минут позволяет создать кератоимплантат со сквозными порами диаметром 0,65мкм и геометрией сквозного канала, приближенной к цилиндрической.

3. Кератоимплантат из полимолочной кислоты толщиной 15мкм характеризуется наличием пор с цилиндрической геометрией сквозного канала, средним диаметром 0,65мкм и плотностью  $(3,2\pm 0,4)\times 10^6$  пор/см<sup>2</sup>, шероховатостью  $R_a$  внутренней стороны 9,4нм, внешней – 18,1нм, средним краевым углом смачивания водой 50,3°, поверхностной энергией 52,9мДж/м<sup>2</sup>, коэффициентом пропускания в видимой области (93–96)%, не оказывает цитотоксического действия на изолированные клетки костного мозга, обеспечивая их жизнеспособность 94,83%.

4. Имплантация кератоимплантата из полиэтилентерефталата в слои роговицы экспериментального животного с индуцированной буллёзной кератопатией способствует уменьшению отека собственного вещества роговицы на 31,7%, толщины переднего эпителия на 27,5% и нормализации строения клеток переднего эпителия роговой оболочки по сравнению с показателями до имплантации, при этом не вызывая избыточный фиброгенез и формирование соединительно-тканного рубца.

5. Имплантация кератоимплантата из полимолочной кислоты в переднюю камеру глаза с последующим наслоением суспензии аутологичных мононуклеарных лейкоцитов экспериментального животного с индуцированной буллёзной кератопатией способствует уменьшению отеку стромы на 40,1%, толщины переднего эпителия на 37,7% по сравнению с показателями до имплантации, а также купированию альтеративной реакции, эндотелиально–мезенхимальном переходе эндотелия, и, как следствие, стабилизации патологического процесса рассматриваемого заболевания.

6. Стерилизация  $\gamma$ -облучением кератоимплантата из полиэтилентерефталата приводит к образованию поверхностных дефектов неправильной формы средним размером  $5\pm 0,2\text{мкм}$ , глубиной  $0,5\pm 0,2\text{мкм}$ ; стерилизация горячим паром под давлением способствует появлению неравномерно распределенных по всей поверхности образований овальной формы диаметром  $1,5\text{--}3\text{мкм}$  разработанного изделия офтальмологического назначения.

#### **Личный вклад автора.**

Все представленные результаты получены при личном участии автора. Кроме того, постановка цели, задач, проведение и анализ экспериментальных данных, определение требований к параметрам кератоимплантатов для лечения буллезной кератопатии и рекомендаций по их применению при хирургическом лечении заболевания, формулировке выводов и положений, выносимых на защиту, подготовке публикаций по теме работы, апробация результатов на конференциях осуществлены непосредственно соискателем.

#### **Связь работы с научными программами, планами, темами.**

Диссертационная работа выполнялась в НИ ТПУ в соответствии с программой конкурентоспособности НИ ТПУ (ВИУ-НОЦ Б.Л. Вейнберга-210/2018), грантами РФФИ № 18-315-00048 «Медико-биологическое обоснование применения трековых мембран в лечении буллезной кератопатии», № 19-415-703005 «Влияние имплантации тонких пленок на основе полимолочной кислоты на морфологию роговой оболочки при буллезной кератопатии», № 20-08-00648 «Разработка биodeградируемых полимерных кератоимплантатов для офтальмологии», при поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (договор № 2283ГУ1/2014), а также по плану НИР ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России в рамках комплексной темы «Клеточные технологии лечения патологии органа зрения».

#### **Достоверность и апробация результатов.**

Достоверность результатов обеспечивается использованием современного стандартизированного оборудования и методов исследования, большим массивом

экспериментальных данных и их статистической обработкой, сопоставлением полученных результатов с литературными данными.

Основные результаты диссертационной работы были доложены и обсуждены на международной конференции Second International Conference on Radiation and Dosimetry Fields of Research (Ниш, Сербия, 2014); VII международной научно-практической конференции «Физико-технические проблемы в науке, промышленности и медицине» (г. Томск, 2015); XII международной конференция студентов и молодых ученых «Перспективы развития фундаментальных наук» (г. Томск, 2015–2020); 10-й международной конференции «Ядерная и радиационная физика» (г. Курчатов, Казахстан, 2015); всероссийской научной конференции с международным участием «Сопряженные задачи механики реагирующих сред, информатики и экологии» (г. Томск, 2016); юбилейной научно-практической конференции, посвященной 20-летию курса офтальмологии ФПК и ППС СибГМУ «Современные технологии диагностики и лечения заболеваний органа зрения» (г. Томск, 2014); V международной научно-практической конференции «Достижения и перспективы естественных и технических наук: материалы» (г. Ставрополь, 2014); международной конференции «Перспективные материалы с иерархической структурой для новых технологий и надежных конструкций» (г. Томск, 2015); 7-й всероссийской научной конференции с международным участием им. И.Ф. Образцова и Ю.Г. Яновского «Механика композиционных материалов и конструкций, сложных и гетерогенных сред» (г. Москва, 2017); International conference «Materials science of the future: research, development, scientific training» (г. Нижний Новгород, 2019); международных конференциях «Перспективные материалы с иерархической структурой для новых технологий и надежных конструкций» и «Химия нефти и газа» в рамках международного симпозиума «Иерархические материалы: разработка и приложения для новых технологий и надежных конструкций» (г. Томск, 2018); VIII международной молодежной научной школе-конференции «Современные проблемы физики и технологий» (г. Москва, 2019); XXII международной медико-биологической конференции молодых исследователей

«Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье» (г. Санкт-Петербург, 2019); международной научно-технической конференции «Наукоемкие технологии функциональных материалов» (г. Санкт-Петербург, 2019); VIII международной молодежной научной школе-конференции «Современные проблемы физики и технологий» (г. Москва, 2019); 14th International Conference "Gas Discharge Plasmas and Their Applications" GDP 2019 (г. Томск, 2019); 7th International Conference «New Functional Materials and High Technology («NFMHT-2019»)» (г. Тиват, Черногория, 2019); XI и XII всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы офтальмологии» (г. Москва, 2016–2017); всероссийской научной конференции офтальмологов «Невские горизонты – 2016» (г. Санкт-Петербург, 2016); IV и V Всероссийской молодежной научно-практической офтальмологической конференции «ОКО-2016» и «ОКО-2017" (г. Уфа, 2016–2017); научно-практической конференции по офтальмохирургии с международным участием «Восток-Запад – 2015» и «Восток-Запад – 2016» (г. Уфа, 2015–2016); XI международной (XX Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых (г. Москва, 2016); научно-практической конференции, посвященной 85-летию офтальмологической службы Кемеровской области и 30-летию Кемеровской областной клинической больницы (г. Кемерово, 2015); международном конгрессе «Пролиферативный синдром в биологии и медицине» (г. Москва, 2016–2018); XIX международном симпозиуме имени академика М.А. Усова (г. Томск, 2015); всероссийской школе-конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Материалы и технологии XXI века» (г. Казань, 2014); VIII съезде научного медицинского общества анатомов, гистологов и эмбриологов (г. Воронеж, 2019); Seventh International Conference on Radiation in Various Fields of Research (RAD 2019 Conference) (г. Херцег-Нови, Черногория, 2019); конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина. Человек и его здоровье» (г. Санкт-Петербург, 2019); LXXX ежегодной итоговой научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием

«Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины – 2019» (г. Санкт-Петербург, 2019); III международном молодежном научно-практическом форуме «Медицина будущего: от разработки до внедрения» (г. Оренбург, 2019).

#### **Реализация и внедрение результатов работы.**

Результаты работы внедрены в производство мембран резорбируемого типа для систем фильтрации ООО «Аквелит», в учебный процесс кафедры офтальмологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России в тематическом разделе «Патология роговицы» для обучения студентов и клинических ординаторов. Разработанная хирургическая методика имплантации материалов при заболеваниях роговицы использована и внедрена в лечебный процесс офтальмологической клиники профессора Запускалова (ООО «Гранд Ретина»). Метод применения аутологичных моноклеарных лейкоцитов в лечении буллезной кератопатии внедрен в клиническую практику офтальмологической клиники ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 87 научных работ. Из них 22 статьи в научных журналах, входящих в перечень рецензируемых научных журналов и изданий ВАК, 16 публикаций в зарубежных изданиях, входящих в базу Scopus и Web of Science. Получено 4 патента РФ на изобретение.

**Структура и объем диссертационной работы.** Работа состоит из введения, 5 глав, заключения, списка литературы из 470 наименования, списка сокращений и условных обозначений и трех приложений. Всего 339 страниц машинописного текста, включая 201 рисунок и 15 таблиц.

## ГЛАВА I АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР

### 1.1 Анатомия и физиология роговой оболочки

Роговица является высокоорганизованной прозрачной структурой глаза и главной преломляющей средой в оптической системе глазного яблока, в норме имеет толщину 450–600 мкм в центре, 650–750 мкм – на периферии [1] и пять слоев: эпителий, Боуменова мембрана, собственное вещество или строма, Десцеметова мембрана, эндотелий [2–5].

Передний эпителий представлен в виде нескольких рядов различных типов клеток. В связи с высокой регенераторной способностью, основной функцией эпителия является защита роговой оболочки от различных неблагоприятных воздействий внешней среды. Передняя пограничная мембрана или Боуменова мембрана – тонкая (8-10 мкм) и бесструктурная, соединенная с эпителиальным слоем хемидесмосомами и другими филаментами, представляет собой слой волокон коллагена I типа. Собственное вещество или строма состоит из взаимопересекающихся под углом гомогенных тонких соединительнотканых пластинок, которые представляют собой пучки коллагеновых фибрилл. Между фибриллами располагаются фибробласты, активно синтезирующие коллаген и компоненты внеклеточного матрикса [1, 3, 5]. Волокна и клетки погружены в богатое гликозаминогликанами вещество.

Изнутри к строме прилежит задняя пограничная пластинка, состоящая из тонких фибрилл коллагена IV, коллагена VIII, фибронектина, энтактина, ламинина и перлекана различной ориентации. Задняя пограничная пластинка связана со стромой непрочно и при колебании внутриглазного давления собирается в складки.

Эндотелий является слоем плоских гексагональных клеток – эндотелиоцитов – с круглыми ядрами [6-10]. В норме у человека 40–60 лет плотность эндотелиоцитов составляет 2200 – 3200 клеток / мм<sup>2</sup> [10], что значительно меньше, чем в раннем детском возрасте – 5000 клеток/мм<sup>2</sup> [11-17].

Доказано, что эндотелиальный слой роговицы находится в нерепликативном состоянии. Замещение травмированных клеток эндотелия и поддержание функциональной целостности слоя происходит за счет изменчивости формы эндотелиоцитов и их размеров, а также миграции клеток в зону повреждения, при этом плеоморфизм снижается (в норме более 50%), а полимегализм увеличивается (в норме менее 45%). Несмотря на то, что митотические процессы эндотелиального слоя блокированы, в последнее время появляется множество работ, свидетельствующие о слабой регенераторной способности эндотелия. В работе [18] имеются данные о наличии стволовых клеток в области эндотелия, прилегающей к линии Швальбе. Это создает своего рода регенераторный потенциал для эндотелиального слоя роговицы. Кроме того, доказано, что в области лимба локализован пул стволовых клеток, участвующие в восстановительных процессах роговой оболочки, в том числе эндотелия [19]. В 1981 г. учеными В.Я. Бродским и И.В. Урываевой была доказана способность эндотелиального слоя роговицы к полиплоидизирующему митозу, заключающийся в увеличении размеров клеточных ядер [20], сохранении функциональной активности и обеспечении метаболических процессов, которые являются вариантом регенерации роговицы. В 2003 г. были получены данные, свидетельствующие о пролиферативной активности эндотелиального слоя роговицы при контакте с сывороткой крови [21]. Автор работы [21] отмечал, что кровь, ее плазма, обогащена ростовыми факторами, которые могут повышать пролиферативную активность клеток. Исследования ученых под руководством P. Rieck показали повышение активности пролиферации эндотелиоцитов факторами роста фибробластов FGF<sub>2</sub> в 2,1 раза и TGF-β<sub>1</sub> в 1,9 раза. Синергизм этих факторов увеличивает пролиферацию эндотелиальных клеток в 4,5 раза [22]. Имеются сведения о стимуляции пролиферации эндотелия – заднего эпителия роговицы – эпидермальным фактором роста (Epidermal Growth Factor, EGF). Морфологические результаты исследований по стимуляции эндотелия показали наличие митотических телец на внутренней поверхности роговицы после четырех дней культивирования роговичной ткани с EGF [23, 24].



Физиологическая функция эндотелиального слоя сводится к поддержанию роговицы в слабодегидрированном состоянии за счет барьера между собственным веществом и влагой передней камеры [25, 26, 27].

Протеогликановый матрикс основного вещества роговицы обладает свойством давления набухания – увеличение объёма вещества в результате поглощения жидкости, что является хорошей предрасположенностью к возникновению отёка. Так как общая концентрация и активность  $\text{Na}^+$  в основном веществе роговице выше, чем в водянистой влаге передней камеры на 8,5 мЭкв/л, формируется градиент натрия и осуществляется диффузия воды, которая происходит посредством функционирования метаболических насосов или помп, расположенных на мембране эндотелиоцитов и контролируемых Na, K-АТФазами [28–38].  $\text{Na}^+$ , K-АТФаза поддерживает градиент  $\text{Na}^+$ , образующий электрохимический потенциал, и играет главную роль в поддержании осмотического давления [39–43]. Отклонения от физиологической нормы концентраций внутриклеточного и экстрацеллюлярного натрия становятся важным звеном в патогенезе различных патологических процессов [44–49], в том числе буллёзной кератопатии.

## **1.2 Эпидемиология и этиопатогенез буллёзной кератопатии**

Буллезная кератопатия является одной из основных заболеваний по корнеальному слабовидению [50, 51, 52]. Согласно данным [53] распространенность данного заболевания не превышает 2% среди всей офтальмопатологии. Множество работ [54–56] приводят сведения о 13% риске развития буллёзной кератопатии вследствие любых микрохирургических вмешательств, причем до 10% приходится на факоэмульсификацию катаракты. Согласно сведениям межотраслевого научно-технического комплекса «Микрохирургия глаза», ежегодно около 30% кератопластик проводится по поводу данного заболевания [57].

В развитии дисфункции эндотелия роговицы участвуют дегенеративные и инфекционные процессы, приводящие к гибели клеток эндотелия [57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 56, 51]. При объеме эндотелиоцитов менее 500 клеток на 1 мм<sup>2</sup> (нормальная плотность – 2000 – 2500 кл/мм<sup>2</sup>), увеличивается проницаемость роговицы и влага передней камеры диффундирует в собственное вещество с развитием хронического отёка [65, 66]. При прогрессировании стромального отёка возникает межклеточный отёк эпителия, который непосредственно связан с развитием микроцист и образованием на роговичной поверхности пузырей – булл. С прогрессированием заболевания и, как следствие, нарушением метаболических процессов в роговичной ткани, в глубоких слоях основного вещества образуются сосуды, формируется фиброзная ткань (рис. 1.1).



Рисунок 1.1 – Механизм развития буллёзной кератопатии

Клинически буллезная кератопатия проявляется снижением остроты зрения, светобоязнью, ощущением «инородного тела» и выраженным болевым симптомом,

возникающим при разрыве булл и обнажении нервных окончаний роговой оболочки (рис. 1.2).

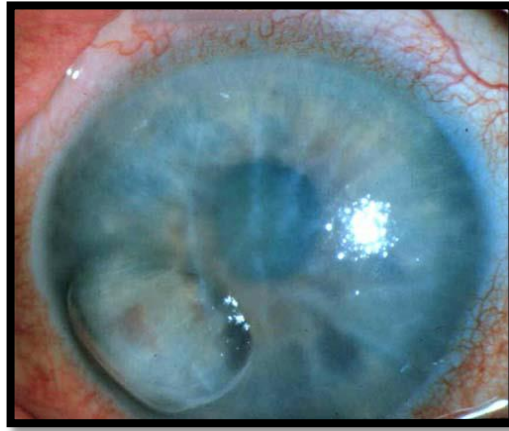


Рисунок 1.2 – Отёк роговицы и булла на поверхности роговицы пациента с буллёзной кератопатией

Согласно литературным данным, нарушение барьера эндотелия появляется является следствие офтальмохирургии [67–79]. Так, например, в 14% случаев эндотелиальная дисфункция возникает после имплантации переднекамерной интраокулярной линзы (ИОЛ), в 11,3% – после имплантации заднекамерной ИОЛ, в 5,8% – после операций, направленных на нормализацию внутриглазного давления [80]. По данным американских исследований, частота послеоперационного отёка роговицы вследствие хирургических вмешательств на переднем отрезке составляет 0,06% при имплантации заднекамерной ИОЛ, 1,2% – при имплантации переднекамерной ИОЛ, 1,5% – при имплантации ИОЛ типа iris-clips [81, 82]. Сама процедура факэмульсификации ведет к потере эндотелиальных клеток в 10% случаев [83, 84].

Повреждение эндотелиального слоя роговицы вследствие непосредственного контакта с хирургическими инструментами, радужкой, хрусталиком является интраоперационной причиной развития буллёзной кератопатии [85]. Пациенты с исходно низкой плотностью эндотелиальных клеток и с наличием соматических заболеваний (сахарный диабет, гипертоническая болезнь) более подвержены риску возникновения интраоперационных

осложнений и развития данного заболевания. В 1980 г. K. Setala опубликовал данные о влиянии внутриглазного давления на снижение плотности эндотелиоцитов [86]. M. Gagnon в 1997 г. показал, что плотность эндотелиального слоя роговой оболочки значительно ниже у пациентов с закрыто- и открытоугольной формами глаукомы [87].

Таким образом, потеря эндотелиальных клеток ниже критического порогового диапазона (500 клеток/мм<sup>2</sup>) первичного или вторичного генеза приводит к необратимой декомпенсации эндотелия роговицы и развитию буллёзной кератопатии, клинически проявляющейся снижением остроты зрения, светобоязнью, ощущением «инородного тела» и выраженным болевым симптомом.

### **1.3 Современные принципы лечения буллёзной кератопатии**

Лечение буллёзной кератопатии ведётся в консервативном и хирургическом направлениях [88, 77, 89]. Отмечено, что консервативные методы, включая традиционную фармакотерапию, позволяют достичь слабое уменьшение стромального отёка роговицы, непродолжительное купирование симптомов дискомфорта и боли, а также невысокое и нестабильное улучшение зрительных функций [90, 91].

Патогенетически ориентированным методом лечения буллёзной кератопатии в настоящее время является кератопластика, имеющая глубокие исторические корни [92, 93, 94]. Согласно литературным данным, первые успешные результаты кератопластики были получены ирландскими офтальмологами под руководством S. Bigger в 1837 г. [95]. В дальнейшем идея данного хирургического вмешательства была подхвачена немецкими врачами, выполнив в эксперименте послойную кератопластику с ксенотрансплантацией роговичного диска без отторжения имплантата в послеоперационном периоде [96]. Несколько позже, в 1905 г. офтальмохирургом E. Zirm была произведена успешная трансплантация роговицы мужчине с двухсторонним помутнением роговой оболочки [97]. Значительного успеха по пересадке роговицы достигли советские офтальмологи под руководством

профессора В.П. Филатова, выполнив на сорок лет более трех тысяч кератопластик с прозрачным заживлением трансплантата в 60% случаев [98].

Кератопластика является одним из распространённых методов лечения дистрофических заболеваний и помутнений роговицы, значительно опережающим число трансплантаций других органов и тканей [85, 99]. Данное хирургическое вмешательство условно подразделяется на нетрансплантационную и трансплантационную, к последней относится сквозная пересадка роговицы.

Сквозная кератопластика как радикальный и патогенетически ориентированный метод лечения буллёзной кератопатии позволяет восстановить зрение в 90% случаев. В качестве материала для сквозной кератопластики выступает донорская роговица, получение которой сопряжено с рядом нерешенных вопросов нормативно-правового регулирования процедуры забора тканей для трансплантации [100, 101, 102]. Правовые ограничения, риск развития послеоперационных осложнений, длительная реабилитация и высокая вероятность рецидива заболевания [103, 104, 53, 52] обусловило модификацию сквозной кератопластики, в результате чего была предложена грибовидная кератопластика [105], имеющая следующие преимущества: надежная адаптация краев раны, низкий риск послеоперационного астигматизма и сокращение сроков реабилитации [105]. Несмотря на явные преимущества данного вида кератопластики многие офтальмологи [106, 107] характеризуют ее технически сложной и требующей существенных временных затрат, поэтому данный способ был модифицирован [108].

В 1993 г. разработан способ замены эндотелия роговицы путем трансплантации ее задних слоев [109], что послужило основой задней послойной кератопластики – Posterior lamellar keratoplasty (PLK) и Deep lamellar endothelial keratoplasty (DLEK) [110]. Российские офтальмологи [111], апробируя метод DLEK, указали на его эффективность при эндотелиальной дисфункции роговицы, подчеркнув предсказуемый рефракционный результат, отсутствие негативного влияния придаточного аппарата глаза на имплантат и невысокую частоту дислокаций трансплантата. Хотя метод был тепле принят многими

офтальмологами, некоторые авторы наблюдали в 2% случаев полную отслойку трансплантата, в 16% – частичную, в 7% – реакцию отторжения и в 6% – несостоятельность эндотелия.

В 2005 г. был предложен другой вариант эндотелиальной кератопластики – Descemet's stripping endothelial keratoplasty (DSEK) [112]. Данный метод обеспечивал уменьшение отёка роговицы, и, как следствие, улучшение зрительных функций. Недостатками способа являлась отслойка и дислокация трансплантата, что, по данным ряда авторов, могло достигать до 50% случаев [53, 91].

В 2006 г. в целях создания равномерного и контролируемого по глубине среза трансплантата DSEK был модифицирован. Метод получил следующее название – Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty (DSAEK) [113, 114]. По мнению многих офтальмохирургов [113], DSAEK являлся эффективным методом хирургического лечения пациентов с эндотелиальной дисфункцией, позволяющий добиться быстрой зрительной реабилитации, не приводящей к нарушению трофики и иннервации роговицы, сохраняя неизменной ее топографию. Однако, некоторые технические особенности DSAEK, выражающиеся в послеоперационном гиперметропическом сдвиге рефракции и относительно редком повышении остроты зрения до 1,0, способствовали разработке методов получения ультратонкого трансплантата задних слоев роговицы [115]. Получение указанного материала необходимой толщины было достигнуто путем сепарации микротомом нескольких срезов эндотелиального трансплантата и формированием наименьшей толщиной остаточной стромы. Данный метод получил свое название – Ultrathin DSAEK, однако, из-за относительно высокого риска выбраковки донорского материала и отсутствия единого мнения о толщине трансплантата в настоящее время не нашел своего широкого применения [116].

В 2006 г. группой ученых предложили новый – с высокими клинико-функциональными результатами – метод эндотелиальной кератопластики – Descemet's membrane endothelial keratoplasty (DMEK) [117]. Согласно исследованиям, при DMEK наблюдался до 30% риск отслоения трансплантата, что

препятствовало широкому распространению и применению данной операции в офтальмохирургической практике.

#### **1.4 Использование клеточной терапии в лечении буллёзной кератопатии**

Использование клеточной терапии в лечении рассматриваемого заболевания может являться альтернативой радикальной хирургии [118, 119, 120], имеющей риск развития гнойных осложнений и отторжения трансплантата.

М. de Luca в 1989 г. и соавторы сделали серьёзные предпосылки в развитие регенеративной офтальмологии, обратив внимание на большой потенциал использования стволовых клеток в лечении дефектов роговицы [121, 122]. С работ М. de Luca исследователей привлекло внимание изучению межклеточных и клеточно-матриксных взаимодействий, регулируемых цитокинами, факторами роста, адгезивными рецепторами, онкогенами, а также роли этих взаимодействий в тканевой организации. Идея самоорганизации ткани обратила внимание ученых на клетки фибриллообразующего [123] ряда – основного типа клеток волокнистой соединительной ткани, способных к физиологической регенерации и поддержании структурной организации и гомеостаза клеточно-матриксных взаимодействий [124].

Особый интерес представляют мононуклеарные лейкоциты – клетки с высоким секреторным потенциалом. Согласно литературным данным, роль данных клеток основывается на их фагоцитарных, регенераторных и эффекторных свойствах и способности секретировать многочисленные цитокины [125, 127], что может иметь хороший потенциал для репаративной регенерации эндотелиального слоя роговицы.

Значительного успеха в применении мононуклеаров крови в терапии буллёзной кератопатии достигли офтальмологи под руководством профессора А.А. Каспарова. Метод заключался во введении в переднюю камеру глаза взвеси аутологичных мононуклеарных лейкоцитов, стимулированных комплексом полиадириловой полиурациловой кислот (полиА:полиУ) [118, 119, 120]. Авторы в

своих работах установили, что мононуклеары, продуцируя под действием полиА:полиУ ИЛ-1, 6, ФНО- $\alpha$ , ИФН- $\alpha$ , ИЛ-8, TGF- $\beta$ 1, PDGF-AB, TGF- $\beta$ 2, VEGF, ИФН- $\gamma$ , ИЛ-4, способствуют подавлению ингибирования митоза клеток эндотелия роговицы, тем самым обеспечивая клинический эффект лечения: заживление раневого дефекта, стимуляция пролиферации клеток, усиление продукции коллагена, миграция эндотелиоцитов в зону повреждения.

N. Okumura и соавт. [127, 128], заинтересовавшись клеточной терапией в лечении буллезной кератопатии, использовал эндотелиальные клетки, содержащие ингибитор Rho-ассоциированных киназ (ROCK) – Y-2763. Ингибитор Rho-ассоциированных киназ (ROCK) – Y-27632 в условиях постоянной циркуляции внутриглазной жидкости (ВГЖ) повышает адгезионную способность клеток, увеличивая тем самым успешность применяемого метода, ранее который успеха не имел, так как в условиях циркулирования ВГЖ адгезии эндотелиальных клеток к поверхности десцеметовой мембраны не происходило.

### **1.5 Использование искусственных материалов в кератопластике**

В середине XX века была проведена итрастромальная имплантация линз из целлоидина, по результатам которой были выявлены выраженный неоваскулогенез и помутнение роговицы [129]. Следом, советские офтальмохирурги провели кератопластику с применением различных синтетических материалов в строму роговицы. Ученые пришли к выводу, что в целях избегания экстррузии материала необходимо имплантировать материал ближе к Десцеметовой мембране [130].

В период 1970 – 72 гг. советские ученые провели эксперименты по кератопластике с использованием линз из оргстекла [135, 136]. Ареактивность и возможность варьирования диоптрийности способствовали созданию из данного полимера кольцевых имплантатов для ослабления рефракции роговой оболочки. С 1976 г. по 1980 г. группа офтальмологов апробировали имплантацию линз из пластмассы АКР-7. Диаметр имплантата при этом составлял (6–7) мм, толщина материала не превышала (0,5–1,0) мм. Несмотря на перспективные результаты



данных исследований, ученые сошлись в мнении, что для ареактивного пребывания в роговице толщина изделия, как и диаметр должны быть меньше [131, 132].

Согласно данным работ [133, 134] при интракорнеальной имплантации глицерил-метакрилатных дисков с высоким (до 68%) содержанием воды в раннем послеоперационном периоде наблюдается асептический некроз собственного вещества роговой оболочки в 52% случаев [133, 134]. В более поздних сроках (спустя 3,5 месяца) осложнения купируются, ткани роговицы имплантируемого полимера уплотняются, между коллагеновыми волокнами выявляются умеренная воспалительно-регенераторная реакция.

В.Е. McCarey использовал для интракорнеальной имплантации гидрогелевые линзы. Хотя, материал показал себя ареактивным и биосовместимым, рефракционный эффект был слабым и нестабильным [137, 138, 139]. Схожие результаты получили P. Binder [140], M. McDonald [141] и T. Werblin [142]. Двое офтальмологов S.L. Lane и J.B. Crawford отдельно друг от друга провели имплантации полисульфоновых [147] и силиконовых [148] линз в строму роговицы, которая выявила следующие недостатки материалов: выраженная капсуляция полимера, формирование эпителиальных кист, снижение прозрачности роговой оболочки, адсорбция на имплантате липидов, протеинов и других молекул, сложность производства из данных материалов роговичных дисков, пригодных для хирургического использования.

W. Stone и E. Herbert апробировали полиметилметакрилат (ПММА) [145, 146]. Материал выгодно отличался от других: высокую биосовместимость, ареактивность, малый вес готового изделия, приближенный к роговице рефракционный индекс, пластичный, но в то же время плотный, упругий. P. Ferrara de Cunha повторил эксперименты по применению ПММА и убедился не только в преимуществах полимера, но и указал следующие недостатки: высокий процент возникающих в послеоперационном периоде жалоб на «засветы», нарушение сумеречного зрения [149].

М.Р. Омиадзе в 1991 г. использовал в качестве внутрироговичных линз сополимер коллагена [150] и отметил следующее: материал обладал приближенным к роговице рефракционным индексом, значительной гидрофильностью, высокой эластичностью. З.И. Мороз [143, 144], повторяя опыт М.Р. Омиадзе по применению в кератопластике сополимеров коллагена, описал случаи экструзии имплантата, отложения на изделии, чрезмерную «мягкость» материала и, как следствие, затрудненную его имплантацию.

Т. Fuchsluger провел эксперименты по имплантации биосинтетических модифицированных карбодиимидом коллагеновых мембран [151]. Офтальмолог отметил устойчивость материала к ферментам и высокую эластичность готового изделия, которая обуславливала варьирование хирургических манипуляций при имплантации полимера. Из недостатков отмечено избыточный фиброгенез и изменение полимерной матрицы.

Следом был апробирован имплантат «Гиаматрикс» – фотохимически наноструктурированный гидроколлоид гиалуроновой кислоты и матричного пептида, который способствовал уменьшению продолжительности воспалительных процессов в тканях роговице, ускорению пролиферации и хорошей адгезии клеток на матриксе, но апробации полимера в клинических условиях в литературе не описана [152].

В начале нового века ученые озадачились поиском новых материалов с минимальным риском осложнений в постоперационном периоде и относительной простотой в изготовлении. Так, например, Haleh Bakhshandeh предложил мембрану из поли-ε-капролактана, обработанную плазмой [153]. Материал после плазменного воздействия обладал гидрофильностью, высокой пропускной способностью и способностью к значительному растяжению. Однако дороговизны и сложности изготовления данная разработка не получила дальнейшего развития.

Другой группой ученых была предложена рапамицин-обработанная поли(ε-капролактан)-поли(этиленгликолевую) мембрана [154], отличительной особенностью которой являлась обработка поверхности изделия рапамицином (сиролимусом), что предотвращало активацию клеток лимфоцитарного звена и

снижало риск развития иммунного ответа. Однако из-за высокой стоимости фармпрепарата и его аналогов и сложности изготовления готового изделия данная разработка не получила дальнейшего развития.

З.Н. Джанаевой был апробирован пористый тетрафторэтилен, который показал чрезмерную адгезию клеток на мембране, частичное помутнение роговицы, значительный период деградации [155].

Liqiang Wang разработал геликоидального мультимембранного имплантат аргинилглициласпарагиновой кислоты, который апробировал в экспериментах *in vivo*. Несмотря на высокую биосовместимость изделия, отсутствие неоваскуляризации, многие аспекты (такие как проницаемость полимера для различных макромолекул, деградация имплантата со временем) предложенного материала до конца не изучены [156].

R. Sipehia совместно с группой ученых разработали внутрироговичные обработанные аммониевой газообразной плазмой линзы из сополимера гидроксиэтилметакрилата [157]. Новый материал обладал превосходными адгезионными свойствами, которые, в свою очередь, являлись причиной снижения гидрофильности линз, что не лучшим образом сказывалось на тканях роговицы.

Помимо указанных ранее материалов, разработки по созданию роговичных имплантатов велись на основе следующих полимеров: N-изопропилакриламид-ко-глицидилметакрилата [158], гидроксиэтилметакрилата [159], олигоуретанметакрилата [160], акрила с гидрофильным покрытием [161]. Перечисленные материалы являются либо малоизученными, либо обладают низкой прозрачностью и приводят к уплотнению стромы вокруг имплантата, а также к помутнению всей роговицы.

J.K. Suh обратил внимание на природных полимер – хитозан (вещество формирующее твердый экзоскелет членистоногих) и создал на его основе внутрироговичную линзу, которая обладала антибактериальными свойствами. Недостатком предложенного изделия была индукция непредсказуемой девиантности в поведении адгезированных клеток [162]. Позднее предприняли другие ученые попытку модифицировать хитозан, результатом которой была

получена хитозан-полиэтиленгликоль гидрогелевая пленка [163], которая в результате биodeградации выделяла под действие тканевых ферментов роговицы выделяла токсические продукты.

И.И. Агапов в 2009 г. начал исследования спидроина – нового синтетического материала на основе шелка паутиной нити, в качестве материала для кератопластики [164]. Разработки ведутся и в настоящие дни, в литературе встречаются лишь единичные работы по поводу данной темы.

Изучаются также свойства мембран из альгината, разработанных К. Tonsomboon в 2013 г. Данный материал имеет значительные преимущества: заданная пористость, которая необходима для диффузии жидкости и некоторых молекул растворенных веществ, высокая биосовместимость и биоинертность, свойства биodeградации. В то же время отмечается недостаточная адгезия клеток на материале для создания отдельных слоев искусственной роговицы [165].

## **1.6 Полимерные материалы в лечении буллёзной кератопатии**

В 1997 г. были предложены желатиновые пленки для хирургического лечения буллёзной кератопатии [166]. Пленка изготавливалась из желатина путем дублирования NNN"N" тетраизопрорксиметилдиамидом малоновой кислоты (ЛИКИ – 19) и обладало необходимой прозрачностью и адгезионной прочностью [166, 167]. Для имплантации материала ученые использовали метод послойной кератопластики, согласно которой пленку укладывают на заранее подготовленное роговичное ложе, накрывают выкроенным роговичным лоскутом и фиксируют швами. Хотя материал как и выбранная хирургическая методика казались весьма привлекательными для лечения буллёзной кератопатии, метод оказался весьма трудоёмким с высоким риском развития индуцированного астигматизма. Следом, был предложен для барьерной кератопластики гидрогелевый диск, который послужил созданию новой методы лечения буллёзной кератопатии [168]. Согласно способу, гидрогелевый диск имплантировался в слои роговой оболочки. Преимуществом метода было то, что края роговичного туннеля

самогерметизировались и наложения швов не требовали. Хотя на первый взгляд способ выглядел простым, имелась техническая сложность хирургического вмешательства в виде расслоения роговицы. Кроме того, высокая гидрофильность имплантируемого материала не способствовали широкому распространению метода.

А.А. Верзин разработал биополимер на основе гидрогеля и фибронектина – фиброгель, содержащий до 48% воды [169]. Отличительной особенностью фиброгеля являлось наличие гликозаминогликанов – углеводная часть протеогликанов, сходящих в состав межклеточного вещества соединительной ткани. И, учитывая, что строма роговицы состоит из соединительной ткани, то данный факт являлся неоспоримым преимуществом разработанного материала. Однако А.А. Верзином как осложнения описаны случаи экстррузии имплантата, выраженный фиброгенез с формированием соединительнотканной капсулы вокруг изделия, отложения на полимере, а также чрезмерная «мягкость» материала, что затрудняло его имплантацию в слои роговой оболочки.

Ю.А. Шустеров, учтя недостатки предыдущих материалов и способ их имплантации, разработал имплантат из гидрогеля полиуретана с более низким влагосодержанием (38%) и подвергнул его воздействию низкотемпературной газоразрядной плазмы. Изделие получилось биосовместимым, прозрачным и гибким. При доклиническом исследовании данного имплантата автор выявил биоинертность материала и отсутствие выраженного васкулогенеза. Однако, стоит отметить, что все эксперименты были краткосрочными и сложно судить о влиянии материала на состояние тканей роговой в долгосрочном периоде и на протекание буллезной кератопатии [170].

Группа ученых под руководством GuoGuang Niu предложили использовать имплантаты размером от 1-2 мм до 6 мм, толщиной от 1 мкм до 100 мкм на основе биологически совместимых материалов: полиметилметакрилата (ПММА), силикона, силиконового каучука, коллагена, гиалуроновой кислоты, акрилового или метакрилового гидрогелей, гидроксипропилметакрилат или частично гидролизованного поли (2-гидроксипропилметакрилат / метакриловая кислота /

сополимера), полисульфона. Согласно этому способу, имплантат на основе одного из указанных полимеров со сформированными парацентрными отверстиями крепится к задней поверхности роговицы по методу задней пластинчатой кератопластики (PLK) или эндотелиальной кератопластики с замещением десцеметовой мембраны (DSEK) путем подготовки роговичного ложа (предварительное удаление части эндотелия и десцеметовой мембраны) и последующим введением связующего вещества. В качестве связующего вещества могут выступать поли-L-лизин, поли-D-лизин, фибронектин, ламинин, коллаген I, II, III и IV типа, тромбоспондин, полистирол, витронектин, полиаргинин и фактор тромбоцитов IV. Кроме того, в данном способе указывается необходимость использования цитотоксических агентов: белки, ингибирующие рибосомы (сапорин и рицин), а также антимиотические препараты, такие как метотрексат, 5-фторурацил, дауномицин, доксорубин, митоксантрон, алкалоиды барвинка, винбластин, колхицин и цитохалазины и ионофоры, такие как монензин и убаин. Не смотря на ряд преимуществ данного способа (возможность варьирования материала для создания имплантата, широкий разбег его размеров и толщины), главными недостатками являются: необходимость подготовки роговичного ложа с удалением эндотелия и десцеметовой мембраны, обязательное использование связующего агента, необходимость применения цитотоксических препаратов [171].

Таким образом, разработанные ранее учеными полимерные имплантаты для лечения буллезной кератопатии имеют и преимущества и недостатки. Неоспоримым является то, что они являются весьма перспективными для использования в кератопластике и необходимо продолжить поиск оптимального, с точки зрения патогенеза, для лечения рассматриваемого заболевания.

## **1.7 Биодegradуемые материалы, методы их изготовления и использование в медицине**

Биодegradуемые полимеры вызывают большой интерес для офтальмологии, в частности – в хирургическом лечении буллезной кератопатии, и имеют преимущество перед нерастворимыми изделиями – возможность контролировать скорость биодegradации. Согласно многочисленным работам, биоразлагаемые полимеры активно применяются в качестве систем доставки лекарственных средств в структуры глазного яблока.

Биоразлагаемые полимерные микросферы с контролируемым высвобождением лекарственных средств нашли свое применение в различных областях медицины (лечение рака предстательной железы, эндометриоза и других половых гормонзависимых), включая офтальмологию [172]. Разработано три доступа введения биоразлагаемых микросфер, нагруженных лекарственными средствами: внутрикамерное, интравитреальное [173, 174, 175, 176, 177, 178] и субконъюнктивальное [175, 179, 180, 181]. В качестве субконъюнктивальных имплантатов широко исследованы полиангидридные имплантаты, содержащие антиметаболиты, для ингибирования фиброза после операции по поводу глаукомы [182, 183].

Чаще всего микросферы получают методом выпаривания растворителя. Данный способ был разработан и введен группой ученых во главе с L.R. Beck [184]

Полимолочная кислота (ПМК) и поли-D,L-лактид-ко-гликолид (PLGA) являются наиболее перспективными биоразлагаемыми полимерами [185, 186] в медицине. Эти полимеры синтезируются двумя способами. Первый способ включает в себя непосредственную реакцию конденсации мономеров, в результате чего получают полимеры с низкой молекулярной массой, а второй метод основан на полимеризации с циклическим раскрытием циклических димеров, что дает полимеры с высокой молекулярной массой. Полимеры при неферментативном или ферментативном гидролизе создают водорастворимые продукты обмена, которые безвредны для живых тканей [187], и дegradируют, главным образом, за счет

массовой эрозии. Деграция полиэфиров *in vitro* в основном происходит путем гидролитического расщепления, а в *in vivo* важную роль играют ферменты в иницировании процесса деграции. Продукты разложения молочной кислоты и гликолевой кислоты являются нетоксичными и устраняются в виде  $\text{CO}_2$  и воды по циклу Кребса [188].

Микросферы их полиамино-ко-гликолевой кислоты (PLGA) получили широкое распространение как внутриглазные имплантаты для доставки дексаметазона (Ozurdex®). Микросферы на основе полимера PLGA нагружают дексаметазоном путем растворения лекарства в растворе полимера с добавлением органического летучего растворителя. Далее, после эмульгирования полученной смеси в непрерывной водной фазе, содержащей эмульгатор, органический растворитель выпаривают, получая твердые частицы, загруженные лекарственным средством [174]. Кроме того, микросферу на основе PLGA нагружают антиглаукомными препаратами Бримонидином и Тимололом, и используют в пролонгированном лечении глаукомы [189]. W.L. Fei с соавторами в 2008 г., используя опыт коллег по созданию микросфер на основе PLGA, предложили использовать полимер для кератопластики [190], получив хорошие результаты. Согласно другим работам [191], имплантация PLGA в витреальную полость способствует нарушению оптических свойств стекловидного тела

Сложные эфиры (PEA) являются биоразлагаемыми полимерами, объединяющие сложноэфирные и амидные группы в полимерной цепи, которые способствуют улучшению биоразлагаемости и приданию нужных физико-технических и механических свойств материалу. Более того, важной особенностью данных полимеров является то, что текущая композиция PEA преимущественно деградирует через механизм эрозии поверхности. Полимеры синтезируют путем поликонденсации раствора солей ди-*p*-толуолсульфоновой кислоты, бис- ( $\alpha$ -аминокислоты)  $\alpha$ ,  $\omega$ - диэфир-диэфира, бензилового эфира, лизина и ди-*N*-гидроксисукцинимид в безводном диметилформамид (ДМФ). Использование предварительно активированной кислоты в реакции позволяет проводить полимеризацию при низкой температуре, что обеспечивает появление



поликонденсатов и продуктов разложения [192, 193]. Полимеры выводятся из реакционной смеси в две стадии осаждения.

Микросферы на основе РЕА (РЕА Ms) получают через растворитель и испарение эмульсии. Для этого, 2 мл органической фазы, состоящей из РЕА / DCM (15%), эмульгируют в 5 мл водном растворе поливинилового спирта PVA (2%) при 8500 об / мин в течение 1 мин (Polytron PT 3000, Kinematica, Люцерн, Швейцария). Затем эмульсию выливают в 100 мл водный раствор PVA (0,1%) и выдерживают при постоянном перемешивании в течение 4 часов, чтобы обеспечить испарение и отверждение органического растворителя микросферы. После чего полученные РЕА Ms промывают, фильтруют при низкой температуре (4°C), и суспензируют в 1 мл водном растворе 2% маннита, используемого в качестве криопротектора. Суспензию лиофилизируют путем выдерживания при 4°C в эксикаторах до непосредственного использования. Для подготовки микросфер РЕА, содержащих дексаметазон (DX-РЕА Ms), полимер диспергируют в 60 мг дексаметазоне путем обработки материала ультразвуком (Sonicator XL, Head Systems, Айова, США) в 2 мл органической фазе, состоящей из РЕА/DCM (15% мас. / об.) в течение 3 минут [194].

Поли алкил цианоакрилаты (РАСА) являются стеклообразными полимерами, синтезируется из мономера алкилцианоакрилата, который обладает биоадгезивными свойствами, образует прочную связь с полярными поверхностями, включая живые ткани. Полиметилакрилат, состоящий из мелких алкильных цепей, не применим к доставке лекарств из-за тканевой токсичности и воспаления. Поэтому в клинических условиях, в частности – в лечении заболеваний глазного яблока, используются более крупные алкильные цепи, такие как н-бутил, октилцианоакрилаты. В медицинских целях РАСА применяется в формах пленок и волокон путем экструзии расплава материала в присутствии аминных отвердителей при температуре (230–250)°C [195]. При более высоких температурах переработки материал резко снижает свои оптические свойства и желтеет. Дегградация полимера происходит путем ферментативного гидролиза алкильной боковой цепи, производящего алкиловый спирт и поли (цианоакриловая кислота). Кроме пленок

и волокон, полимер получают в виде биоразлагаемых наночастиц, которые насыщают лекарственными средствами. Для начала, полимеры синтезируют анионной полимеризацией мономеров алкилцианоакрилата в воде. Далее, реакцию инициируют атакой гидроксильных остатков, присутствующих в воде на концевой метиленовой группе мономеров алкилцианоакрилата. Полученные карбанионы ведут себя как нуклеофилы и далее взаимодействуют с другими алкилцианоакрилатными мономерами для получения растущих карбанионных цепей. Эта цепная реакция приводит к образованию РАСА. Полимеризацию останавливают подвижные протоны, присутствующие в воде и проводят в течение 1 ч 30 минут при 40°C при постоянном магнитном перемешивании (1200 об / мин). По истечении этого времени в случае поли (бутилцианоакрилата) (РВСА) и поли (изогексилцианоакрилата) получается молочная суспензия. Затем происходит забор полимеров путем сублимационной сушки в две фракции. Молочную суспензию сушат вымораживанием. Отдельно агрегированный полимер растворяют в ацетоне и сушат под вакуумом при комнатной температуре. Полученный таким образом полимер (представляющий более 85% синтезируемого полимера) впоследствии используют для формирования наносфер.

Наночастицы наносфер на основе РАСА получают способом наноосаждения. Согласно способу, растворы РАСА (20 мг или 10 мг) и бусульфана (2 мг) в ацетоне (1 мл) растворяют в 2 мл воды при постоянном магнитном перемешивании (1200 об/мин) в условиях комнатной температуры, что приводит к спонтанному образованию наночастиц. Ацетон удаляют с использованием испарителя Rotative (Rotavapor®), суспензии очищают центрифугированием (Jouan, MR22i) (5 мин при 630 г), затем предварительной фильтрацией (Acrodisc) и, наконец, фильтрованием (Millex ®-HV, Millipore, 0,45 м) для устранения кристаллов лекарственного средства, которые могут образовываться во время стадии выпаривания ацетона [196].

Поликапролактон (PCL) является сложным алифатическим полиэфиром, полученным в результате синтеза мономер ε-капролактона через полимеризацию, катализируемую октоатом олова при 140°C, с раскрытием кольца [197], и

используется в офтальмологической практике в виде наносфер. Проницаемость и кристалличность PCL могут быть модифицированы путем сополимеризации его с ПМК или полигликолевой кислотой (PGA) [197]. Дegradaция PCL происходит в два этапа. Первая фаза включает потерю молекулярной массы ( $M_n$ ) до 5000 Да из-за расщепления сложноэфирной связи в основной цепи полимера (цепное разложение), который продуцирует  $\epsilon$ -гидроксильную капроновую кислоту и уменьшает характеристическую вязкость полимера. Во второй фазе (обычно наблюдаемой *in vivo*) происходит цепное расщепление низкомолекулярного полимера на фрагменты, которые диффундируют из массы полимера и разрушают полимер до мелких частиц, подвергаемых фагоцитозу [198]. PCL используется для непрерывной доставки лекарств из-за его более высокой проницаемости для различных молекул лекарственного средства и более медленной деградации по сравнению с другими полимерами [199]. Скорость деградации PCL может быть улучшена путем совместной полимеризации с другими быстро разлагающимися полимерами. Имплантат PCL, нагруженный дексаметазоном, высвобождает лекарство в терапевтическом диапазоне в течение более одного года и хорошо переносился на биологических моделях *in vivo* [200]. Имплантированный PCL материал, нагруженный триамцинолоном, хорошо переносился в субретинальном пространстве глаз и высвобождает препарат в течение 4 недель без каких-либо клинических осложнений [201]. Yenice с соавторами, оценивая наносферы PCL, покрытые гиалуроновой кислотой и загруженные циклоспорином, обнаружили, что биодоступность циклоспориновых наносфер в 10–15 раз выше, чем наносфер с другим лекарственным средствами. На основе трехблочного полимера PEG-PCL-PEG был создан имплантат в виде гелеобразных микросфер в качестве контролируемой системы высвобождения препаратов для лечения хронических заболеваний глазного яблока [202]. Кроме того, заинтересовавшись перспективой использования биodeградируемых гидрогелей в офтальмологической практике, был синтезирован биосовместимый полимер поливинилпириролидон (PVP) как средство доставки лекарств в витреальную полость [203], и используется в качестве заменителя стекловидного вещества [204, 205, 206]. Y. Hong, оценивая

биodeградирование гидрогеля PVP, сшитого с 1% 14С-метилметакрилатом, отметил, что сшитый гидрогель PVP не деградирует *in vitro* в присутствии протеолитических ферментов, таких как трипсин или коллагеназа. Однако *in vivo* половина гидрогеля исчезла из стекловидной полости кролика в течение 4 недель посредством фагоцитоза [205]. Группа ученых под руководством G. Niu, исследуя инъекционный гидрогель сополимера PVP, сшитый с обратимой дисульфидной связью, показал переход материала из состояния золя в гель, что облегчило формирование сложных форм полимера и легло в основу создания искусственного стекловидного вещества и лески для интраокулярных линз [207].

М.Т. Peracchia с соавторами предложили использование поли (изобутил-2-цианоакрилат) (PEG)-покрытых наночастиц PIBSA в качестве носителей для доставки лекарств. Ковалентно связанный PEG избегает взаимодействия с компонентами крови и предотвращает распознавание макрофагами мононуклеарной фагоцитарной системы после внутривенной инъекции [208]. PEG-покрытые полиэтилен-2-цианоакрилатные наносферы увеличивают биодоступность глазного яблока в 25 раз при введении в конъюнктивальный мешок глаз кролика, тем самым решив проблемы с гематофтальмологическим барьером. Улучшенная биодоступность лекарственного средства объясняется коллоидной природой наносфер, которые облегчают доступность лекарств парацеллюлярно. Кроме того, наличие PEG обеспечивает большую адгезию на поверхности роговицы и лучшую проницаемость [209].

Кроме микросфер и наносфер, биodeградируемые имплантаты для офтальмологических целей изготавливаются в таких формах, как стержни, диски или мембраны. Полимерные пленки-диски изготавливают прессованием в расплаве или литьем под давлением. Литье в растворе является одним из самых распространенных способов, так как полимер растворяется в подходящем растворителе с образованием вязкого раствора, который затем разливают на плоскую, неадгезивную поверхность. Растворитель при этом медленно испаряется, и образовавшаяся пленка отходит от поверхности. Полученные указанным способом диски на основе PLGA толщиной 0,5 мм и диаметром 4 мм, содержащие

циклоспорин А, успешно были применены в качестве имплантатов для роговицы [210, 211, 212].

В настоящее время сложно разработать пленки с достаточными механическими свойствами, предсказуемой скоростью деградации и структурой, которые имитируют плотную нативную дополнительную клеточную матрицу [185], что может служить основой для создания имплантатов из двух или более полимеров для предотвращения соответствующих ограничений в виде полимерных стержней. В основе создания стержней лежит прессование соответствующих полимеров в цилиндре, а в дальнейшем – нагружение полученных стержней лекарственными средствами.

Группой ученых во главе с Y. Morita [213] подготовлено PLGA – поливинилпирролидоновые стержни (длиной 2 мм и 0,5 мм в диаметре), содержащих фторметолон. Полученный имплантат показал хорошие результаты биосовместимости и поддержание уровня фторметолона в течение 1 месяца. Кроме того, стержни на основе PLGA нашли свое применение в катарактальной хирургии [214], что послужило идеей создания и внедрения в клиническую практику имплантата PLGA фирмы Surodex (Oculex Pharmaceuticals, Inc.) длиной 1,0 мм и диаметром 0,5 мм, насыщенным 60 мг дексаметазоном, научной группой под руководством D.F. Chang.

P.E. Rubsamen с соавторами [215] создали стержень PLGA длиной 6 мм и 0,9 мм в диаметре, содержащего 5-влюорасцил, для лечения пролиферативных витреопатий. Для этого, предварительно полимер подвергают прессованию в цилиндре 0,9 мм (20-калибра) длиной 6 мм. После чего, полимерную матрицу загружали в 1 мг фторурацила, что позволяет создать материал для доставки лекарственного средства, состоящий из твердой имплантируемой, биоразлагаемой матрицы, образованной из сополимера лактида и гликолида (поли [лактид-когликолид]). Авторы в исследованиях на биологических моделях *in vivo* показали эффективность комбинации полимера PLGA с лекарственным средством в ингибировании витреоретинальных заболеваний. T. Zhou [216] разработал имплантат для доставки многолучевого распространения для лечения

пролиферативной витреопатии. Предложенный имплантат PLGA длиной 7 мм и диаметром 0,8 мм состоял из трех цилиндрических сегментов, каждый из которых содержал один из следующих препаратов: 5-фторуридин, триамцинолон или человеческий рекомбинантный тканевый активатор пламиногена (t-PA), необходимый для снижения послеоперационного кровотечения.

Обороты набирают полимерные матрицы в лечении ряда заболеваний глазного яблока. Существуют несколько способов создания матриц – скэффолдов, такие как создание нанопризм, метод выщелачивания растворителем / твердых частиц, фазовое разделение / эмульгирование, газо-вспенивающий процесс, метод быстрого прототипирования.

Полипропиленфумарат (PPF) успешно применяется в качестве имплантата доставки кортикостероида Флуоцинолон-Ацетонида в виде матричных систем. Для этого изготавливаются матрицы на основе поли-пропиленфумарата и N-винилпирролидона, синтезируя PPF в две стадии. Для начала, синтезируют бис (2-гидроксипропил) фумарат с 1 моль диэтилфумарата и с 3 молями пропиленгликоля через  $ZnCl_2$ -катализатор путем переэтерификация, последующей и непрерывного удаления превращенного пропиленгликоля при низком давлении ( $<3$  мм рт.ст.) до формы PPF. Реакцию проводят до получения средней молекулярной массы ( $M_n$ ). После промывки и экстракции, летучие вещества удаляют путем ротационного испарения и вакуумной сушки. Имплантируемые имплантаты на основе PPF, используемые в качестве средств доставки лекарств, имеют характеристики монолитных, непористых полимерных матриц. Для изготовления имплантатов, насыщенных кортикостероидом, результирующий раствор смешивают с требуемым количеством PPF с добавлением 0,5% фотоинициатора в виде ацетонинового раствора (100 мг/мл). Полученную смесь впрыскивают в силиконовую форму для получения конечного продукта в виде имплантата [217].

Группа ученых во главе с M.C. Hacker создали матрицы на основе полипропиленфенацетата (PPF) в качестве имплантатов для долгосрочной доставки антиглаукозных препаратов, таких как ацетазоламид (AZ), дихлорфенамид (DP) и тимололмалеат (TM) [217].

Одним из интересных направлений в регенеративной медицине является использование биodeградируемых мембран.

На сегодняшний день существуют множество биodeградируемых полимеров, пригодных для изготовления мембран и использования в медицинских целях. Большинство подобных материалов основаны на алифатических полиэфирах, к которым относятся поли (молочная кислота), поли (гликолевая кислота) (PGA), поликапролактон (PCL), поли (гидроксилвалериановая кислота) и поли (гидроксилмасляная кислота), а также их сополимеры. Использование указанных полимеров в форме мембраны имеет ряд недостатков, таких как воспаление на чужеродный объект, связанное с их продуктами разложения [218], сниженный дефект заполнения некоторых полимеров (мембраны на основе PGA) [219, 220], сниженная биологическая активность [221]. Однако из-за их превосходной биосовместимости, контролируемой биоразлагаемости, управляемости и способность к инкапсулированию лекарств [220, 222, 223, 224], они широко рассматриваются для применения в медицине, в частности – ортопедии и стоматологии.

Как отмечалось ранее, ПМК является одним из наиболее распространенных и важных полимеров, используемых в медицине из-за подходящих механических свойств и биосовместимости. Для регулирования скорости деградации и гидрофильности ПМК были синтезированы сополимеры лактида и «-капролактона» в виде полигликолевого сополимера (PLGA), что послужило хорошо альтернативой ПМК в ортопедических целях и коммерчески изготовлены в качестве мембран.

Guidor® Matrix Barrier (Sunstar Americas, Inc., Иллинойс, США) является одной из первых биodeградируемых мембран на основе сополимеров ПМК и коммерчески успешной аллопластической матрицей. В основу создания имплантата легла технология изготовления двуслойной мембраны из гомогенной смеси двух полимеров, поли-D, L-лактида (PDLLA) и поли-L-лактид (PLLA), легированной ацетилтри-н-бутилцитратом [225].

Матричный барьер GUIDOR на основе полимеров поли-D, L-лактида (PDLLA) и поли-L-лактида (PLLA) представляет собой уникальный многослойный материал, стабилизирующий участок раны, способствует ранней интеграции десневых соединительных тканей и эффективно препятствует эпителиальному спаду. Внешний слой, обращенный к десне, имеет пропорционально большую прямоугольные перфорации (400 – 500 на см<sup>2</sup>) для увеличения регенераторных процессов и образования соединительной ткани.

Внутренний слой, обращенный к зубу или кости, имеет малые перфорации (4000–5000 на см<sup>2</sup>), благодаря чему задерживается избыточный фиброгенез и происходит питание зуба, таким образом осуществляя барьер. Внутренний слой имеет внешние прокладки со стороны корня зуба/кости, чтобы обеспечить пространство для естественного роста периодонтальной связки в областях. Два слоя разделяются прокладками для образования пространства, в котором образуется соединительная ткань. К сожалению, детальный процесс производства биodeградируемых матриц GUIDOR для стоматологии до настоящего времени не раскрывается.

Матричный барьер GUIDOR® может поддерживать свою барьерную функцию в течение как минимум шести недель, в то время как он постепенно резорбируется через 13 месяцев [225].

PLGA – мембрана показала аналогичный результат в заживлении раны заживления по сравнению с коллагеновой мембраной [226]. Кроме того, в некоторых исследованиях сообщалось, что обе мембраны на основе PLGA и PDLLA/PLLA в сочетании с биологически активным стеклом были соразмерно эффективны для улучшения регенерации периодонта [227]. Однако в рандомизированном контролируемом исследовании мембрана PLGA не может поддерживать горизонтальную толщину регенерированной кости [228].

R.E. Jung с соавторами отмечают значительную эффективность мембран на коллагеновой основе Geistlich Bio-Gide и полимеров ПМК/PLGA в стоматологической и ортопедической практике [229]. Мембрана Geistlich Bio-Gide



представляет собой 2х-слойную коллагеновую мембрану, содержащую 2 поверхности: сглаженную и шероховатую.

ПМК/PLGA мембраны, как отмечают авторы, жестче, чем коллагеновые, что препятствует их медицинскому применению [229]. Этот недостаток решается путем введения смягчителей, таких как N-метил-2-пирролидон (NMP), который не только смягчает мембраны на основе PLGA, но и ускоряет созревание остеобластических клеток, способствуя регенерации кости [213, 230, 231, 232]. В сочетании с депротеинизированным костным минералом PLGA может действовать аналогично нативному коллагену [228]. Кроме того, добавление 3% лауриновой кислоты обеспечивает пластификационный эффект PLGA из-за слабых межмолекулярных взаимодействий с PLGA, увеличивая удлинение при разрыве на 7% [233]. Хотя мембраны на основе ПМК и PLGA не являются цитотоксичными материалом, продукты деградации зачастую вызывают реакции воспаления в экспериментах *in vivo* [216, 234], что натолкнуло исследователей на мысль о добавлении в состав материала гидроксиапатита.

Особо привлекательными биodeградируемыми мембранами для ортопедии является поликапролактон (PCL) [235, 236, 237, 238], так как материал не вызывает кислую среду при деградации по сравнению с ПМК и PLGA. Однако, полная биоресорбция мембраны PCL составляет приблизительно 2–3 года [239], гидрофобность полимера снижает клеточную адгезию и пролиферацию, поэтому предпочтительней сополимеризовать PCL с другими полимерами.

## **1.8 Выбор материалов для изготовления кератоимплантатов в лечении буллёзной кератопатии**

Выбор материала для изготовления кератоимплантата является нелегкой задачей, так как материал должен отвечать ряду требований. Полимер должен быть в достаточной степени биосовместимым с тканями, клетками, а также жидкостями (в данном случае – с внутриглазной жидкостью) органа зрения, а также биоинертным. Готовый роговичный имплантат должен отвечать требованиям по

оптическим (высокие коэффициент пропускания и прозрачность) и механическим (гибкость, эластичность и, в то же время, прочность) характеристикам. Для резорбируемого изделия необходима контролируемая растворимость, безопасный гидролиз для окружающих тканей, а также сохранение прочности материала под действием тканевых ферментов. Кроме того, для изготовления имплантата офтальмологического назначения необходимо создать пленку достаточной для прохождения иона толщины, которая обычно не превышает 30 мкм, чтобы получить из нее трековую мембрану [240].

Из всех используемых в настоящее время полимеров в офтальмологии привлекательными для изготовления нерезорбируемого кератоимплантата можно выделить следующие: нейлон, полипропилен, полиэстер (лавсан, он же – ПЭТФ). Все перечисленные материалы используются в качестве шовных нитей, являются биосовместимыми, биоинертными, прочными и эластичными.

Нейлон относится к семейству синтетических полиамидов, используемых преимущественно в производстве волокон, в офтальмологии – в хирургии переднего отрезка глаза [241]. Особенность нейлона как шовного материала – гидролиз и деполимеризация через 12–16 месяцев после его имплантации.

Полипропилен – термопластичный полимер пропилена, в офтальмологии больше известный под коммерческим названием «Prolene» [241]. Чаще всего используется для пластики радужки и подшивания ИОЛ. Характеризуется высокой упругостью, большей, чем нейлон, устойчивостью, инертностью к тканям органа зрения. Материал пригоден для производства пленок и получения трековых мембран. Однако, при длительном нахождении в организме подвергается процессам окисления. Несмотря на указанный недостаток, полимер может быть взят в разработку создания из него кератоимплантата.

Полиэстер, он же лавсан, ПЭТФ, в качестве шовного нерассасывающегося офтальмологического материала выпускается под коммерческими названиями «Dacron», «Mersilen», «Polyester», «Dagrofil», «Surgidac», является представителем класса полиэфиров и используется как для хирургии переднего отрезка глаза, так и при отслойках сетчатки и для косоглазия [242, 243, 244]. Высоко биоинертен,

биосовместим и неаллергенен, обладает отличными прочностными характеристиками, неспособными изменяться с течением времени, отсутствие деформаций материала при хирургических манипуляциях. Из полиэстера также изготавливают тонкие пленки с хорошими оптическими свойствами, а также получают трековые мембраны. ТМ из ПЭТФ обладают существенной стойкостью к растворителям, удовлетворительной смачиваемостью водой и водными растворами. Как правило ПЭТФ мембраны симметричны, методика их создания хорошо известна и обильно представлена в литературе.

Если сравнивать полипропилен (ПП) и ПЭТФ как возможную матрицу для создания кератоимплантата, то последний выглядит более привлекательным. Во-первых, методика получения мембран из ПП существенно более сложный процесс, чем в случае сложноэфирных полимеров. Установлено, что для травления ПП матрицы важную роль играет наличие антиоксиданта, который способствует более высокой избирательности травления треков [245]. «Ненулевая толщина слоя окисления, инициированного травящим раствором, ухудшает прочностные свойства и долговечность мембраны» [246, 247]. Во-вторых, как было ранее указано, ПП при длительном нахождении в организме подвергается процессам окисления. В-третьих, мембраны из ПЭТФ обладают меньшей склонностью к надрыву, лучшей смачиваемостью водой и водными растворами, чем ТМ из ПП.

Из всех резорбируемых полимеров привлекательными для изготовления кератоимплантата можно выделить следующие: полилактид, полисорб, полигликолид и их сополимеры. Все перечисленные материалы также используются в качестве шовных нитей, некоторые из них в различных других формах (микрошферы, пленки), являются биосовместимыми и биоинертными.

Полисорб – материал, полученный из гликолиевой и молочной кислот. Готовое шовное изделие покрывается составом из кополимера капролактона/гликолида и кальциум стеароил лактилата. Ареактивен, биосовместим, деградирует в тканях от 56 до 70 дней [241, 248]. Обладает хорошими манипуляционными свойствами. Рассасывается путем гидролиза, распадаясь на

гликолиевую и молочную кислоты. Однако, в литературе не приведено данных о получении из указанного материала тонких пленок и трековых мембран.

Полигликолид представляет собой полигликолевую кислоту, биоразлагаемый термопластичный полимер и простой линейный алифатический полиэфир [248]. Широко используется как шовный биорезорбируемый материал в офтальмологии в хирургии косоглазия, блефаропластике, в качестве корнеосклеральных швов при экстракапсулярной экстракции катаракты, а также при наложении швов на конъюнктиву. Выпускается под разными коммерческими названиями («Vicryl», «ПГА»), где основное отличие между изделиями состоит в покрытиях материала. «Викриловые» нити полностью рассасываются в тканях органа зрения к 60 – 70 дню, ПГА – в период между 60-ми 90-м днями [249, 250]. Гидролиз полигликолида происходит путем гидролиза и расщепление полигликолида до гликолевой кислоты, которая поглощается тканями и метаболизируется организмом. Как показывают литературные данные, использование готовых изделий из полигликолида, например пленок или мембран, способно вызывать воспаление [218, 219, 220], а также в некоторых случаях приводит к излишнему фиброгенезу и формированию соединительнотканной капсулы [220, 222, 223, 224]. Однако, как и в случае с полисорбом, в литературе не приведено данных о получении из указанного материала трековых мембран.

Полиамино-ко-гликолевая кислота несмотря на использование в офтальмологической практике в качестве внутриглазных имплантатов нашла свое применение только как система доставки лекарственных средств в форме микросфер [174, 190, 191].

Полилактид (ПМК) как алифатический полиэфир является коммерчески выпускаемым биоразлагаемым термопластичным материалом, получаемым на основе молочной кислоты, сочетающий в себе множество хороших качеств: биосовместимость, биоинертность, возможность создавать изделия в различных формах (шовные нити, пленки, мембраны разного типа, штифты, винты) с различными физико-механическими свойствами, безопасный гидролиз по циклу Кребса до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  [251]. Так как полилактид существует в различных

стереоизомерах (поли(L-лактид), поли(DL-лактид)), то существует вариативность сроков разложения полимера. Кроме того, скорость деградации зависит от размера и формы изделия, молекулярной массы материала, содержания примесей, и, конечно же, от окружения (рН среды, температуры, активности ферментов) [251, 252, 253, 254]. Полилактид в качестве шовного материала для офтальмологии применяется в комбинации с  $\epsilon$ -капролактоном. Изделия полилактид-капролактон характеризуется исключительной мягкостью и гибкостью, удобством в хирургических манипуляциях, нейтральностью гидролиза нити к рН среды. Срок рассасывания – 175 дней. Хотя в литературе нет данных о создании из полилактида трековых мембран, опыт создания из него в различных формах медицинских изделий указывает на большие перспективы получения сквозных треков в данном полимере. Необходимо отметить, что, несмотря на относительно долгую скорость деградации ПМК, указанный факт в сочетании с длительностью буллезной кератопатии – хронической стойкой дистрофией роговицы – открывает новые возможности в повторном наложении клеток на внутреннюю – поврежденную – поверхность роговой оболочки.

### **1.9 Полиэтилентерефталат**

Полиэтилентерефталат (ПЭТФ или лавсан) является полиэфиром, используемым в различных сферах промышленности (пищевой, химической, приборостроении, машиностроении, радиотехнике и электротехнике) [255, 256, 257], в медицине во всех разделах хирургии (общая хирургия, сердечно-сосудистая хирургия, травматология, торакальная хирургия, нейрохирургия, эндохирургия, офтальмохирургия, пластическая хирургия), в качестве систем доставки лекарственных средств, заместителя сухожилий, сеток и подложек для культивирования клеток [258, 259, 260, 261]. Из ПЭТФ изготавливается шовный офтальмологический материал [241]. Как было отмечено ранее, ПЭТФ высоко биоинертен, биосовместим и неаллергенен, обладает отличными прочностными характеристиками, неспособными изменяться с течением времени, отсутствие

деформаций материала при хирургических манипуляциях. Из данного полимера также изготавливают тонкие пленки с хорошими оптическими свойствами, а также получают трековые мембраны. ТМ из ПЭТФ обладают существенной стойкостью к растворителям, удовлетворительной смачиваемостью водой и водными растворами. Как правило ПЭТФ мембраны симметричны, методика их создания хорошо известна и обильно представлена в литературе.

Согласно своим химическим свойствам, ПЭТФ является сложным термопластичным полиэфиром терефталевой кислоты и этиленгликоля (рис. 1.3).

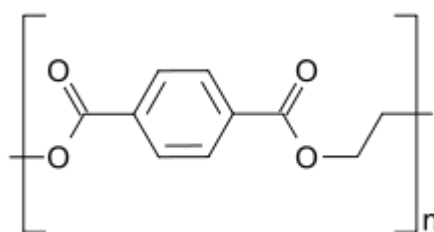


Рисунок 1.3 – Пространственное изображение ПЭТФ ( $C_{10}H_8O_4$ )<sub>n</sub>

Плотность ПЭТФ варьируется 1360–1400 кг/м<sup>3</sup>, диэлектрическая постоянная полимера составляет 3,25, температура стеклования аморфного/кристаллического материала – 67/80°C, температура кристаллизации – 150°C, температура плавления – >250°C, энтальпия кристаллизации – 140°C, показатель преломления (линия Na) аморфного/кристаллического – 1,57/1,64, предел прочности при растяжении – 172МПа, модуль упругости – 2,5–3ГПа, относительное удлинение при разрыве – 2–4% [262, 263, 264, 265, 266].

Полимер существуют в двух состояниях: аморфном, которое характеризуется беспорядочным расположением молекул с единичными образованием упорядоченной структуры [267], и кристаллическом (наличие в материале кристаллитов).

Благодаря широкому спектру свойств из данного полимера изготавливают трековые мембраны. По сравнению с другими полимерами (поликарбонат, полиимид, фторированные полимеры) мембраны из ПЭТФ обладают существенной стойкостью к растворителям, меньшей склонностью к надрывам,

лучшей смачиваемостью водой и водными растворами [240]. Кроме того, как показывают исследования, трековые мембраны из ПЭТФ как правило симметричны – имеют одинаковые стороны, что создает еще одно преимущество данного полимера над остальными.

### 1.10 Полимолочная кислота

Полимолочная кислота  $(C_3H_4O_2)_n$  (поли (3,6-диметил-1,4-диоксан-2,5-дион)) является биоразлагаемым полимером, который наравне с ПЭТФ широко используется в медицине. Полимолочная кислота – это наиболее часто используемый в настоящее время биоразлагаемый полимер в клинической практике, применение которого варьируется от систем доставки лекарств, тканевой инженерии, временных и долгосрочных имплантируемых устройств; костные пластинки и брюшные сетки, стенты, скаффолды для регенерации тканей, постоянно расширяясь в новые области [268–271]. Это во многом обязано благоприятной биосовместимостью полимера и его безопасными продуктами разложения.

Так, например, изделия из полилактида имеют достаточную прочность и хорошие механические характеристики, подходящие для различных клинических применений в хирургии. Ретракторы на основе полимолочной кислоты способны выдерживать внешние нагрузки (около 133Н), испытываемые хирургическим вмешательством [272], а также обладают устойчивостью к опорным силам, предъявляемым во время работы [273]. Из полилактида изготавливают рассасывающийся шовный материал, кровоостанавливающие зажимы, щипцы и ручки скальпелей [273]. Каркасы тканевой инженерии на основе полимолочной кислоты успешно используются для регенерации эпителиальных клеток. Например, в работе приводятся сведения об воздействии продуктов деградации полилактида на жизнеспособность эндотелиальных клеток. Согласно результатам, имплантаты на основе рассматриваемого полимера сохраняют механическую

поддержку, несмотря на постепенную резорбцию, и обеспечивает соответствующую жизнеспособность эндотелиоцитов [274].

И несмотря на то, что этому полимеру более 150 лет, полимолочная кислота (также именуется как полилактид, ПМК) остается плодородной платформой для биомедицинских инноваций и фундаментального понимания того, как искусственные полимеры могут безопасно сосуществовать с биологическими системами.

По химическому составу данный полимер представляет собой сложный алифатический полиэфир молочной (2-гидроксипропионовой) кислоты (рис. 1.4).

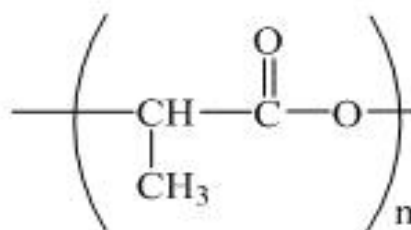


Рисунок 1.4 – Пространственное изображение ПМК  $(C_3H_4O_2)_n$

ПМК обладает высокой прочностью при растяжении и низким относительным удлинением при разрыве и соответственно имеет высокий модуль упругости (табл. 1.1, 1.2) [268].

Таблица 1.1 – Физико-химические свойства ПМК [268, 275]

Свойства	Значения
Молярная масса	$(72)_n$ г/моль
Плотность	1,290\1,248 г/см <sup>3</sup> (кристаллический \аморфный)
Температура плавления	170–180, (100 % L-ПЛА) 220°C (L,D-ПЛА стереок.)
Температура размягчения	50°C
Относительное удлинение при разрыве	3,8%
Прочность на изгиб	55,3 МПа
Прочность на разрыв	57,8 МПа
Температура стеклования	55–65°C



Молочная кислота существует в двух стереоизомерических формах: L и D изомеры, меняя содержание которых в полимере можно добиться нужных физических свойств материала. Так, например, L- или D- мономеры являются полукристаллическими, а рацемическая смесь, где 50% – это D-мономер и 50% – L, образует поли (D, L-лактид) – аморфный полимер (табл. 1.2). Наличие полукристаллической фазы придает ПМК повышенную жесткость, а также прочность [275], что делает изделие привлекательным при изготовлении крепежных изделий для остеосинтеза, восстановление связок, стентов, костных пластинок, брюшных сеток, скаффолдов для регенерации тканей (табл. 1.2).

Таблица 1.2 – Биомедицинские изделия на основе ПМК

	Поли(L-лактид)	Поли(D,L-лактид)
Структура	Частично кристаллический	Аморфный
Молекулярная масса, г/моль	100-300	-
Сроки деградации	50% за 1 – 2 года	100 % за 12 – 16 месяца
Применение в медицине	Крепежные изделия для остеосинтеза, восстановление связок, стенты	Шовные якоря, скаффолды для регенерации тканей, нетканые материалы для ожоговых и раневых повязок

Поли (D, L-лактид) активно используется в виде микросфер, нетканых материалов для ожоговых и раневых повязок, систем лекарственной доставки с контролируемым высвобождением [275].

Деградация ПМК, как показывают литературные данные [276], происходит не только за счет гидролиза (рис. 1.5), но и с участие ферментов, среди которых следует отметить протеиназу [277, 278]. Реакция гидролиза между сложноэфирными связями ПМК и молекулами воды расщепляет полимерные цепи и показана на рис. 1.5. После расщепления два свободных конца полимера оканчиваются (R'-ОН) группой и концевой группой карбоновой кислоты (R – COOH). R и R' в данном случае обозначены как остатки полимерной цепи.

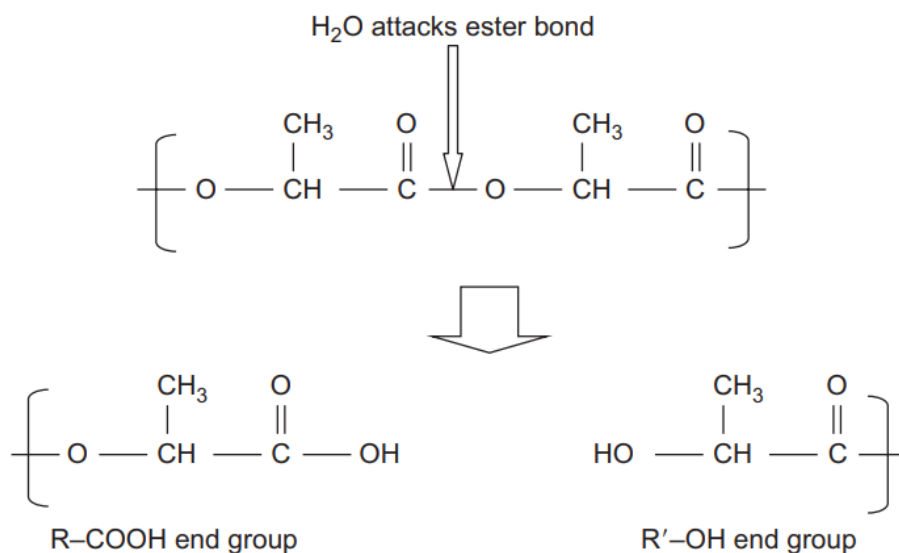


Рисунок 1.5 – Гидролиз сложноэфирной связи ПМК [279]

Гидролиз связей ПМК возможен как на концах цепи полимера, так и в случайном месте (рис. 1.6). Если все разрывы происходят в эфире рядом с концами полимерной цепи, тогда каждый разрыв создает мономер (рис. 1.6a). Если разрывы происходят случайным образом, как показано на рис. 1.6b, тогда существует вероятность того, что два разрыва соединятся и образуют короткую цепочку, что будет способствовать снижению молекулярной массы полимера.

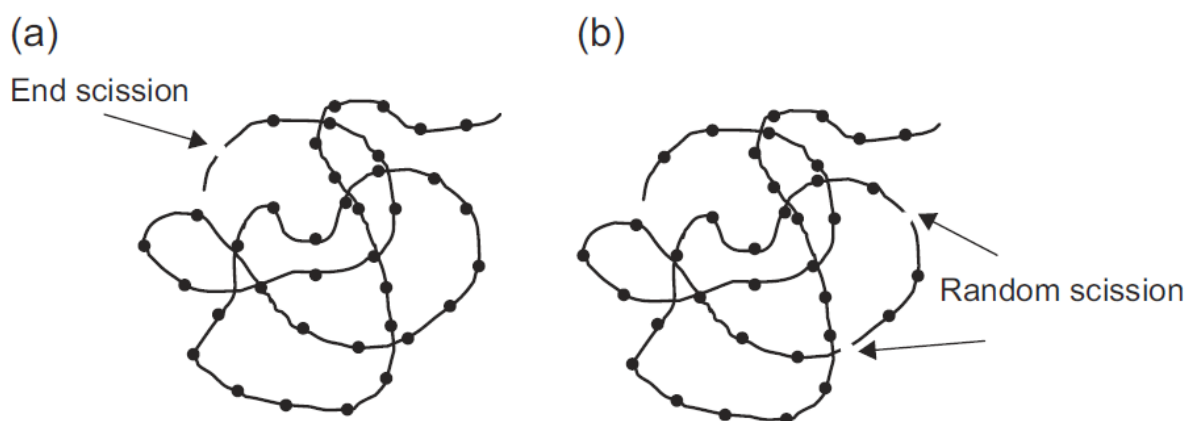


Рисунок 1.6 – (a) Концевые и (b) случайные разрывы полимерных цепей ПМК [279]

Как было отмечено ранее, скорость деградации ПМК зависит от размера и формы изделия, молекулярной массы материала, содержания примесей, от окружения (рН среды, температуры, активности ферментов), а также от стереоизомерного соотношения L/D в лактатных звеньях. Так, варьируя L или D

соотношением возможно добиться более кристаллической структуры ПМК и значительно снизить резорбцию материала [251].

Для контроля биоразлагаемости ПМК необходимо учитывать следующие параметры. Скорость разложения полимера будет увеличиваться с увеличением гидрофильности материала [280]. Поли(L-лактид) имеет более медленную скорость разложения, чем поли(D,L-лактид) из-за кристаллических областей в первом. Геометрия имплантируемого изделия, полученного из ПМК, также влияет на скорость биоразложения, поскольку она будет напрямую связана с площадью контактируемой поверхности [280, 281]. Скорость деградации снижается с увеличением молекулярной массы полимера, что, в свою очередь, указывает на более низкую концентрацию концевых карбоксильных групп. Полукристаллический ПМК менее подвержен разрушению, чем аморфные конфигурации, поскольку кристаллический полилактид менее подвержен гидролизу. Скорость гидролиза может быть увеличена добавлением кислотных соединений. Основные молекулы могут нейтрализовать концевые карбоксильные группы и усилить разложение за счет основного катализа. Стерилизация имеет особое значение для ПМК, производимого для имплантации, и может выполняться с помощью методов бета- или гамма-облучения [280]. Эти методы облучения приводят к таким реакциям, как разрыв цепи или циклизация, снижение молекулярной массы и, таким образом, увеличение скорости разложения. Следует учитывать, что изделия ПМК, изготовленные экструзией или литьем из раствора, имеют меньшую молекулярную массу и выраженную биодеструкцию [282].

Белки и клетки имеют ограниченное поверхностное взаимодействие с изделиями полимолочной кислоты из-за гидрофобности полимера. Гидрофобная природа полилактида, как показывают литературные данные, может вызывать воспалительную реакцию местных тканей [283], что предполагает модифицировать изделие для придания более смачиваемой поверхности материалу.

Большинство изделий полимолочной кислоты в биомедицинских приложениях производится из L-стереоизомерического полимера. Поли (L-лактида) имплантаты могут легко разрушаться и рассасываться организмом под

действием ферментов. В литературе приводится достаточно данных о трудностях биодegradации под действие энзимов окружающих тканей стереоизомера D-молочной кислоты [284]. Среди производителей изделий полилактида стоит выделить Purac – компанию, активно участвующей в производстве ПМК и ее сополимеров для биомедицинских и лекарственных приложениях под торговым названием Purasorb. Полимолочная кислота Purasorb представлена на рынке марками, отличающимися стереоизомерическими формами полимера (поли (L-лактид), поли(D,L-лактид)) и величиной вязкости [285]. Все марки имеют свою характеризующую их вязкость, которая является своего рода ориентиром для молекулярной массы синтезированного полимера. Это очень важно в биомедицинских приложениях, поскольку она обеспечивает соответствующую скорость резорбции в организме. Как правило, скорость разложения выше при более низкой молекулярной массе [286].

### **1.11 Трековые мембраны и основные принципы их получения**

Изготовление трековых мембран берет свое начало с 1962 г., когда сотрудники исследовательского подразделения американской фирмы «General Electric» П.Б. Прайс и Р.М. Уокер установили, что дефекты, оставляемые в пластинках слюды осколками деления урана, можно увеличить путем химического травления [287, 288]. Хотя история получения трековых мембран идет с работ П.Б. Прайса и Р.М. Уокера, четыремя годами ранее молодой англичанин Д. Янг, изучавший закономерности радиолиза твердых тел, предположил, что метод появления дислокаций в кристаллах может быть распространен и на дефекты структуры, возникающие при прохождении тяжелой заряженной частицы [289]. Получаемые дефекты в результате облучения называли треками, которые становятся видимыми только после специальной химической обработки – травления. И уже с конца 60-х годов прошлого века мембраны стали выпускать под маркой «Nuclepore» и выглядели несколько иначе, чем первые. С того времени методика

создания трековых мембран используются с целью получения фильтров [240, 290, 291, 292].

Объединенный Институт Ядерных исследований (г. Дубна) сыграл особую роль в создании современной технологии трековых мембран, результатами исследований которой стало коммерческое производство данного типа мембран с использованием ускорителей тяжелых ионов.

Как описывают многочисленные работы, формирование трека после облучения тяжелыми ионами в материале – это комплексный, в несколько стадий, физико-химический процесс [240, 292–298]. Тяжелый ион передает часть своей энергии при взаимодействии с электронами полимера при этом ионизирует и возбуждает атомы среды взаимодействия, что образуют радиационные дефекты в сердцевине трека. Пространства вдоль траектории трека заполняются химическим реагентом, ускоряется реакция химической деструкции, вследствие чего облученные области полимера травятся быстрее, чем неповрежденные [240, 296]. Необходимо отметить, что степень разрушения на поверхности и в сердцевине трека различны, в связи с разрывом ковалентной связи основной цепи и боковых групп полимера, что определяет избирательность травления [240].

Травление включает следующие фазы [240]: диффузия, адсорбция и проникновение травящего раствора к поверхности материала, химическая реакция, диффузия продуктов деструкции и десорбция продуктов с поверхности. Для различных полимеров процесс химической реакции травления протекает по-разному. Так, например, для полиэтилентерефталата используют щелочное травление и метод фотоокисления продуктов радиолиза для увеличения избирательности травления, в результате чего происходит разрыв связей полимера и отщепление этиленгликоля и терефталат– иона [296]. Для полимеров с неописанной методикой получения трековых мембран, подбор условий для травления становится эмпирическим.

## 1.12 Требования к трековым мембранам как прототипам кератоимплантатов для лечения буллёзной кератопатии

Чтобы достичь желаемого эффекта – дегидратирование роговицы – от кератоимплантата необходимо учитывать ряд параметров. Во-первых, диаметр пор разрабатываемой мембраны. Подбор размеров отверстий должен полагаться в первую очередь на физиологию и морфологию эндотелиального слоя роговой оболочки. Эндотелий роговицы в отличие от переднего эпителия имеет эктомезенхимальное происхождение, клетки которого соединены между собой плотными контактами – *zonula occludens*, состоящими из белков оклюдина, клаудина и местами образующие щели размером 0,1–0,6 мкм. Кроме того, в ряде работ отмечено, что в эндотелиальном слое роговой оболочки, в особенности вблизи Шлеммова канала, имеются округлой формы отверстия – поры, размером  $1,3 \pm 1,0$  мкм [299–301]. Исходя из указанных соображений, допустимый диаметр пор трековых мембран в качестве эндотелиального барьера может варьироваться от 0,1 мкм до 1,0 мкм. Однако, учитывая наличие заболевания и высокогидратированную вследствие буллёзной кератопатии роговицу, приемлемый размер отверстий предполагается до 0,6 мкм.

Во-вторых, пористость трековых мембран, которая должна обеспечить прочность изделия, так как установлено, что поверхность, занятая порами более 15% снижает прочностные характеристики материала [240]. Наиболее приемлемое значение пористости ТМ толщиной 10 мкм – 10–15%.

В-третьих, геометрия сквозного канала, которую возможно варьировать в мембранах от «идеальной» цилиндрической до формы «песочных часов» с сужением в центре трека. Для роговицы отверстия в виде цилиндра более физиологичны, нежели чем конус, или «песочные часы», поэтому получение ТМ должно быть направлено именно в сторону достижения данного параметра.

### 1.13 Методы модификации поверхности полимерных мембран

Низкотемпературная плазма благодаря поверхностному воздействию является одним из широко используемых и распространённых методов модификации полимеров [302–316].

Данный тип модификации исследовался многими учеными [302, 304, 308, 310, 311, 312, 314, 316]. Так, например, воздействие плазмы атмосферного давления на полиоксиметилен, поликарбонат, полипропилен, полиэтилен, полистирен и силиконовую резину образует азотсодержащие группы (имидных и уретановых групп) в поверхностном слое материала, что увеличивает смачиваемость и повышает биосовместимость полимера. Усиление гидрофильности материала после плазменной модификации связана в первую очередь с изменением структуры и химического состава полимера, с образованием избыточного поверхностного заряда, который может держаться достаточно длительно [317, 318, 319].

Согласно результатам работ [302, 317–320] модификация поверхности ПЭТФ уменьшает количество  $C=C$  и  $C=O$  групп и формируются аминные ( $NH_2$ ) и ангидридные ( $O=C-O-C=O$ ) функциональные группы, что увеличивает гидрофильность, значение свободной энергии поверхности и шероховатость материала. Согласно данным работы [321], где ПЭТФ поочередно подвергался воздействию плазмы и УФ-света, наблюдаются разрывы  $C-C/C-N$  связей с последующим присоединением кислорода и азота, что ведет к возрастанию поверхностной энергии и гидрофильности. Кроме влияния на показатели поверхностной энергии, угла смачивания и шероховатости, плазма уширяет полосы при  $1710\text{ см}^{-1}$  (валентные колебания  $C=O$ ) [322]. Множество работ свидетельствует об стерилизующем эффекте низкотемпературной плазмы и возможности ее использования в качестве дезинфицирующего агента [323–330]. Плазменная обработка генерирует химически активные формы кислорода и азота, в том числе свободные радикалы ( $O$ ,  $O_3$ ,  $OH$ ,  $H_2O_2$ ,  $HO_2$ ,  $NO$ ,  $ONOOH$  и многие другие), что обуславливает окислительный стресс в клетках. И учитывая, что

прокариоты более чувствительны к окислительному стрессу, чем эукариоты, плазма позволяет избирательно убивать бактерии [323–330].

Одним из основных требований к биodeградируемому материалу для клеточного культивирования является хорошая – наиболее благоприятная для роста стволовых клеток – смачиваемость его поверхности [331]. Однако, вследствие гидрофобных свойств полимолочной кислоты [332, 333, 334] возникает вопрос о модификации материала и снижении значения его краевого угла смачивания, достигаемого путем плазменной обработки. Как показывают многочисленные исследования [335–344], воздействие плазмы, в частности, низкотемпературную атмосферного давления, является оптимальным выбором придания нужных свойств нерезорбируемым полимерам [313, 316], в том числе и биodeградируемым (полимолочная кислота, поликопролактон и другие).

Низкотемпературную плазму атмосферного давления активно используют для модификации поверхности полимеров из полимолочной кислоты и поликапролактона. Так, в работе [318] приводятся данные о заметном изменении рельефа поверхности пленок из полимолочной кислоты с повышением ее шероховатости поверхности:  $R_{rms}$  возрастает с 12,1 нм до 35–55 нм в зависимости от времени воздействия плазмы. Что касается смачиваемости, то воздействие низкотемпературной плазмы снижает краевой угол смачивания с  $73^\circ$  (вода) до  $23^\circ$ – $25^\circ$  (вода), повышает полную поверхностную энергию с  $37,1$  мДж/м<sup>2</sup> до  $46$ – $59$  мДж/м<sup>2</sup> в большей мере за счет поляризационной составляющей, меняя соотношение  $\gamma^p:\gamma^d$  с  $1$  (поляризационная): $4,5$  (дисперсионная) на  $1,3$  (поляризационная): $1$  (дисперсионная). Кроме того, в статье приводятся данные об потерях молекулярной массы полимера после модификации до  $0,05\%$ . Данные эффекты авторы объяснили процессом окисдации и разрывом полимерных цепей с присоединением гидроксильных, гипероксидных и эфирных групп в верхних слоях материала вследствие воздействия плазмы.

Ученые во главе с Roger H. Wardman, исследуя воздействие низкотемпературной плазмы атмосферного давления на волокна из полимолочной кислоты [344], пришли к выводу, что плазма не меняет химический состав волокон,



но в то же время увеличивает шероховатость и, незначительно, смачиваемость поверхности материала. Причем, как показывают данные другой группы ученых [337], длительность обработки влияет на гидрофильность полимолочной кислоты: образцы после воздействия плазмы менее 10 секунд являются гидрофобными, а материал, обработанный более 10 секунд, имеет гидрофильные свойства.

Похожие сведения получили ученые, исследуя воздействие плазмы в среде аргона на пленку из полимолочной кислоты [332, 333]. Однако, группа ученых под руководством N. Inagaki пришли к выводу, что обработка Ar-плазмой не может привести к гидрофильности поверхности полимолочной кислоты, а также к реакциям деградации полимолочной кислоты, так как модификация Ar-плазмой обусловлена нестабильностью образующихся углеродных радикалов [334]. Согласно данным работы, после разрыва связи C–O в полимере происходит образование радикалов, и небольшие молекулы, такие как CO<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>, CNO–CH<sub>3</sub> и CO, ре-комбинирует между двумя радикалами. Полученные данные подчеркивает, что обработка Ar-плазмой поверхности полимолочной кислоты не всегда изменяет свойства поверхности полимера.

Кроме того, в ряде работ отмечено, что низкотемпературную плазму атмосферного давления можно использовать в качестве стерилизующего агента [338]. Согласно статье, данная плазма имеет бактерицидный эффект в отношении *Listeria monocytogenes*, которая является возбудителем листериоза. Однако, авторы, исследуя разное время обработки поверхности пленок из ПМК, пришли к выводу, что, начиная с 60 секунды воздействия, шероховатость уменьшается и поверхность материала сглаживается.

Плазменная модификация полимолочной кислоты, согласно [340], не только увеличивает смачиваемость данного материала, но и увеличивает прикрепление фибробластов к пленке и не влияет на пролиферативную способность клеток, что делает данный вид обработки наиболее привлекательным для клеточного культивирования.

Приобретенные в ходе плазменной модификации свойства материала могут утратиться после процедуры стерилизации, которая является важным этапом предоперационной профилактики инфекций.

#### **1.14 Стерилизация полимерных изделий медицинского назначения**

Стерилизация является важным пунктом в разработке изделий медицинского назначения [345–351]. На сегодняшний день существует множество методов стерилизации медицинских изделий: термическая, включающая паровую (автоклавирование) и воздушную (сухожаровую) [352], химическая (газовая или химическими растворами) [353], стерилизация ионизирующим облучением (чаще применяется в промышленном варианте) [348], и плазменная [338] с применением плазмы перекиси водорода. Среди перечисленных способов наиболее широко в лечебно–профилактических учреждениях используется паровой метод (автоклавирование), сухожировой и стерилизация ионизирующим облучением.

Автоклавирование или паровая стерилизация является одним из распространённых и активно используемых методов стерилизации в лечебно–профилактических учреждениях, при котором используется горячий пар под давлением, обладающим сильным спороцидным действием.

Радиационная (лучевая) стерилизация является альтернативой паровой и применяется в промышленном варианте стерилизации изделий однократного применения (шприцы, системы переливания крови, различных пипеток, хрупких изделий полимерного происхождения), которая несмотря на его экологическую опасность и высокую стоимость, позволяет стерилизовать полиэферы (в том числе ПЭТФ) [354, 355].

В последнее время особое внимание уделяется плазменной стерилизации [356], которая может совмещать бактерицидный эффект и модификацию поверхности изделий. Так, например, компания AMT division Johnson & Johnson, AbTox Inc. учла особенность ионизированной плазменной среды и разработала на ее основе стерилизационную технику [357, 358].

В настоящее время наиболее оптимальным способом стерилизации изделий из полимолочной кислоты является стерилизация этиленоксидом (ГОСТ ISO 11135-2017). Доподлинно известно, что стерилизация этиленоксидом медицинской продукции не имеет существенного воздействия на материал. Например, в статье [343] приводятся данные о влиянии стерилизации этиленоксидом (ЭО) на свойства волокон из полимолочной кислоты. Согласно представленным данным, ЭО не влияет на смачиваемость и на шероховатость поверхности, однако, увеличивает кристалличность до 28% и уменьшает диаметр волокна до 30%. Культивирование остеобластных клеток на поверхности полученной в ходе электро-спиннинга мембраны после стерилизации этиленоксидом показало отсутствие значимого влияния на морфологию и дифференцировку клеток. В другой работе [342] утверждается, что этиленоксид незначительно увеличивает краевой угол смачивания, что сдвигает свойства материала в сторону гидрофобности. Подобные изменения, по мнению ученых, связаны с активным взаимодействием этиленоксида с концевыми карбоксильными группами полимера. Кроме того, авторы работы подчеркивают увеличение степени кристалличности полимера после стерилизации.

Таким образом, вопрос влияния стерилизации на свойства полимерных изделий весьма неоднозначен, поэтому приходится задумываться о подборе метода и режима стерилизации. Кроме того, вследствие недостаточно полно представленных данных о совместном влиянии стерилизации и плазмы на материал в литературе, приходится задумываться о возможности комбинации разных обработок. В связи с чем, настоящая работа направлена на разработку (создание и решение вопроса модификации и сохранения полученных свойств в процессе стерилизации) биodeградируемого материала на основе тонких пленок полимолочной кислоты и нерезорбируемого материала на основе ПЭТФ в качестве корнеальных имплантатов для лечения буллёзной кератопатии.

### 1.15 Цели и задачи исследования

Целью диссертационной работы является разработка кератоимплантатов на основе полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты для хирургического лечения буллёзной кератопатии.

В соответствии с целью диссертационной работы поставлены следующие задачи.

1. Выбор материалов для изготовления кератоимплантатов в лечении буллёзной кератопатии.

2. Разработать методику получения трековых мембран из полимолочной кислоты как прототипа кератоимплантата для хирургического лечения буллёзной кератопатии.

3. Получить прототипы кератоимплантатов на основе трековых мембран из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты с заданными характеристиками.

4. Исследовать влияние модификации прототипов кератоимплантатов в низкотемпературной плазме на топографию их поверхностей, структуру, оптические и механические свойства.

5. Изучить влияние стерилизации на топографию поверхностей, структуру, оптические и механические свойства прототипов кератоимплантатов, а также определить способ и режим стерилизации разработанных изделий офтальмологического назначения.

6. Выявить морфологические особенности роговицы при индуцированном повреждении ее эндотелиального слоя на фоне интрастромальной и внутрикамерной имплантации разработанных кератоимплантатов.

7. Определить требования к параметрам кератоимплантатов – трековых мембран из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты – при их хирургическом лечении буллёзной кератопатии.

## Выводы по главе I

1. Широкая распространённость буллёзной кератопатии, а также недостаточная эффективность различных методов лечения обуславливают поиск и разработку новых способов дегидратирования и нормализации эпителия роговицы. Для достижения ключевых задач лечения необходимо создать пористый имплантат, отвечающий ряду требований: биосовместимость с тканями, клетками, а также жидкостями (в данном случае – с внутриглазной жидкостью) органа зрения; биоинертность; высокие коэффициент пропускания и прозрачность; удовлетворительные механические характеристики (гибкость, эластичность и, в то же время, прочность); контролируемая растворимость и безопасный гидролиз для резорбируемого изделия, а также подходящий под задачи диаметр пор и геометрия сквозного отверстия. В связи с чем, необходим поиск материала и типа мембран, отвечающих указанным условиям будущего кератоимплантата.

2. Материал для создания из него кератоимплантата должен отвечать требованиям: биосовместимость с тканями, клетками, а также жидкостями (в данном случае – с внутриглазной жидкостью) органа зрения; биоинертность; высокие коэффициент пропускания и прозрачность; удовлетворительные механические (гибкость, эластичность и, в то же время, прочность) характеристики; контролируемая растворимость и безопасный гидролиз для резорбируемого изделия. Наиболее перспективными для создания кератоимплантатов являются полиэтилентерефталат и полимолочная кислота.

3. Полиэтилентерефталат зарекомендовал себя в качестве перспективного материала для использования в офтальмологии: биоинертен, биосовместим и неаллергичен, обладает отличными прочностными характеристиками, неспособными изменяться с течением времени, отсутствие деформаций материала при хирургических манипуляциях. Из данного полимера также изготавливают тонкие пленки с хорошими оптическими свойствами, а также получают трековые мембраны, которые обладают существенной стойкостью к растворителям, удовлетворительной смачиваемостью водой и водными растворами.

4. В связи с опасением избыточного фиброгенеза, гнойных осложнений и отторжения имплантата в качестве альтернативы может рассматриваться и клеточная терапия. Среди клеточных популяций особый интерес представляют моноклеарные лейкоциты, обладающие высоким секреторным потенциалом. В связи с высокой вероятностью потери клеток необходимо использование биodeградируемого полимера в качестве временного материала для клеток, что может послужить альтернативой существующих нерастворимых полимеров, используемых в кератопластике.

5. В целях улучшения смачиваемости поверхность изделия необходимо модифицировать. Одним из перспективных таких методов является воздействие низкотемпературной плазмы.

6. Подбор методов и условий стерилизации являются одним из важных пунктов в разработке изделий медицинского назначения. Несмотря на широкое использование таких стерилизующих способов как автоклавирования и радиационное воздействия, в последнее время все больше внимания уделяется антимикробному эффекту низкотемпературной плазмы.

## ГЛАВА II МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Материалы для создания кератоимплантатов из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты

#### 2.1.1 Трековые мембраны из полиэтилентерефталата

Трековые мембраны из ПЭТФ (ICI, Швейцария) были получены путем облучения на циклотроне ТПУ пленки ПЭТФ тяжелыми ионами  $^{40}\text{Ar}^{+8}$  с энергией 41 МэВ, сенсбилизацией ультрафиолетовым светом и щелочного травления в водном растворе 1,5М NaOH при температуре в диапазоне (72–82)°С. Методика получения трековых мембран из ПЭТФ подробно описана в работах [292, 294, 295, 296].

#### 2.1.2 Пленки и мембраны из полимолочной кислоты

Исходные плёнки из полимолочной кислоты были получены из раствора полимолочной кислоты с молекулярным весом  $M_w=121000$  г/моль (PURASORB® PL 10, Нидерланды) методом разлива в трихлорметане ( $\text{CHCl}_3$ ) (Экрос, Россия). Для получения нужной толщины (15–30 мкм) и морфологии пленок, масса выливаемого 1% раствора подбиралась эмпирически, в связи с чем, пленки выливались по (10±1), (20±1), (30±1) грамм и помещались в вытяжной шкаф до полного испарения растворителя (48 часов). Для удаления остаточного растворителя, плёнки на 24 часа, помещались в вакуумную камеру (давление  $10^{-3}$  мм.рт.ст., температура 25°С).

Мембраны из полимолочной кислоты получали на циклотроне ИЦ – 100 Лаборатории ядерных реакций ОИЯИ (г. Дубна) путем облучения пленок полимолочной кислоты пучком ионов  $^{132}\text{Xe}^{+26}$  с энергией 1,2 МэВ/нуклон (160 МэВ) и последующего селективного щелочного травления.

Подбор энергии ионов, достаточной для получения сквозных треков в исследуемых плёнках, а также оценку глубины проникновения ионов в материал осуществляли расчетом при помощи программы «SRIM-2008». В алгоритме расчета данной программы заложена формула Бете-Блоха, позволяющая рассчитать потери энергии  $dE/dx$  и пробега  $R$  при прохождении иона через пленку [345]. Согласно расчетам потерь энергии (рис. 2.1) и проективного пробега ионов (рис. 2.1)  $^{132}\text{Xe}^{+26}$  в пленку на основе ПМК, пробег ионов с энергией 150 МэВ составляет 26 мкм, что свидетельствует о сквозном прохождении  $^{132}\text{Xe}^{+26}$  через образцы. Таким образом, пленок из полимолочной кислоты пучком ионов  $^{132}\text{Xe}^{+26}$  формирует сквозные треки в материале.

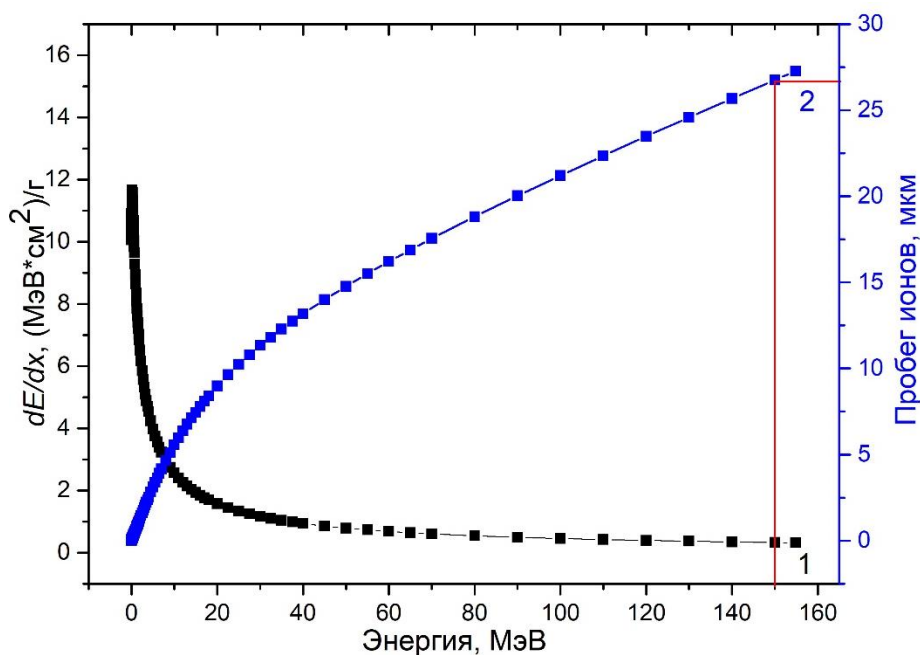


Рисунок 2.1 – Потери энергии (1) и пробег ионов  $^{132}\text{Xe}^{+26}$  (2) в плёнках на основе ПМК

В целях получения качественных мембран и геометрии пор близкой к цилиндрической, была проведена серия экспериментов по подбору условий травления необлученных и облученных пленок. В качестве травителя использовались растворы гидроксида натрия (NaOH) различной концентрации: 0,1М, 1,0М, 2,0М. Время травления облученных образцов размером 2x2 см, которые предварительно крепили при помощи двухстороннего скотча на рамку-



подложку из плёнки поливинилиденфторида (ПВДФ), составляло от 5 до 30 минут, для необлученных – от 5 до 60 минут с шагом 5 минут. Для нейтрализации следов щелочи образцы помещали в 0,01% раствор уксусной кислоты ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), после чего 4-х кратно промывали большим количеством дистиллированной воды, высушивали на воздухе и выдерживали в вакуумной камере в течение 24 ч при давлении  $10^{-3}$  Торр и температуре  $25^\circ\text{C}$ . Скорость травления необлученных и облученных плёнок контролировали по уменьшению массы образцов. Массу образцов определяли с помощью аналитических весов Acculab ALC-210D4 (SartoRius Group, Германия) с погрешностью 0,1 мг. Толщину плёнок измеряли с помощью оптиметра «ИКВ-3» (Россия).

## **2.2 Методики стерилизации: стерилизация в автоклаве, стерилизация гамма – лучами, стерилизация низкотемпературной плазмой**

Автоклавирование прототипов кератоимплантатов проводилось с помощью парового автоматического стерилизатора ГПа-10 ПЗ. Согласно ГОСТ Р ИСО 13683–2000 были выбраны следующие режимы обработки: 1) давление – 0,11 МПа, температура –  $120 - 121^\circ\text{C}$ , время обработки – 20 минут; 2) давление – 0,2 МПа, температура –  $130 - 132^\circ\text{C}$ , время обработки – 5 минут. Предварительно все образцы помещали в упаковочный материал (комбинированные крафт-пакеты), соответствующий ГОСТ ISO 11607-2011.

Радиационную стерилизацию прототипов кератоимплантатов проводили с помощью гамма-установки «Исследователь №52» (НИИ ПП, г. Томск) с источником радионуклида  $^{60}\text{Co}$ . Неоднородность интенсивности облучения (мощность дозы) в рабочей камере цилиндрической формы радиусом 75 мм и высотой 240 мм составляла не более 10%. Экспозиционные дозы  $\gamma$ -излучения – 1 кГр и 15 кГр. (Si-детектор). Образцы помещали в упаковочный материал (крафт пакеты) для обработки согласно ГОСТ ISO 11607-2011.

Стерилизация низкотемпературной плазмой исследуемых образцов проводилась путем воздействия плазмой с использованием экспериментальной

установки низкотемпературной плазмы (ТПУ) на каждую сторону материала в течение 30, 60, 90 с. Стерильность образцов подтверждалась серией микробиологических экспериментов путем полного погружения материалов в питательные среды, которые инкубировались в течение 14 дней при температуре (30–35)°С на тиогликолевой среде и при температуре (20–25)°С на бульоне Сабуро. Помутнение среды являлось признаком наличия роста микроорганизмов. Эталонном сравнения служил посев контрольных образцов («положительный контроль»), которые не подвергались воздействию плазмы, и стерильная питательная среда («отрицательный контроль»).

### **2.3 Методика модификации поверхности материалов**

В целях придания материалу разрабатываемых изделий гидрофильных свойств поверхность образцов обрабатывалась низкотемпературной плазмой с использованием экспериментальной установки низкотемпературной плазмы (ТПУ) [354, 355].

Диэлектриком служило стекло толщиной 1 мм. Напряжение – 25 кВ, частота – 5 кГц. Плотность мощности составляла 2 Вт/см<sup>2</sup>. Температура поверхности при воздействии плазмы 35°С – 40°С, величина потока воздуха – 1 л/мин, значения атмосферного давления при модификации составляло 743-758 мм.рт.ст. Расстояние между электродами было 0,5 мм. Для удаления загрязнений, образцы, предварительно, промывались в спирте. Время воздействия плазмой составляло 30, 60 и 90 с.

### **2.4 Методика получения сколов**

В целях охрупчивания материала и получения качественного скола, трековую мембрану из ПЭТФ фиксировали в течение суток на эритемную лампу с максимальной  $\lambda = 310-320$  нм. После чего этого на поверхность мембраны в течение 2 минут наносили электропроводящий слой золота Au с чистотой 99,9%.

В случае с мембранами из полимолочной кислоты, материал охрупчивали гидролитически в паровом автоматическом стерилизаторе ГПа-10 ПЗ в течение 20 мин при давлении 0,2 МПа и температуре (130–132)°С, охлаждали при температуре (–195,75 °С) жидкого азота в течение 15 мин и раскалывали. После чего этого на поверхность мембраны в течение 2 минут наносили электропроводящий слой золота Au с чистотой 99,9%.

## **2.5 Методы изучения физических свойств**

### **2.5.1 Электронно-микроскопические методы**

Электронная микроскопия на микроскопах Hitachi TM-3000 (Япония) и Hitachi S3400N Type II (Япония) использовалась для определения диаметра входных отверстий пор, поверхностной плотности пор и изучения микроструктуры разрабатываемых изделий. Предварительно на поверхность образцов в течение 2 минут наносили электропроводящий слой золота Au с чистотой 99,9%. Съёмки образцов из полимолочной кислоты проводились при низком вакууме с ускоряющим напряжением 15 кВ в аналитическом режиме.

Количественный анализ морфологических характеристик мембран (определение диаметра пор и их средней плотности) проводился с помощью программы ImageJ 1.38 (National Institute of Health, США).

### **2.5.2 Лазерная сканирующая микроскопия**

Лазерная сканирующая микроскопия поверхности разрабатываемых изделий из ПЭТФ и полимолочной кислоты была проведена на микроскопе «Olympus Lext Ols 4100» (Россия).

### 2.5.3 Атомная силовая микроскопия

Топография поверхности мембран исследовалась на комплексном корреляторе оптических, спектральных и топографических свойств поверхности объектов «Centaur HR» (ООО «Нано Скан Технологии», Россия) и на атомно-силовом микроскопе (АСМ) «Solver-HV» (NT-MDT, Россия) в полуконтактном режиме работы. Для измерения применили кантилевер марки NSG11 («NT-MDT») с радиусом закругления острия иглы 10 нм. Профиль шероховатости поверхности строился с точностью до 1 нм в программе Gwyddion и Origin 9.0. Расчет параметров шероховатости, описывающих топографию поверхности, проводился согласно ГОСТ 2789–73 и ISO 4287:1997. Для количественной оценки шероховатости поверхности использовались параметры  $R_a$ ,  $R_q$ ,  $R_b$ ,  $R_z$  согласно ГОСТ 2789–73 и ISO 4287:1997.

### 2.5.4 Порометрия полученных мембран

Порометрия разрабатываемых изделий была проведена с использованием порометра капиллярного потока Capillary Flow Porometer 7.0 (USA) на образцах площадью 4,5 см<sup>2</sup>.

### 2.5.5 Определение среднего диаметра пор методом «точка пузырька»

Определение эффективного диаметра пор полученных мембран дополнительно определяли методом «точка пузырька» на установке Porometer 1.0. (ТПУ). Образцы диаметром 35 мм предварительно вымачивали в этаноле в течение 30 минут. Скорость нарастания давления составило 0,002 МПа/мин. Диапазон давления 0,006 – 0,1 МПа. За результат испытания принималось среднее арифметическое результатов трех параллельных определений минимального давления. Диаметр пор определяли по соотношению, которое является следствием уравнения Лапласа [367]:

$$d = 0,65/P, \quad (2.1)$$

где  $d$  – диаметр пор, мкм,  $P$  – давление, при котором наблюдается один или несколько пузырьков в центре мембраны, кгс/см<sup>2</sup>.

Коэффициент 0,65 в числителе определен на основании калибровки по ПЭТФ мембранам типичной пористости (7–15%), толщины 10–12 мкм, с диаметрами пор в диапазоне 0,1–1 мкм. Поскольку данный коэффициент зависит от углового распределения пор, толщины мембраны, шероховатости поверхности и других факторов, формулу (2.1) можно применять для приближенной экспрессной оценки диаметра пор.

### 2.5.6 Исследование проницаемости мембран

Проницаемость мембран площадью 4,1 см<sup>2</sup> была измерена с помощью Stirred Ultrafiltration Cells (Amicon Model 8010, Millipore) с использованием деионизованной воды в качестве рабочего раствора. Предварительно образцы выдерживали в растворе 20 минут.

Величину потока жидкости рассчитывали по уравнению Хагена–Пуазейля [368]:

$$\frac{V}{\Delta t} = \frac{\pi \Delta P r^4}{8 \eta L} \quad (2.2)$$

где  $V$  – объем растворенного вещества, проходящий через одну цилиндрическую пору мембраны,  $\Delta t$  – время,  $\Delta P$  – давление,  $r$  – радиус поры,  $\eta$  – вязкость жидкости,  $L$  – толщина трековой мембраны.

### 2.5.7 Дифференциальная сканирующая калориметрия

Дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК) позволяет получить информацию о тепловых эффектах и рассчитать процент кристалличности в полимере, которая была выполнена на совмещенном ТГА/ДСКА анализаторе SDT

Q600 (США) со следующими условиями проведения: температурный интервал – (25 – 300)°С, скорость нагрева – 10°С/мин, атмосфера – воздух.

Расчет степени кристалличности проводился по формуле [369, 370]:

$$I_{ст.кр.} = \frac{H_{об}}{H_{100}} * 100\% \quad (2.3)$$

где  $I_{ст.кр.}$  – определяемая степень кристалличности,  $H_{об}$  – энтальпия образца,  $H_{100}$  – энтальпия 100%-го кристаллического материала.

### 2.5.8 Фазовый анализ и расчет степени кристалличности

Кроме ДСК был проведен фазовый анализ с целью определения степени кристалличности на дифрактометре Shimadzu XRD 6000S (Япония) с вертикальным высокоточным гониометром со следующими характеристиками съемки: ускоряющее напряжение 40 кВ, ток пучка 30 мА, диапазон углов сканирования 7°–35°, шаг сканирования 0,03°, время набора сигнала 1 с. Использовалась линия Си  $\alpha$ -излучения с длиной волны 1,54056 Å. Степень кристалличности была определена по формуле и с использованием пакета программ POWDERCELL [371]:

$$x_c = \frac{\int_0^{\infty} s^2 I_c(s) ds}{\int_0^{\infty} s^2 I(s) ds} \quad (2.4)$$

где  $s$  – вектор обратной решетки, равный

$$s = \frac{(2 \sin \theta)}{\lambda} \quad (2.5)$$

$\theta$  – половина угла отклонения дифрагированных лучей от направления падающих рентгеновских лучей,  $\lambda$  – длина волны рентгеновских лучей,  $I(s)$  – интенсивность когерентного рентгеновского рассеяния от образца аморфных и кристаллических областей,  $I_c(s)$  – интенсивность когерентного рентгеновского рассеяния от кристаллической области.

### 2.5.9 Методы оптической спектроскопии

Спектры пропускания и поглощения образцов в видимой области были измерены с помощью спектрофотометра СФ–256УВИ (Россия) в диапазоне длин волн (380–1000) нм для получения коллимированного коэффициент пропускания  $\tau(\lambda)$  в режиме, приближенного к условиям эксплуатации, а также с помощью флуоресцентного спектрофотометра Cary Eclipse Fluorescence Spectrophotometer (Agilent technologies, США) в том же диапазоне. В качестве источника излучения использовалась импульсная ксеноновая лампа с длительностью импульса 2 мкс, эквивалентной мощностью до 75 кВт и частотой следования световых импульсов 80 Гц. Спектральная ширина щели – 1,5 нм. Абсолютная погрешность установки длин волн монохроматора составляла – 1,5 нм. Прозрачность рассчитывали по формуле [372]:

$$\text{Прозрачность} = -\text{Log}\left(\frac{T_{\lambda}}{h}\right) \quad (2.6)$$

где  $T_{600}$  – светопропускание (Т) (%) при определенной длине волны  $\lambda$ , нм,  $h$  – толщина пленки (нм).

Для приближения к реальным условиям эксплуатации образцы помещались на внутреннюю стенку кюветы, заполненной выделенной в асептических условиях *ex temporo* внутриглазной жидкостью кроликов.

### 2.5.10 Измерение контактного угла и поверхностной энергии

Углы смачивания деионизованной воды ( $\theta_w^\circ$ ), н-гексана ( $\theta_N$ ) и глицерина ( $\theta_g^\circ$ ) были определены методом сидячей капли при комнатной температуре ( $25 \pm 2$ )°С, влажности  $51 \pm 6\%$  с помощью «KRÜSS Easy Drop DSA 20» (Германия) и специального программного обеспечения с точностью измерения  $\pm 0,1^\circ$ . Контактный угол определялся на 1, 3, 7, 14, 21 сутки после различных воздействий (плазма, стерилизация). Свободная энергия поверхности ( $\gamma$ ) с

определением полярной ( $\gamma^P$ ) и дисперсионных ( $\gamma^D$ ) компонент рассматривалась в рамках модели Оуэнса-Вендта [362] и вычислялась по методу Оуэнса-Вендта-Рабел-Кэлби (ОВРК) [373].

Полярность разрабатываемых изделий рассчитывалась как доля полярной компоненты в суммарной поверхностной энергии [374]:

$$p = \gamma^P / \gamma \quad (2.7)$$

### 2.5.11 ИК–спектроскопия

ИК–спектроскопию образцов производили с помощью Фурье-спектрометра Cary 630 (Agilent, США) в диапазоне 650 – 4000  $\text{см}^{-1}$  со спектральным разрешением 2  $\text{см}^{-1}$ . В качестве элемента однократного наружного полного внутреннего отражения использовали алмазный кристалл. Обработка спектров проводилась в программе OriginPro 9.1. Согласно литературным данным, в ИК–спектрах поглощения полиэтилентерефталата имеются следующие полосы поглощения в области (4000 – 100)  $\text{см}^{-1}$  (табл. 2.1).

Таблица 2.1 – Колебательные моды молекулы полиэтилентерефталата

Волновое число, $\text{см}^{-1}$	Колебания функциональных групп	Литература
723	Колебания $\text{CH}_2$ групп	[375, 376]
792	$\gamma(\text{C}=\text{O})+\delta(\text{COO})$	[377]
847	$\gamma(\text{CH}_2)$	[377]
871	Колебания групп $\gamma(\text{CH})$ фенильного кольца	[376]
1016	Колебания фенильного кольца $-\delta(\text{CH})$	[377]
1096	Алифатические эфиры $\text{C}-\text{O}-\text{C}$	[378]
1246	$\text{C}=\text{C}$ участка фенильного кольца	[377]
1340	$\text{C}-\text{C}$ алканы, $=\text{CH}_2$	[377]
1408	$\text{C}-\text{C}$ отклонения	[367]
1716	Алифатические кетоны $\text{C}=\text{O}$ или $\text{C}=\text{C}$ группы	[375, 377]
с 2000 по 2070	Тройные связи или аккумулярованные двойные связи	[356]
2907	Алифатические группы $\text{C}-\text{H}$	[375]
2968	Симметричные $\text{C}-\text{H}$ группы	[375]



В таблице 2.2 представлены характеристические полосы поглощения атомных групп полимолочной кислоты, соответствующие литературным данным.

Таблица 2.2 – Колебательные моды молекулы полимолочной кислоты

№	Волновое число, см <sup>-1</sup>	Моды и связи	Литература
1.	3571	$\nu(OH)$ free	[318]
2.	2997	$\nu_{as}(CH_3)$	[318]
3.	2947	$\nu_s(CH_3)$	[318]
4.	2882	$\nu(CH)$	[318]
5.	1751, 1756, 1760	$\nu(C=O)$	[318, 380]
6.	1454, 1452, 1456	$\delta_{as}(CH_3)$	[380]
7.	1384	$\delta_s(CH_3)$	[380]
8.	1365, 1368	$\delta(CH) + \delta_s(CH_3)$	[318, 380]
9.	1305, 1300, 1313, 1315	$\delta(CH)$ $\delta\ 2(CH)$	[318, 380]
10.	1269, 1270	$\delta(CH) + \nu(C-O-C)$	[380]
11.	1209, 1216	$\nu_{as}(C-O-C, h)$	[380]
12.	1185	$\nu_{as}(C-O-C, l)$	[318, 380]
13.	1130, 1132	$r_{as}(CH_3)$	[318, 380]
14.	1090	$\nu_s(C-O-C)$	[318, 380]
15.	1038, 1045	$\nu(C-CH_3)$	[318, 380]
16.	960	$r(CH_3) + \nu(CC)$	[318]
17.	925	$r(CH_3) + \nu(CC)$	[318]
18.	873, 875	$\nu(C-COO)$	[318]
19.	760	$\delta(C=O)$	[318]
20.	740	$\delta(C=O)$	[318]
21.	690, 695	$\gamma(C=O)$	[318]
22.	515	$\delta_1(C-CH_3) + \delta(COO)$	[318]

Примечание: s – симметричные моды; as – ассиметричные. Компоненты ассиметрических мод, соответствующие h-высокой частоте, l-низкой частоте,  $\delta$  – деформационные колебания;  $\nu$  – валентные колебания.

ИК-спектроскопия позволила оценить влияние различных процессов (облучения, модификации в плазм, стерилизации) на молекулярные связи в полимолочной кислоте, а также выявить присутствие остаточных органических растворителей.

### **2.5.12 Спектроскопия комбинационного рассеяния света**

Спектры комбинационного рассеяния исследуемых материалов получали с использованием научно-исследовательского комплекса Centaur U HR (Nano Scan Technologies, Россия) при следующем режиме съемки: длина волны лазера  $\lambda=532$  нм, время экспозиции 30 с, диапазон спектра (100-4000)  $\text{см}^{-1}$ .

### **2.5.13 Методика исследования прочности и механических характеристик**

В связи с высоким риском повреждения и разрывов полимеров в процессе их имплантации, определены физико-механические характеристики пленок и мембраны.

Исследования прочностных и механических характеристик выполнены стандартной методикой одноосного испытания на растяжение образцов, вырезанных из полотна в виде полосок, согласно ГОСТ 14236–81 и ГОСТ 11262–50 на испытательной установке Instron 3300 (ASTM D882, США). Толщина образцов составила 0,015 мм, ширина – 10 мм, общая длина – 50 мм, базовая длина – 10 мм. Скорость испытания – 1 мм/мин. Испытания проводились при температуре  $23\pm 2$  °С, относительной влажности  $50\pm 5\%$ . Для каждой группы образцов проводилось по 10 измерений, удаляли максимальные и минимальные значения и рассчитывали средние значения и отклонения.

В результате механических испытаний, проведенных согласно ГОСТ 14236–81 и ГОСТ 11262–50, были изучены следующие характеристики: удлинение при растяжении, предел текучести, напряжение при растяжении, а также рассчитан модуль Юнга ( $E$ ). Модуль Юнга ( $E$ , МПа) вычисляли по формуле:

$$E = \frac{Fl}{S\Delta l}, \quad (2.8)$$

где:  $F$  – сила растяжения,  $S$  – площадь поверхности образца,  $\Delta l$  – абсолютное удлинение,  $l$  – первоначальная длина.

### 2.5.14 Трибологические испытания

В связи с расправлением имплантируемого материала в тканях роговицы путем многократных маятникообразных движений длинных шпателей (рис. 2.2) вдоль поверхностей пленки и высоким риском внутритканного повреждения полимеров, проведены трибологические испытания.

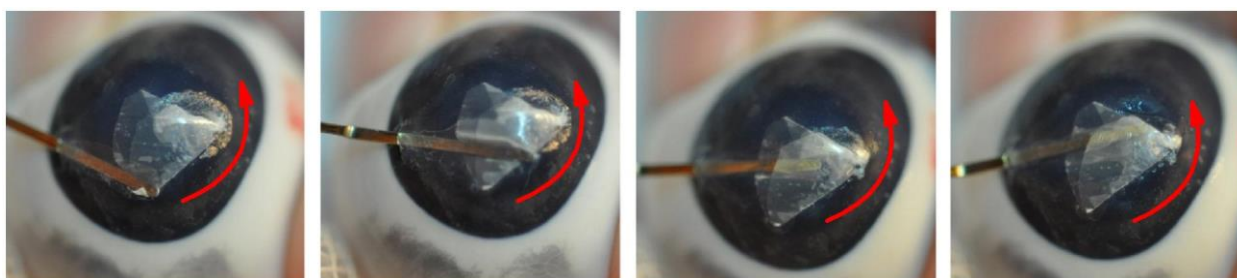


Рисунок 2.2 – Интрастромальное расправление трековой мембраны длинным шпателем (стрелкой указано направление шпателя)

Трибологические испытания разрабатываемого изделия из ПЭТФ проводились в условиях сухого трения скольжения на TRIBO technik (Франция) с варьированием длительностью испытания (в диапазоне 10 м – 75 м), скоростью скольжения (в диапазоне (1,5 – 30) мм/с) и нагрузки (1Н и 2Н). Анализ топографии износа образцов выполнялся на лазерном сканирующем микроскопе Olympus LEXT OLS4100 (Япония).

### 2.5.15 Исследование скорости деградации биodeградируемого полимера

Исследование скорости деградации биodeградируемых полимеров до и после различных видов обработок (плазменной модификации, стерилизации)

проводилась согласно ГОСТ Р ИСО 10993-5-2009, ГОСТ Р ИСО 10993-9-2009, ГОСТ Р ИСО 10993-13-2009. Для этого предварительно подготовленные образцы выдерживали в вакуумной камере в течении 48 часов при температуре 25°C, после чего пленки взвешивали на аналитических весах с погрешностью 0,1 мг. Взвешенные образцы помещали в емкость с фосфатно-солевым буферным раствором («Росмедбио», рН=7,76±0,10) в соотношении 1:30 (образец: раствор) и выдерживали в термостате при постоянной температуре (70±1)°C. На протяжении всего эксперимента измеряли рН раствора с помощью рН-метра рН-150МИ (разрешение: 0.01 рН).

Через 6, 24 и 168 часов (7 суток) от начала эксперимента образцы извлекали, высушивали и выдерживали в вакуумной камере (давление 10-3 Торр) в течение 48 часов. Далее рассчитывали потери массы  $\Delta W$  гравиметрическим методом по формуле:

$$\Delta W = \frac{W_{исх} - W_t}{W_{исх}} \times 100\% \quad (2.9)$$

где  $W_{исх}$  - исходная масса образца;  $W_t$  - масса после инкубации.

Для дальнейших исследований образцы хранились в десикаторе.

### 2.5.16 Анализ молекулярно-массовых характеристик

Среднюю молекулярную массу ( $M_w$ ), среднечисловую молекулярную массу ( $M_n$ ) и коэффициент полидисперсности (PD) плёнок ПМК определяли методом гель проникающей хроматографии (ГПХ) с использованием Agilent 1260 Infinity (Agilent technologies, США), которая оснащена колонкой Agilent PLgel 5µm Mixed-C (300 x7,5 mm) и рефрактометрическим детектором. В качестве элюента использовали хлороформ (ВЭЖХ, Thermo Fisher Scientific) при скорости потока 1 мл/мин. Эксклюзионное разделение проводили при температуре 40°C, объем пробы составлял 20мкл. Концентрация полимера в растворе составляла 0.8% масс. Калибровка хроматографической системы осуществлялась согласно

полистирольным стандартам Agilent. Обработка данных проводилась с помощью программного обеспечения Agilent GPC\_Addon.

## **2.6 Медико-биологические исследования полученных образцов**

### **2.6.1 Методика исследования цитотоксичности**

Жизнеспособность клеток (моноклеары крови, полученных из банка стволовых клеток г. Калининграда) оценивали стандартным колориметрическим методом (МТТ–тест) с использованием тетразолия – 3–[4,5–диметилтиазолил–2–ел]–2,5–дифенилтетразолиум бромида («ПанЭко», Россия) в качестве реагента и методом проточной цитофлуориметрии с определением процентного соотношения живых и погибших (апоптотических и некротических) клеток и общего количества клеток на проточном цитофлуориметре Guava EasyCytePlus (Millipore, США) с использованием программы GuavaVia Count (Millipore, США). МТТ–тест основан на восстановлении желтого МТТ метаболически активными клетками до нерастворимых в воде темно-фиолетовых гранул формазана. В митохондриальной дыхательной цепи жизнеспособных клеток ферменты дегидрогеназы восстанавливают МТТ до формазана. После растворения кристаллы формазана дают окрашивание, интенсивность которого определяется спектрофотометрически [381].

После инкубации с исследуемыми образцами в течении 24 часов в CO<sub>2</sub>–инкубаторе MCO-5AC («SANYO», Япония) при определенных условиях (T = 37°C, 95% воздуха, 5% CO<sub>2</sub>) раствором трипсина (0,25%) и ЭДТА (0,02%) («ПанЭко», Россия) клетки снимали с планшета и один раз отмывали в 1xPBS (pH 7,4) («Ambion», США). Затем к осадку добавляли 1 мл рабочего раствора МТТ и инкубировали в суховоздушном термостате ТС–1/80 СПУ (Россия) в течение трех часов (T = 37°C). Клетки осаждали путем центрифугирования в течение 2 минут при 330 g на центрифуге Sky Line CM–6M («ELMI», Латвия), и добавляли к осадку 1,5 мл 96%–го изопропанола («Экос–1», Россия) для растворения гранул

формаза. На спектрофотометре СФ-2000 («ОКБ–Спектр», Россия) при  $\lambda = 570$  нм измеряли количество восстановленного продукта – формаза [382, 383].

### **2.6.2 Исследование биосовместимости *in vitro* на культуре мезенхимальных стволовых клеток**

Исследования биосовместимости прототипов кератоимплантатов были проведены с использованием культуры пренатальных стромальных клеток, первоначально выделенную из легкого 11-недельного эмбриона человека и поддерживаемую *ex vivo* (линия FL-42, ООО «Банк стволовых клеток», г. Томск).

Образцы прототипов помещали в лунки культуральных планшетов (Orange Scientific, Бельгия), в которые добавляли безклеточную культуральную среду (280 мг/л L-глутамин, 50 мг/л гентамицин сульфат, 20% сыворотки крови эмбрионов коров, 80% среды DMEM/F12 (1:1)) либо клеточную взвесь в концентрации  $3 \times 10^4$  жизнеспособных кариоцитов в 1 мл полной культуральной среды. Спустя 72 ч культивирования при (37°C, 5% CO<sub>2</sub> и 100% влажности) образцы удаляли. Супернатанты (кондиционные среды) для определения активности щелочной фосфатазы (ЩФ), концентрации кальция, калия и неорганического фосфата получали путем сбора надосадочной части клеточных культур и последующего их центрифугирования в течение 10 минут при 500 g. Контролем служила культура клеток на пластиковой поверхности культуральных планшетов без добавления образцов. Далее, планшеты сушили на воздухе при комнатной температуре в течение 24 ч, фиксировали прилипающие клетки в парах формалина и проводили иммуноцитохимию путем окрашивания на виментин. Виментин является структурным белком, который у человека кодируется геном VIM, и представляет собой белок промежуточных филаментов (IF) типа III, который экспрессируется в мезенхимальных клетках. Виментин – основной цитоскелетный компонент клеток и часто используется в качестве маркера мезенхимальных клеток или клеток, претерпевающих эпителиально-мезенхимальный переход (EMT) как во время нормального развития, так и при метастатической прогрессии.

Окраску на указанный белок проводили следующим образом. Для начала клетки фиксировали и пермеабилizировали в холодном ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) метаноле в течение 1 минуты. После использовали мышинные моноклональные антитела к человеческому виментину (clone V9, Novocastra<sup>TM</sup>, Великобритания) для иммуноцитохимического исследования с разведением первичных антител – 1:500. Визуализацию проводили на основе рекомендованного производителем первичных антител протокола иммунопероксидазного метода с помощью набора Novolink<sup>TM</sup> Polymer Detection Systems (Великобритания). В качестве метки иммунной реакции был использован 3,3–диаминобензидин (DAB). Реакцию на виментин считали положительной при обнаружении специфической коричневой окраски в цитоплазме клеток культуры.

### **2.6.3 Исследования влияния имплантации разработанных кератоимплантатов на структуры глазного яблока биологических моделей *in vivo***

Изучение биосовместимости разработанных материалов *in vivo* выполнено на кроликах породы *Sylvilagus bachmani* весом 2,5 – 3,0 кг путем предварительного моделирования заболевания и последующей имплантации полимеров. Перед экспериментом всех животных выдерживали на протяжении трех недельного карантина срока в условиях вивария на обычном пищевом режиме. Данная часть работы выполнена с согласованием локального этического комитета (регистрационный номер № 3898 от 24.11.2014 г., регистрационный номер № 7892 от 13.05.2019 г.) и соответствует руководству ARVO по использованию животных в офтальмологических исследованиях. Содержание, питание, уход, вывод из эксперимента которых соответствовали требованиям «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1968 г.), «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденных Приказами МЗ СССР №742 от 13.11.1984 г. «Об утверждении

правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и №48 от 23.01.1985 г. «О контроле за проведением работ с использованием экспериментальных животных».

Животных разделили на пять групп:

1 группа – интактная – 4 здоровых животных (4 глаза);

2 группа – 16 животных (16 глаз) группы модели заболевания, которым воспроизводили путем механического повреждения эндотелиального слоя роговицы с последующим его удалением;

3 группа – 16 животных (16 глаз), которым выполнена интрастромальная имплантация трековой мембраны из ПЭТФ в слои изменённой в ходе формирования буллезной кератопатии роговицы;

4 группа – 16 животных (16 глаз), которым выполнена внутрикамерная имплантация трековой мембраны из ПМК с наслоением на заднюю поверхность роговой оболочки мононуклеарных лейкоцитов на фоне изменённой в ходе формирования буллезной кератопатии роговицы.

5 группа – 16 животных (16 глаз), которым после индуцирования заболевания проводилась традиционная фармакотерапия в виде инстилляций каплями Тобрекс (3 раза в день), Диклофенак (3 раза в день), закладывание за нижнее веко Корнерегеля (3 раза в день).

Модель заболевания кроликам воспроизводили в условиях операционной под внутривенном наркозом с соблюдением правил асептики и антисептики путем механического повреждения и удаления эндотелия роговицы одного из глаз (рис. 2.3).



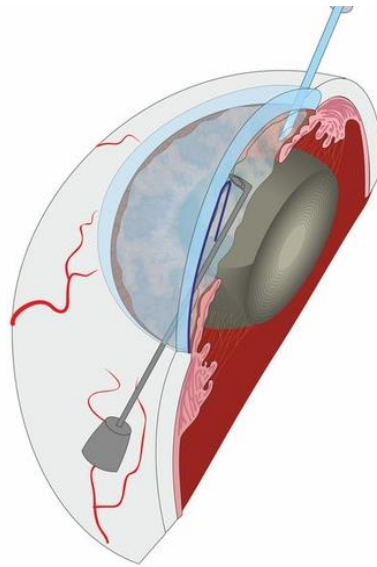


Рисунок 2.3 – Схема моделирования буллёзной кератопатии экспериментального животного

Мононуклеарные лейкоциты из крови экспериментальных животных выделяли методом фракционирования на градиенте плотности на растворе фиколл-верографин [126, 384]. Кровь, взятая из вены животного, помещалась в стерильную пробирку, содержащую 1,0 мл раствора Гепарина, далее в 2,0 раза разводилась изотоническим раствором NaCl. Полученная суспензия наслаивалась на 3,0 мл смеси фиколл-верографина в соотношении 1:3 и центрифугировалась в течение 15 мин при 800g (2000 об/мин). Полученный интерфазный слой, содержащий мононуклеары, забирался пастеровской пипеткой (рис. 2.4).

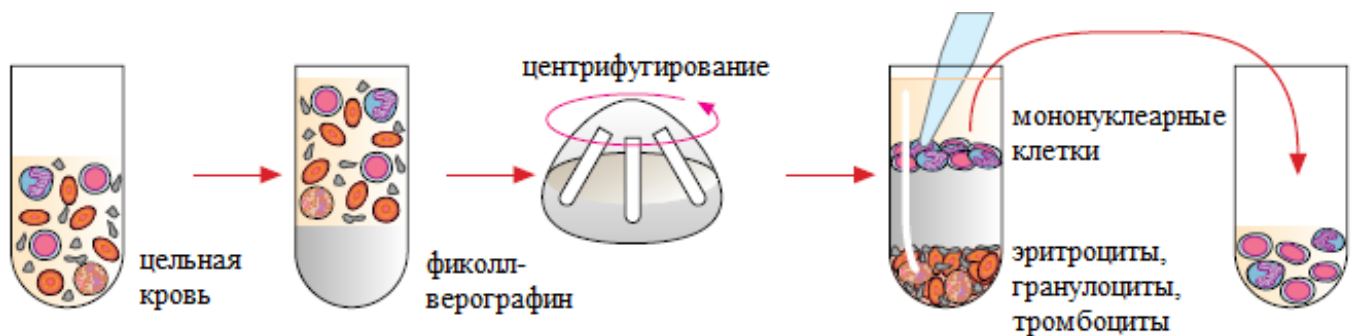


Рисунок 2.4 – Методика разделения мононуклеаров крови на градиенте плотности

После добавления 1,0 мл физиологического раствора полученная суспензия, содержащая мононуклеарные лейкоциты, центрифугировалась в течение 7 мин при 400g (1500 об/мин) для отмывания клеточной взвеси.

Чистота полученных клеток составляла 96%, жизнеспособность которых оценивали в тесте с трипановым синим. Процент окрашенных (погибших) элементов составлял 1,5-2,0%, что не превышало допустимое (не более 3%) количество.

В послеоперационном периоде всем животным проводили инстилляцию каплями Тобрекс (3 раза в день), Диклофенак (3 раза в день), Баларпан (3 раза в день), закладывание за нижнее веко 5% Корнерегеля (4 раза в день).

В ходе эксперимента *in vivo* всем группам проведены биомикроскопия (щелевая лампа ЛС-01 Зенит, Россия), оптическая когерентная томография роговицы и передней камеры (3D OCT-1 Maestro), фоторегистрация глазной поверхности перед началом лечения, а также на 14-е и 30-е сутки после начала лечения.

Выведение животных из эксперимента осуществляли с соблюдением правил и норм Европейского общества (86/609ЕЕС), Хельсинской декларации и приказов Министерства здравоохранения СССР (№742 от 13.11.1984 г. и №48 от 23.01.1985 г.) путем ингаляции CO<sub>2</sub>. 3-й, 4-й, 5-й группы выводили на 30-е сутки после имплантации кератоимплантатов, 2-й группу – также на 30-е сутки от начала эксперимента по моделированию заболевания.

## **2.6.4 Методы морфологических исследований**

### **2.6.4.1 Световая микроскопия**

Выявление и изучение морфологических особенностей нормальной роговицы, а также при индуцированном повреждении ее эндотелиального слоя на фоне интрастромальной и внутрикамерной имплантации полимеров использован общегистологический обзорный метод (окраска срезов гематоксилин и эозином, пикрофуксином по методу Ван-Гизон, альцановым синим, окраска по Маллори).

Световую микроскопию гистологических срезов проводили под 200-х и 400-х кратным увеличением на аппарате ЛОМО Биолам АУ-12 (Россия) с

возможностью фотосъемки при помощи интегрированной цифровой видеокамеры ICC50 с интерфейсом USB.

Подсчет удельных объемов эпителия и стромы роговицы, дистрофически измененных эпителиоцитов, сосудов, отека основного вещества, клеточности осуществлено при помощи окулярной сетки Автандилова на 50 точек (=100%).

#### **2.6.4.2 Просвечивающая электронная микроскопия**

Для электронно-микроскопического исследования тканей глазного яблока приготавливали ультратонкие срезы толщиной 60–100 нм на ультротоме “Ultrotome III” (“LKB”, Швеция). Изучение ультраструктуры проводили методом трансмиссионной электронной микроскопии на электронном микроскопе “JEM-100 CXII” (“JEOL”, Япония) с апертурной диафрагмой 25–30 мкм при ускоряющем напряжении 80 кВ.

### **2.7 Методы статистической обработки экспериментальных данных**

Результаты экспериментов обрабатывали с использованием программы «IBM SPSS Statistics 23».

Для определения зависимости между выборками был проведен корреляционно-регрессионный анализ. Для оценки степени взаимосвязи величин  $x$  и  $y$  рассчитывали коэффициенты корреляции Пирсона и детерминации. Тесноту связи определяли по величине коэффициента корреляции ( $r$ ) и детерминации ( $R^2$ ). Сильную зависимость считали  $r > 0,65$ , очень сильную  $r > 0,81$ .

Для оценки статистической значимости различий применяли параметрический  $t$ -критерий Стьюдента ( $P_t$ ) или непараметрические критерии Манна–Уитни ( $U$ -тест,  $P_U$ ), Вилкоксона, Крускала–Уоллиса ( $H$ -тест). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

В работе представлены следующие параметры распределений: для физических данных – величина среднего значения ( $M$ ), стандартное отклонение

(SD,  $\sigma$ ), для медико-биологических данных – медиана (Me), 25% квартиль ( $Q_1$ ) и 75% квартиль ( $Q_3$ ) [385–389].

## Выводы по главе II

Для выполнения поставленной цели и задач в главе II были описаны методики получения кератоимплантатов на основе трековых мембран из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты. Приведены методы стерилизации материалов и их модификации низкотемпературной плазмы атмосферного давления. Выбраны методы исследования, которые позволили комплексно оценить влияние разных факторов на физико-химические, механические и оптические свойства разрабатываемого материала.

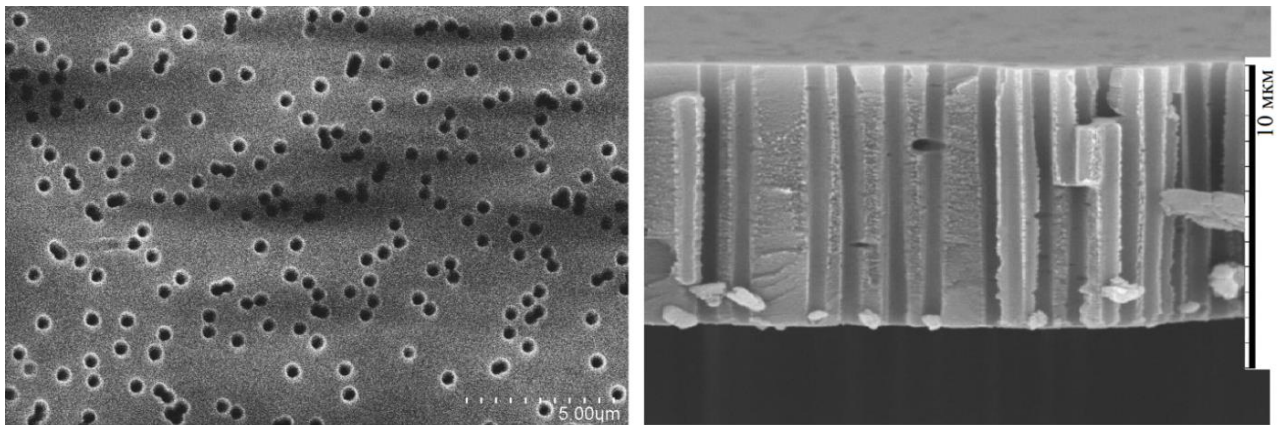
Описаны методики исследования на цитотоксичность и биосовместимость *in vitro*, а также влияния имплантации разработанных прототипов кератоимплантатов на структуры глазного яблока биологических моделей *in vivo*.

Рассмотрены методы статистической обработки экспериментальных данных.

## ГЛАВА III КЕРАТОИМПЛАНТАТ ИЗ ПОЛИЭТИЛЕНТЕРЕФТАЛАТА

### 3.1 Трековая мембрана из полиэтилентерефталата

Электронно-микроскопическое исследование полученной в ходе облучения и травления пленки ПЭТФ мембраны показало, что поры распределены стохастически (рис. 3.1). Расчеты среднего размера пор и поверхностной плотности показали средний размер 0,5 мкм и поверхностную плотность пор  $6,2 \times 10^7$  пор/см<sup>2</sup>. Геометрия полученных пор, согласно исследованию скола, близка к цилиндрической (рис. 3.1).



а

б

Рисунок 3.1 – Электронно-микроскопическое изображение ТМ из ПЭТФ: а) поверхность, б) скол

Согласно данным порометрии, средний диаметр пор составил (0,5 – 0,54) мкм. В то же время некоторое количество пор имело диаметр меньше 0,5 мкм (рис. 3.2).

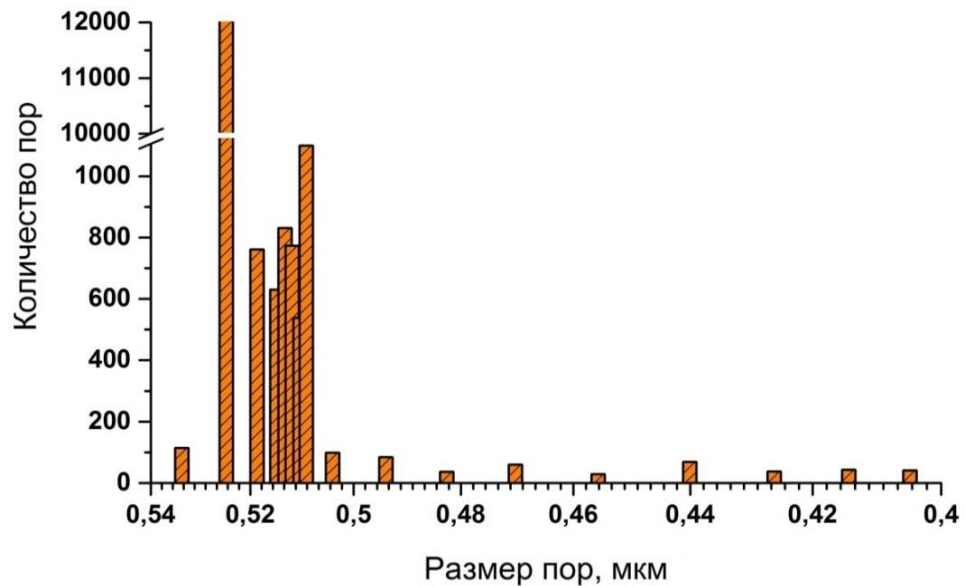


Рисунок 3.2 – Распределение пор ТМ из ПЭТФ по размеру диаметра

Среднее значение площади сечения пор, согласно расчетам, составило  $(0,08 - 0,16) \text{ мкм}^2$  (~81% пор). Поры площадью более  $0,3 \text{ мкм}^2$  единичные (не более ~7%) (рис. 3.3), наличие которых отражают факт появления в полимерной матрице вследствие диффузно рассеянной бомбардировки ионами аргона сливных и близкорасположенных пор.

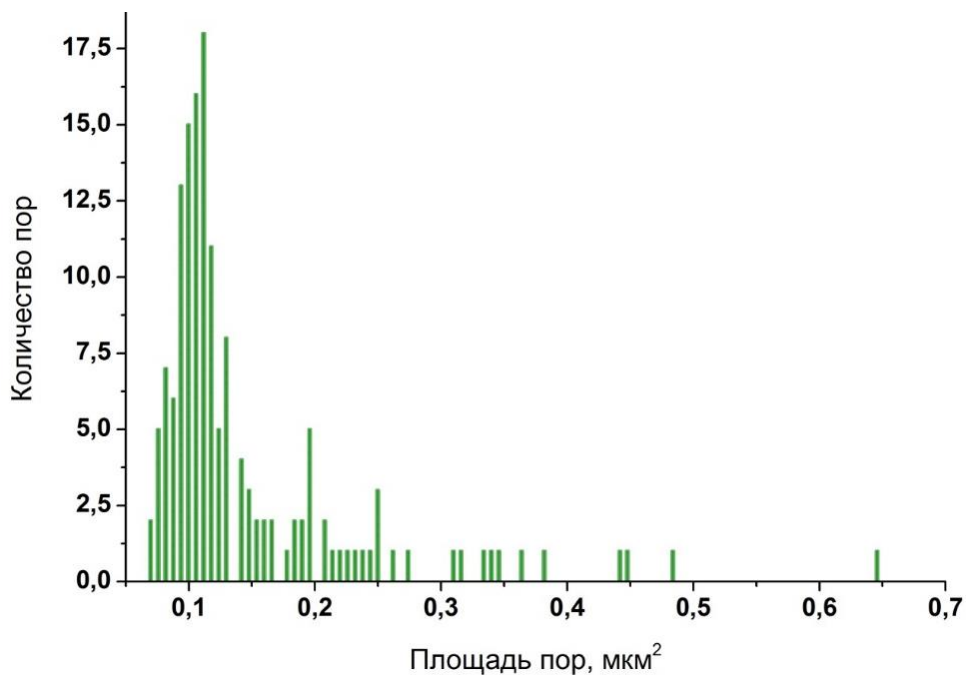


Рисунок 3.3 – Распределение пор ТМ из ПЭТФ по площади сечения

На рисунке 3.4 представлены трёхмерное изображение поверхности мембраны, где также видно, что поверхность достаточно плоская со стохастическим распределением пор.

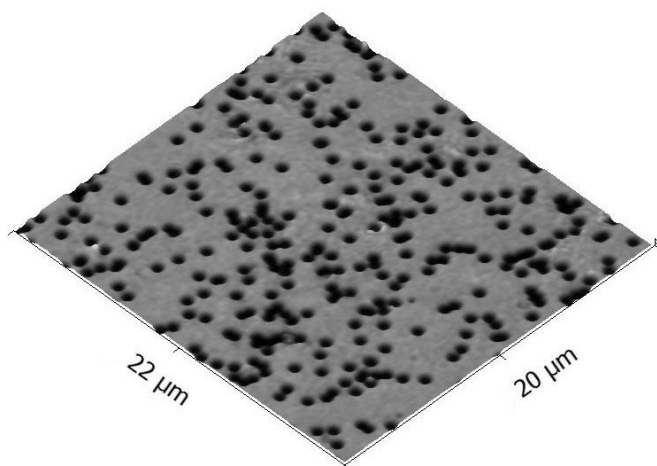


Рисунок 3.4 – Трёхмерное изображение ТМ из ПЭТФ

Анализ шероховатости показал, что среднеарифметическая шероховатость  $R_a$  ТМ из ПЭТФ составляет 0,15 мкм, среднеквадратичная шероховатость  $R_q$  – 0,3 мкм, максимальная высота шероховатости  $R_t$  – 3,2 мкм, средняя максимальная высота профиля  $R_z$  – 4,1 мкм.

Смачиваемость является важным параметром для создания изделия медицинского назначения, в частности – роговичного имплантата. Измерения краевого угла смачивания показало, среднее значение для ТМ из ПЭТФ:  $\theta_w^\circ = 72,8^\circ \pm 2,2^\circ$ ,  $\theta_N = 5,0^\circ \pm 1,2^\circ$ ,  $\theta_g^\circ = 74,8^\circ \pm 3,7^\circ$ , тем самым приближая свойства материала к гидрофобным.

Поверхностная энергия является параметром, определяющим взаимодействие материала с окружающей средой. Расчет средней свободной энергии поверхности ТМ из ПЭТФ показал значение полной энергии  $\gamma = 29,95 \pm 2,8$  мДж/м<sup>2</sup>, причем вклад поляризационной составляющей значительней дисперсионной. Полярность мембран составила 0,8.

На ИК-спектрах (рис. 3.5) присутствовал классический набор линий поглощения для ПЭТФ. Так, линия поглощения при 723 см<sup>-1</sup> относится к [375, 376] крутильной моде колебаний метиленовой группы (СН<sub>2</sub>), а линия

при  $792\text{ см}^{-1}$  обусловлена колебаниями карбонильных  $\gamma(\text{C=O})+\delta(\text{COO})$  групп [376], при  $850\text{ см}^{-1}$  – к колебаниям метиленовой группы  $\gamma(\text{CH}_2)$ , при  $872\text{ см}^{-1}$  – колебаниям фенильного  $\gamma(\text{CH})$  кольца, при  $1016\text{ см}^{-1}$  – к валентным колебаниям ( $-\text{C}-\text{C}-$ ) и колебаниям ( $\text{C}-\text{H}$ ) групп бензольного кольца [377]. Линии поглощения при  $1093\text{ см}^{-1}$  и при  $1241\text{ см}^{-1}$  относятся к неполярным ( $\text{C}=\text{C}$ ,  $\text{C}=\text{O}$ ) функциональным группам, при  $1340\text{ см}^{-1}$  – к метиленовым ( $=\text{CH}_2$ ) группам [378], при  $1712\text{ см}^{-1}$  – к валентными колебаниями ( $\text{C}=\text{C}$ ) и ( $\text{C}=\text{O}$ ) групп [377, 378]. Поглощение при  $1407\text{ см}^{-1}$  трактуется как отклонения ( $\text{C}-\text{C}$ ) групп.

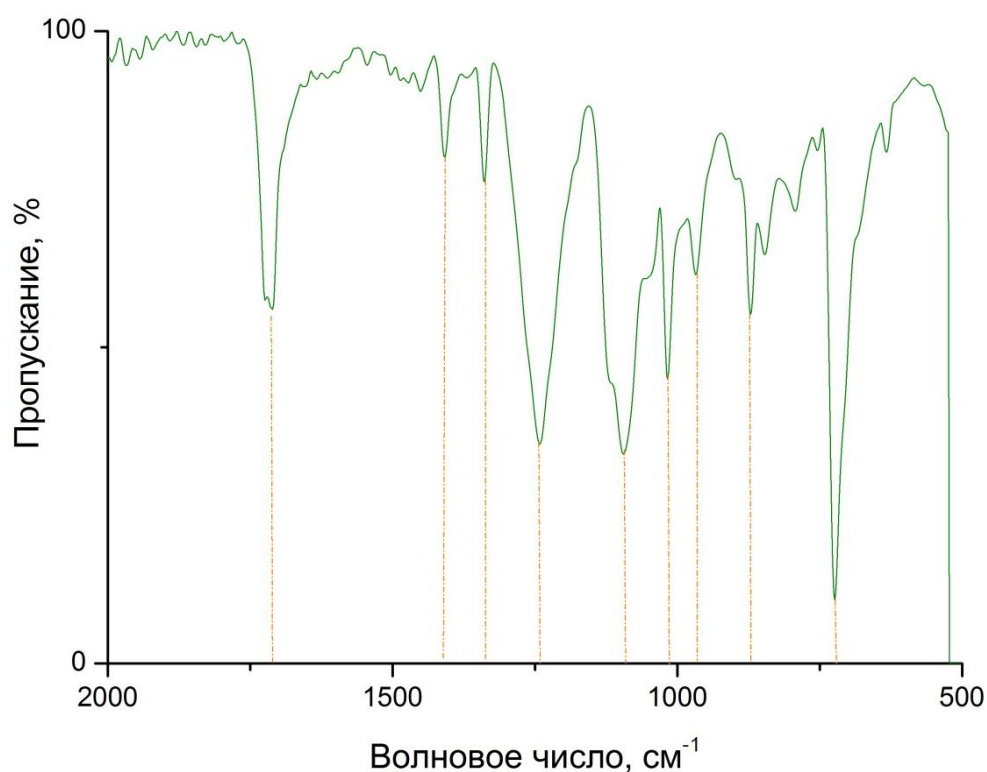


Рисунок 3.5 – ИК–спектр пропускания ТМ из ПЭТФ

### 3.2 Модификация поверхности кератоимплантата из полиэтилентерефталата

Согласно электронно-микроскопическому исследованию заметного влияния плазмы при времени воздействия 30с на поверхность ТМ из ПЭТФ по данным РЭМ-исследования выявлено не было (рис. 3.6).



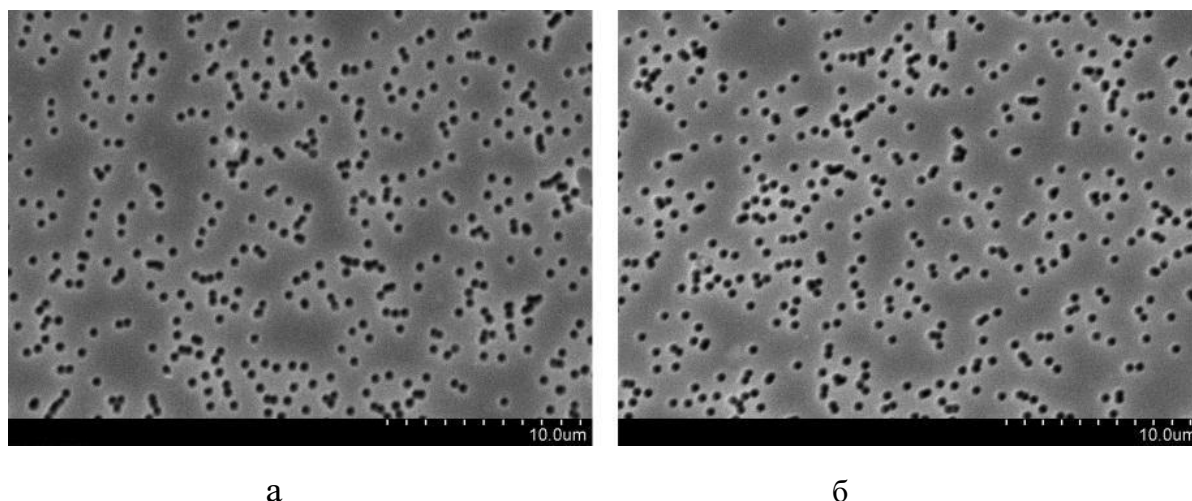


Рисунок 3.6 – Электронно-микроскопическое изображение ТМ из ПЭТФ до (а) и после (б) модификации плазмой при времени обработки 30с

Согласно данным порометрии, средний диаметр пор ТМ из ПЭТФ после модификации плазмой остался неизменным, составив (0,5 – 0,54) мкм.

Среднее значение площади сечения пор ТМ из ПЭТФ после модификации плазмой, согласно расчетам, составило (0,09 – 0,16) мкм<sup>2</sup> (~79% пор). Поры площадью более 0,3 мкм<sup>2</sup> единичные (не более ~9%) (рис. 3.7), как и в случае с исходными ТМ из ПЭТФ. Таким образом, сравнительный анализ данных электронно-микроскопического исследования и порометрии показал отсутствие заметного действия плазмы на размеры пор и их распределения по поверхности ТМ из ПЭТФ.

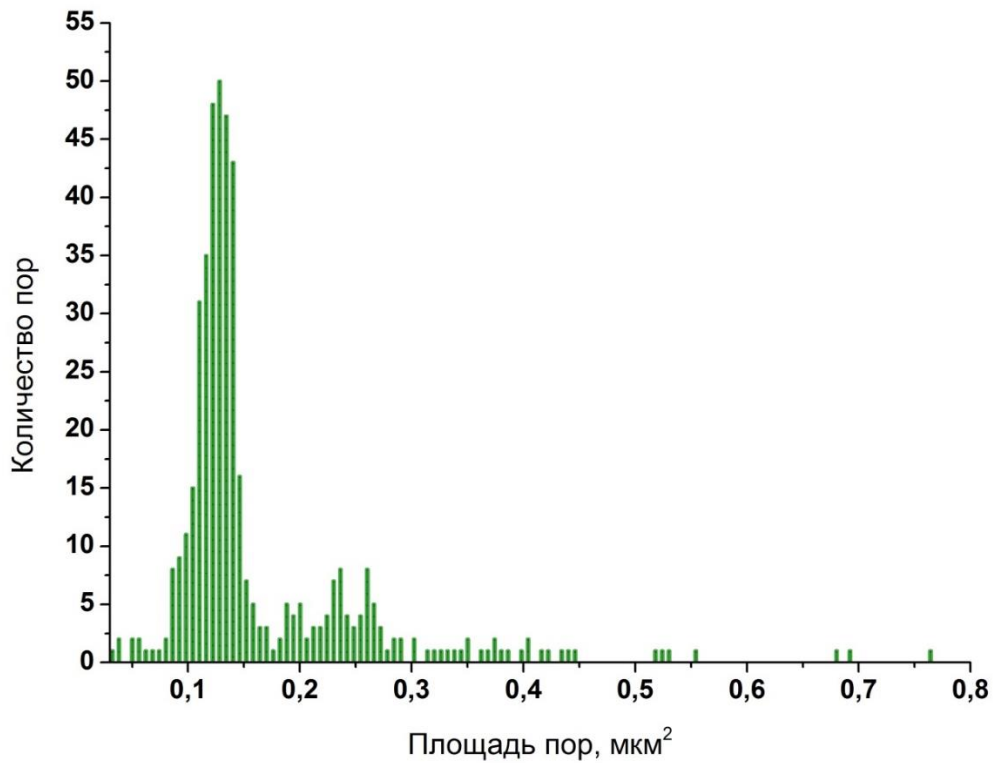


Рисунок 3.7 – Распределение пор ТМ из ПЭТФ после модификации плазмой (30с) в зависимости от площади сечения

Согласно данным АСМ, воздействие на поверхность материалы низкотемпературной плазмы привело к образованию многочисленных хаотично распределенных мелких неровностей конусообразной формы, высотой более 100 нм (рис. 3.8), плотностью 2,43 пиков/мкм<sup>2</sup> при времени воздействия плазмы 30 с.

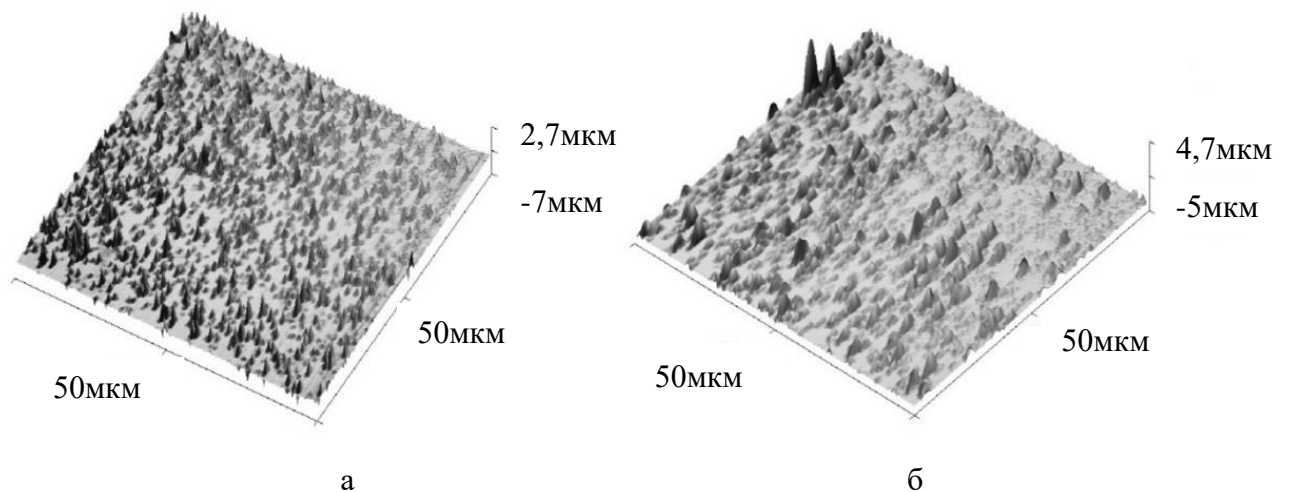


Рисунок 3.8 – Топография поверхности ТМ из ПЭТФ после плазменной модификации при времени обработки 60с (а) и 90с (б)

Анализ шероховатости показал, что модификация плазмой увеличивает среднеарифметическую шероховатость  $R_a$  ТМ из ПЭТФ в 3,8 раз, среднеквадратичную шероховатость  $R_q$  – в 4,2 раза, максимальную высоту шероховатости  $R_t$  – в 4 раза, среднюю максимальную высоту профиля  $R_z$  – в 10 раз при плазменной экспозиции – 30с. С увеличением времени обработки плазмой шероховатость ТМ из ПЭТФ линейно возрастает (рис. 3.9). Таким образом, экспозиция плазмой 90с приводит к более существенным изменениям шероховатости мембраны.

Корреляционно-регрессионный анализ показал очень сильную взаимосвязь параметров шероховатости от времени модификации плазмой. Коэффициент детерминации  $R^2$  варьировал от 0,83 до 0,99 (рис. 3.9).

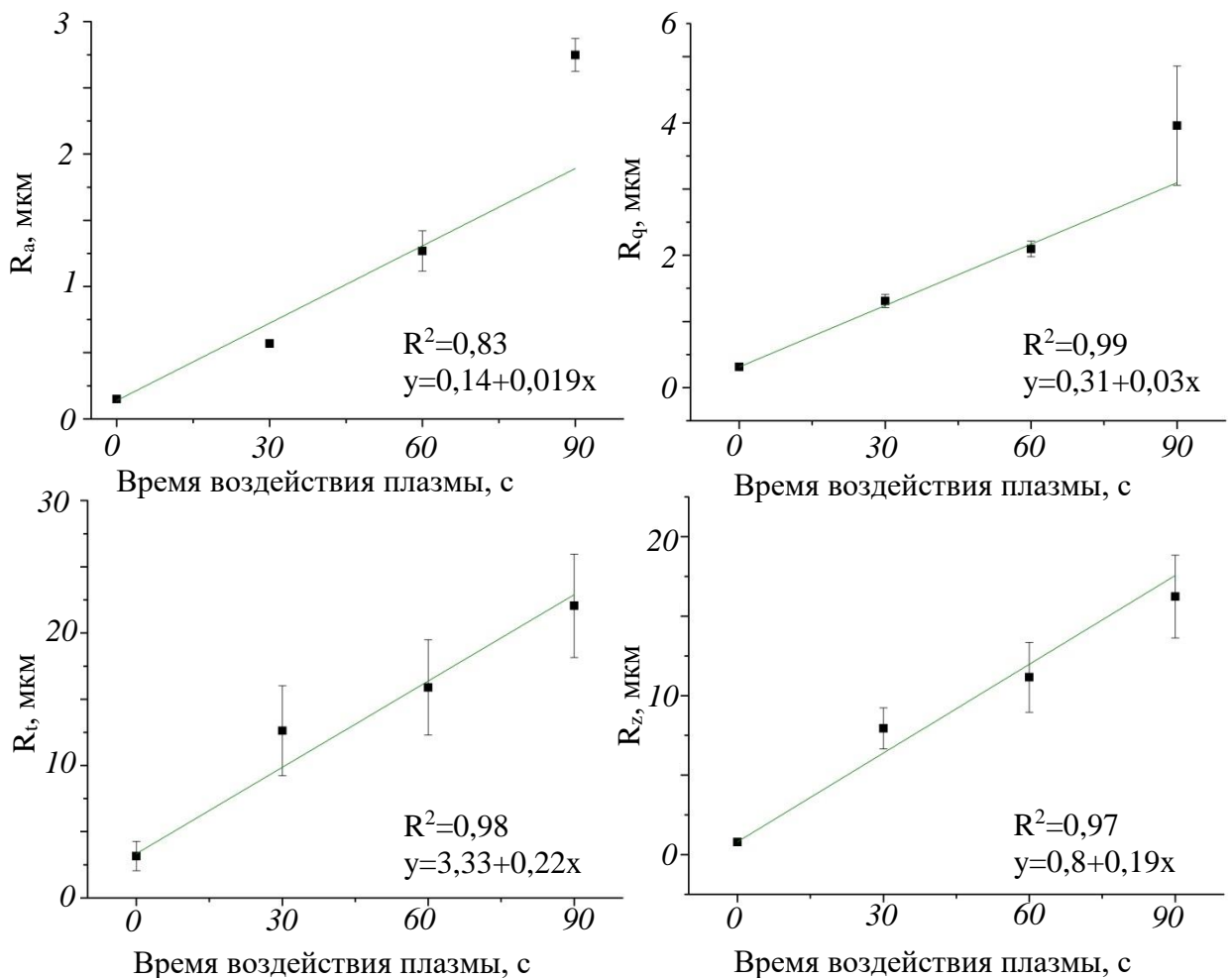


Рисунок 3.9 – Зависимость параметров шероховатости ( $R_a$ ,  $R_q$ ,  $R_t$ ,  $R_z$ ) ТМ из ПЭТФ от времени воздействия плазмы

Так как поверхность мембраны из ПЭТФ имела условно гидрофобный характер, материал подвергали воздействию низкотемпературной плазмы, которое привело к возрастанию степени гидрофильности поверхности и снижению краевого угла смачивания на  $40^\circ - 43^\circ$  (56% – 58%) (рис. 3.10). Динамика измерения краевого угла смачивания в течении 21 дня хранения при комнатной температуре показала относительную стабильность полученных значений.

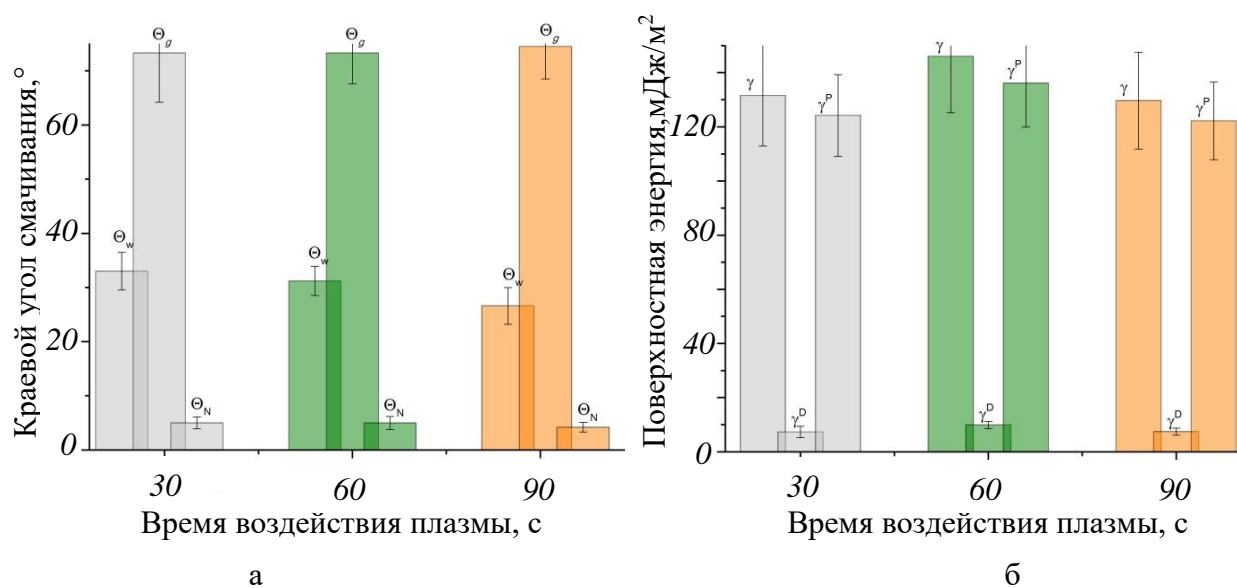


Рисунок 3.10 – Значения краевых углов ( $\theta_w^\circ, \theta_g^\circ, \theta_N^\circ$ ) смачивания (а) и поверхностной энергии ( $\gamma, \gamma^D, \gamma^P$ ) (б) ТМ из ПЭТФ после воздействия плазмы

Расчет свободной энергии поверхности ТМ из ПЭТФ показал среднее значение полной энергии после модификации плазмой  $\gamma = 135,7 \pm 10,3$  мДж/м<sup>2</sup>, что больше исходной в 4,5 раз (рис. 3.10). Увеличение  $\gamma$  в большей мере связано с увеличением поляризационной составляющей: соотношение  $\gamma^P: \gamma^D$  как 1:17. Полярность мембран после модификации плазмой составила 0,9.

ИК-спектры мембран из ПЭТФ после воздействия плазмы представлен на рисунке 3.11.

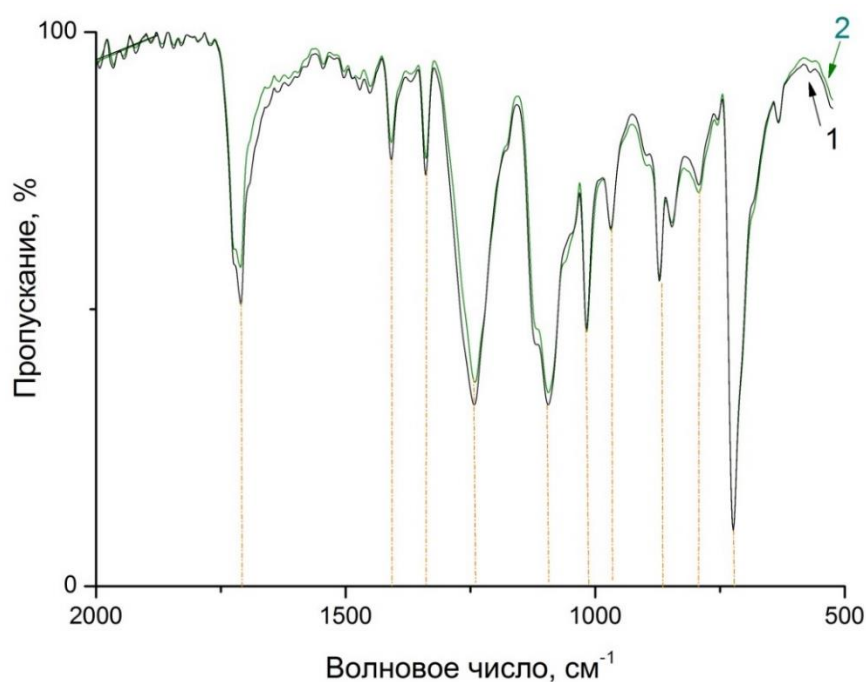


Рисунок 3.11 – ИК–спектр пропускания ТМ из ПЭТФ после плазменной модификации: 1 – время воздействия плазмы – 30с; 2 – время воздействия плазмы – 60с

Анализ ИК-спектров мембран из ПЭТФ после воздействия на поверхность материала плазмы показал уменьшение полос поглощения при  $1712\text{ см}^{-1}$ ,  $1241\text{ см}^{-1}$  и  $1093\text{ см}^{-1}$  (рис. 3.11), связанных с колебаниями неполярных ( $\text{C}=\text{C}$ ,  $\text{C}=\text{O}$ ) функциональных групп, что согласуется с литературными данными [316, 317, 390], где отмечено уменьшение количества неполярных (гидрофобных) функциональных групп  $\text{C}=\text{C}$  и  $\text{C}=\text{O}$  в результате плазменного воздействия в поверхностном слое полимера и образование  $\text{C}-\text{C}/\text{C}-\text{H}$ ,  $\text{C}-\text{O}$  и/или  $\text{C}-\text{N}$ ,  $\text{O}=\text{C}-\text{O}$  и/или  $\text{N}-\text{CO}-\text{N}$ , и  $\text{N}-\text{C}=\text{O}$  групп, свидетельствующих об увеличении количества полярных (гидрофильных) функциональные группы [316, 317, 390].

Авторы [391, 392] полагают, что в результате плазменной деструкции полимерных цепей наиболее вероятен разрыв связи  $\text{C}-\text{O}$  и  $\text{C}-\text{C}$  (рис. 3.12), имеющие энергию связи  $376\text{ кДж/моль}$  и  $335\text{ кДж/моль}$  соответственно.

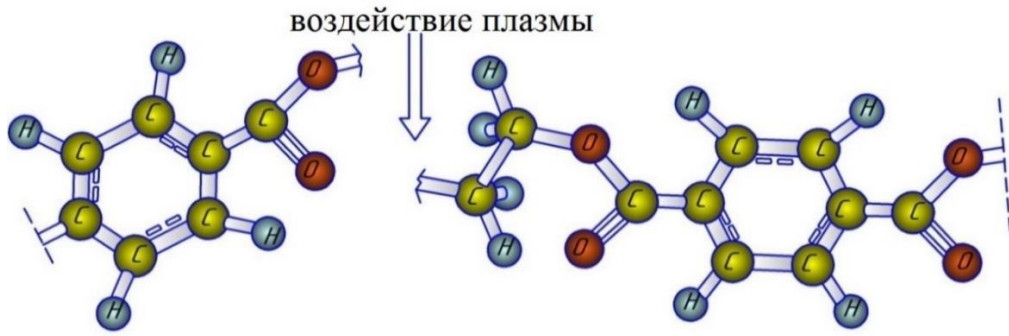


Рисунок 3.12 – Разрыв молекулы ПЭТФ ТМ в результате воздействия плазмы

Карбоксильные группы, образованные в результате вторичных реакций нестабильных радикалов поверхностного слоя полимера и процесса реорганизации полимерной цепи (рис. 3.13), определяют гидрофильность поверхности мембран [393].

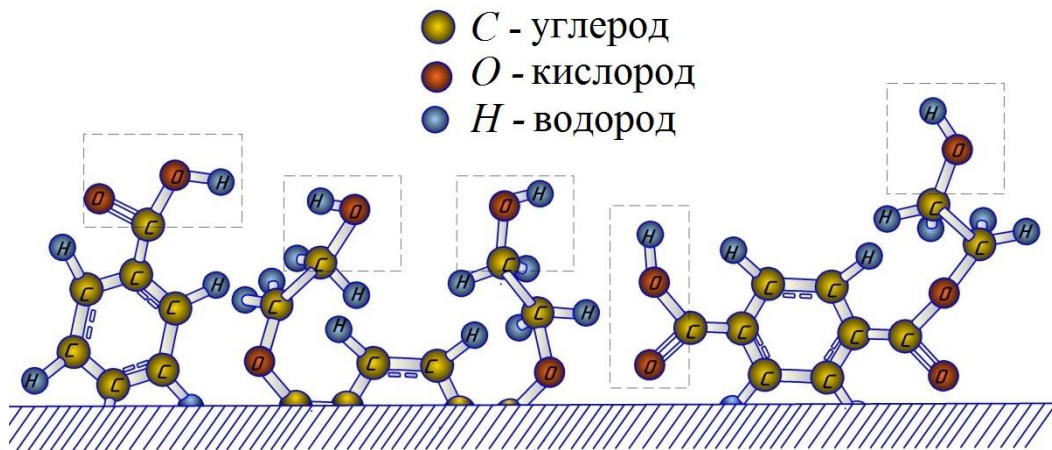
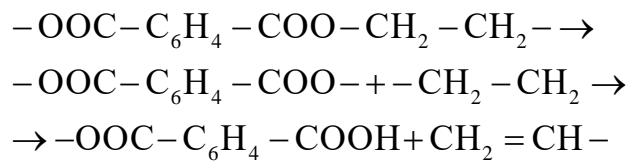


Рисунок 3.13 – Присоединение гидроксильных групп в местах разрыва молекулы ТМ из ПЭТФ

Возможна следующая химическая реакция:





### 3.3 Влияние $\gamma$ -стерилизации на свойства кератоимплантата из полиэтилентерефталата

Выбор метода стерилизации является важным этапом в создании роговичных имплантатов и определения наиболее подходящих стерилизующих методов и режимов для ТМ из ПЭТФ. При этом необходимо рассмотреть как изолированное действие стерилизации на ТМ из ПЭТФ, так и синергетику воздействий (плазмы и стерилизации) на структуру и свойства ТМ.

Облучение  $\gamma$ -лучами способствовало образованию дефектов неправильной формы на поверхности исходной и модифицированной в плазме мембранах (рис. 3.14, указано стрелкой).

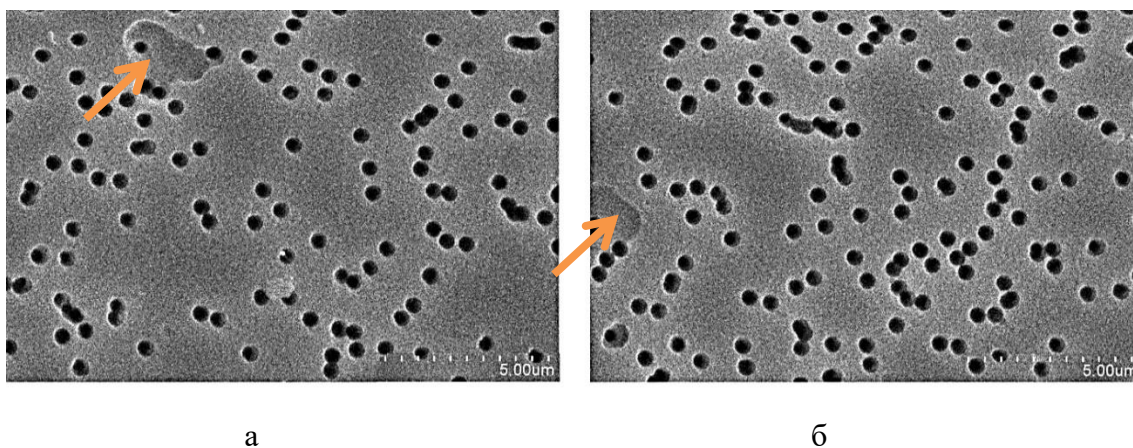


Рисунок 3.14 – Электронно-микроскопическое изображение ТМ из ПЭТФ после  $\gamma$ -облучения: а) не модифицированная в плазме ТМ из ПЭТФ, б) модифицированная в плазме ТМ из ПЭТФ при плазменной экспозиции 30с

Анализ дефектов ТМ из ПЭТФ после  $\gamma$ -излучения показал, что их средний размер составлял  $\sim 5$  мкм, глубина –  $0,4 \pm 0,15$  мкм при дозе облучения 1 кГр (рис. 3.15) и глубина –  $0,5 \pm 0,18$  мкм при дозе облучения 15 кГр (рис. 3.16).





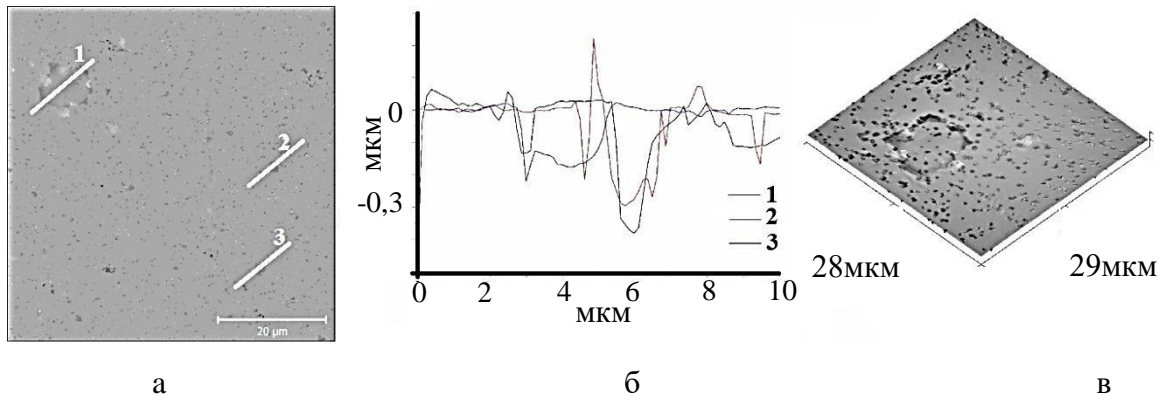


Рисунок 3.17 – Двухмерные изображения (а), профиль поверхности (б) и трехмерные изображения (в) поверхностей модифицированных в плазме (30с) ТМ из ПЭТФ после  $\gamma$ -стерилизации при дозе 1кГр; кривые 1 – 3 показывают профиль поверхности дефектов

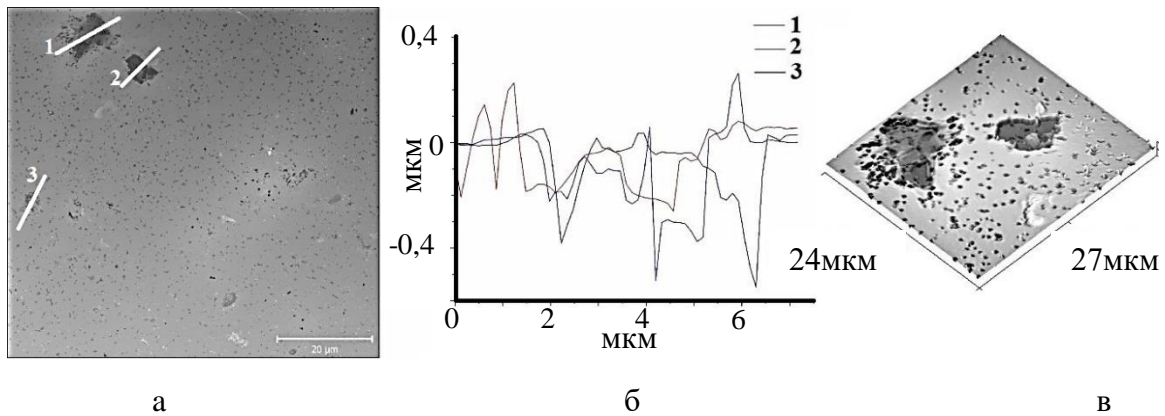


Рисунок 3.18 – Двухмерные изображения (а), профиль поверхности (б) и трехмерные изображения (в) поверхностей модифицированных в плазме (30с) ТМ из ПЭТФ после  $\gamma$ -стерилизации при дозе 15кГр; кривые 1 – 3 показывают профиль поверхности дефектов

В работе проведен анализ относительной площади дефектных зон [394], согласно которому было выявлено, что общая площадь дефектов ТМ из ПЭТФ после облучения радионуклеида  $^{60}\text{Co}$  занимала 9% от всей площади поверхности мембраны (табл. 3.1). Также отмечено, что статистически значимых различий между образцами, облученными разными дозами, между немодифицированными и модифицированными в плазме ТМ нет ( $p > 0,05$ ).

Таблица 3.1 – Относительная площадь (%) дефектов ТМ из ПЭТФ после  $\gamma$ -стерилизации

Доза облучения	Относительная площадь дефектов, %			
	Время обработки низкотемпературной плазмой			
	0 секунд	30 секунд	60 секунд	90 секунд
1 кГр	$8 \pm 1,2$	$8,4 \pm 0,8$ ; $p > 0,5$	$9,2 \pm 0,4$ ; $p > 0,1$	$6,1 \pm 1,7$ ; $p > 0,5$
15 кГр	$7,2 \pm 2,5$	$8,1 \pm 0,7$ ; $p > 0,3$	$8,3 \pm 2,3$ ; $p > 0,3$	$5,9 \pm 2,1$ ; $p > 0,4$

Примечание:  $p$  – уровень статистической значимости различий по сравнению с необработанными плазмой стерилизованными образцами.

Исследование топографии модифицированных в плазме ТМ из ПЭТФ после  $\gamma$ -стерилизации показало, что деструктивные области на поверхности материала в виде многочисленных мелких неровностей сохраняются после  $\gamma$ -воздействия (рис. 3.19). Высота образований не превышала 100 нм, плотность составила 2,2 пиков/мкм<sup>2</sup> модифицированного в плазме образца при экспозиции 30с.

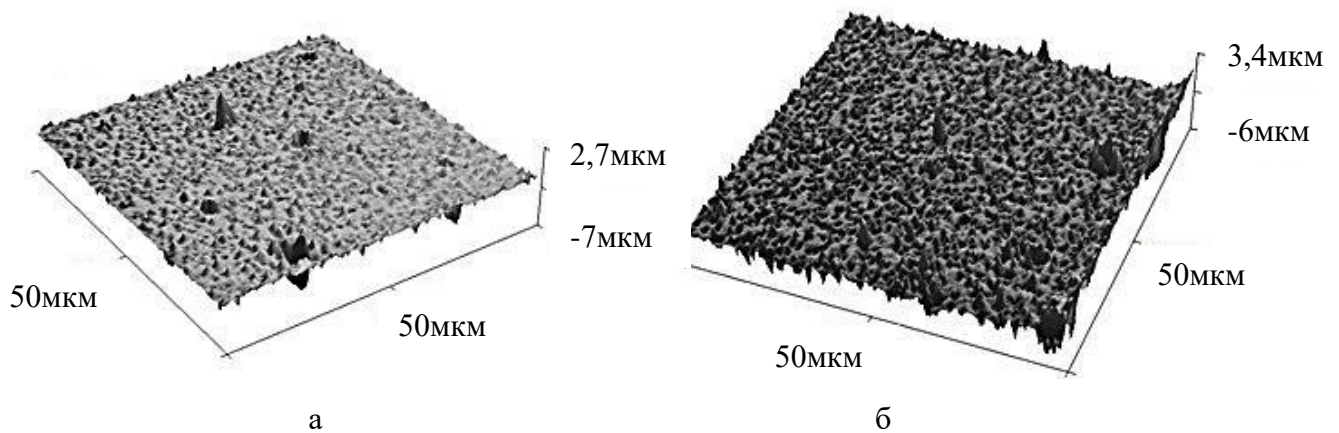


Рисунок 3.19 – Трехмерные изображения поверхности модифицированных в плазме ТМ из ПЭТФ при времени обработки 60с (а) и 90с (б) после  $\gamma$ -стерилизации (доза 1 кГр)

Средний размер пор ТМ из ПЭТФ после  $\gamma$ -стерилизации составил 0,55 мкм, что статистически не отличалось от значений исходных мембран (рис. 3.20).

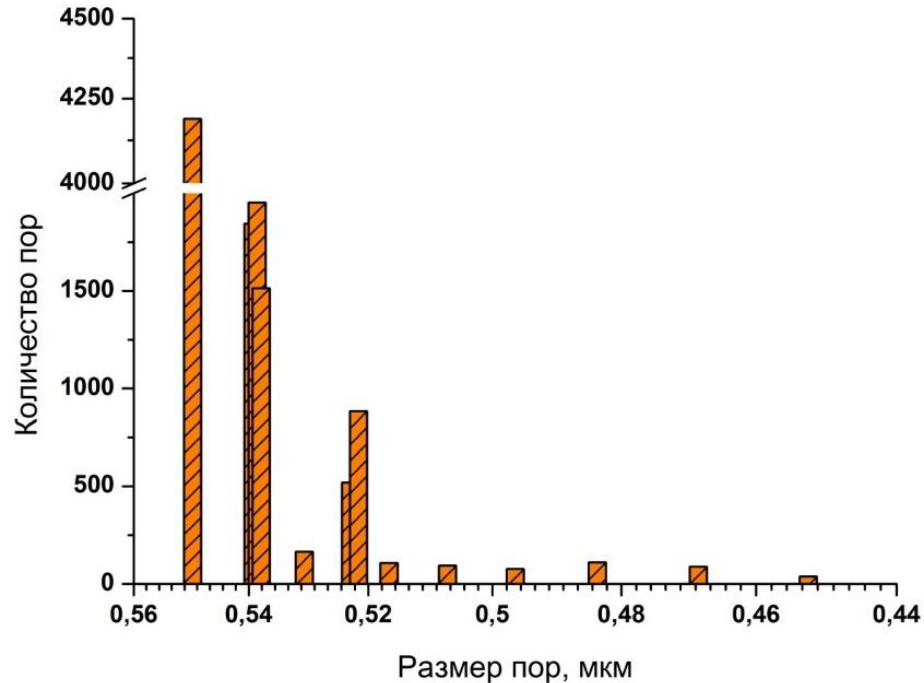


Рисунок 3.20 – Распределение размеров пор ТМ из ПЭТФ после  $\gamma$ -стерилизации (доза облучения 1 кГр)

Установлено, что около 55% пор ТМ из ПЭТФ после облучения  $\gamma$ -лучами имела площадь входного отверстия  $0,1 \text{ мкм}^2$  (рис. 3.21). Количество пор с площадью входного отверстия более  $0,3 \text{ мкм}^2$  составило  $\sim 29\%$ , что на 10% больше пор с данным диаметром исходных ТМ из ПЭТФ. Вероятно, подобное распределение связано с появлением дефектов поверхности мембран после  $\gamma$ -стерилизации.

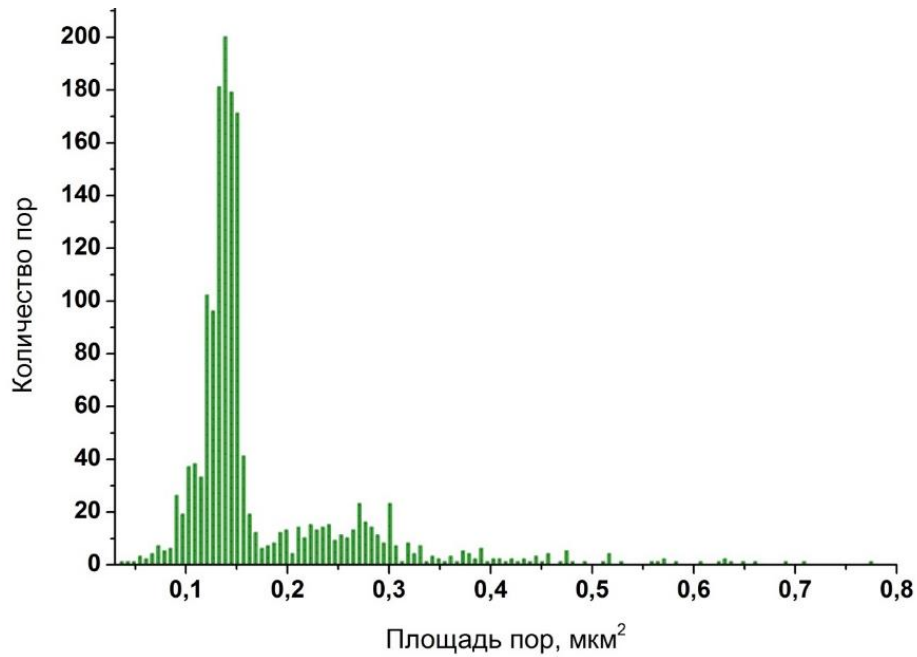


Рисунок 3.21 – Распределение пор ТМ из ПЭТФ после  $\gamma$ -стерилизации (доза 1 кГр) по площади сечения

Анализ шероховатости показал, что  $\gamma$ -стерилизация увеличила среднеарифметическую шероховатость  $R_a$  ТМ из ПЭТФ в 1,6 раза, среднеквадратичную шероховатость  $R_q$  – в 1,4 раза по сравнению с исходными мембранами (рис. 3.22). Однако,  $\gamma$ -воздействие не влияло на максимальную высоту шероховатости  $R_t$  и среднюю максимальную высоту профиля  $R_z$  ТМ из ПЭТФ, значение которых составило 3,27 мкм и 0,84 мкм соответственно. Стерилизация  $\gamma$ -облучением не способствовало существенным изменениям среднеарифметической шероховатости  $R_a$ , среднеквадратичной шероховатости  $R_q$ , модифицированных в плазме мембран, однако снизило  $R_t$  и  $R_z$  в 3,1 раза и в 5,8 раз соответственно. Причем, сохраняется линейная зависимость параметров шероховатости ( $R_a, R_q, R_t, R_z$ ) стерилизованных  $\gamma$ -лучами ТМ из ПЭТФ от времени воздействия плазмы (рис. 3.22).

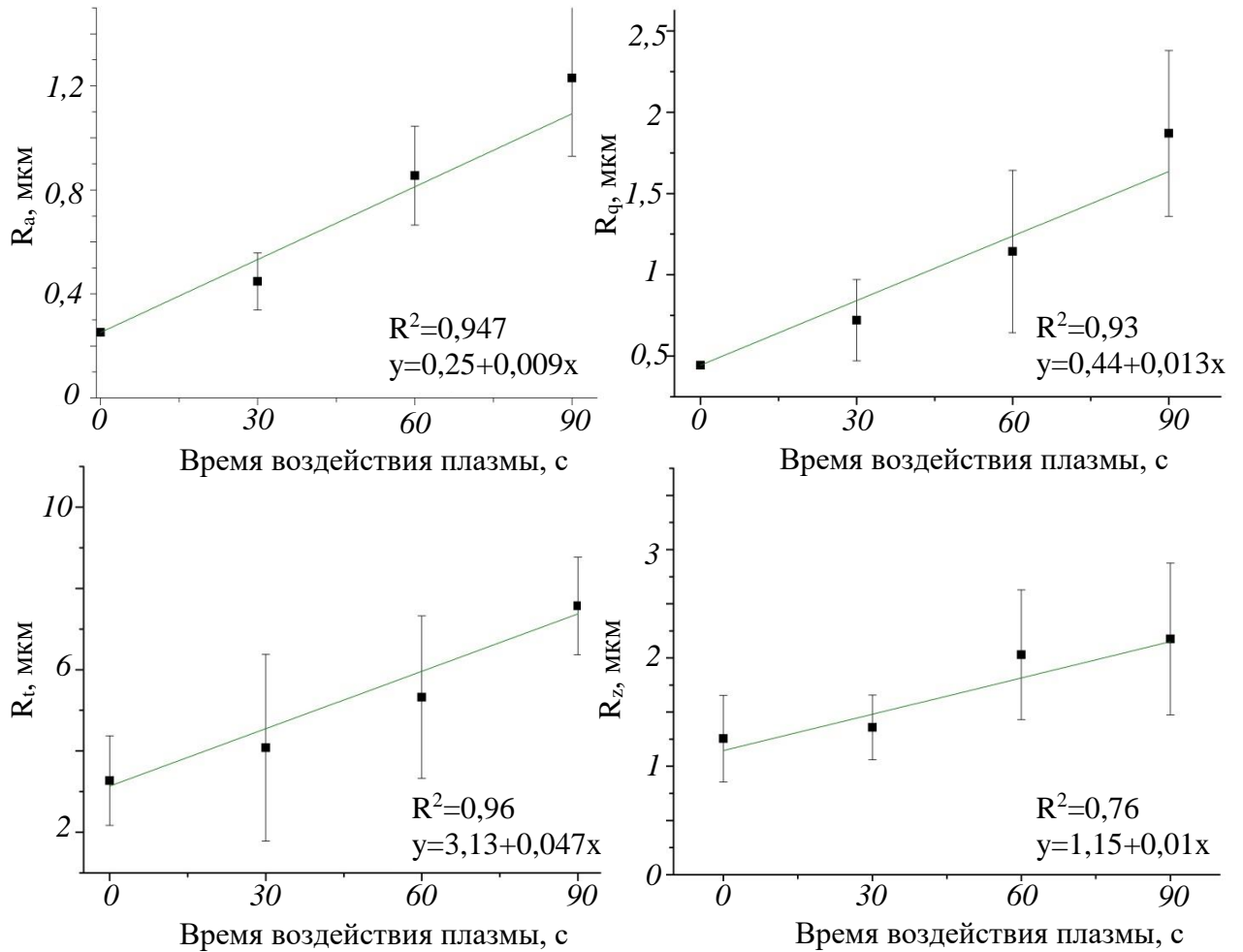


Рисунок 3.22 – Зависимость параметров шероховатости ( $R_a$ ,  $R_q$ ,  $R_t$ ,  $R_z$ ) стерилизованных  $\gamma$ -лучами ТМ из ПЭТФ от времени воздействия плазмы

Измерение смачиваемости ТМ из ПЭТФ после  $\gamma$ -стерилизации показало среднее значение краевого угла  $\theta_w^\circ$   $70,5 \pm 1,8^\circ$ , что статистически не отличалось от угла исходных мембран. Динамика измерения  $\theta_w^\circ$  в течение 21 суток показала относительную стабильность значений данного показателя.

Стерилизация  $\gamma$ -излучением радионуклида  $^{60}\text{Co}$  ТМ из ПЭТФ увеличило свободную энергию поверхности мембран от  $29,95 \text{ мДж/м}^2$  до  $43,7 \text{ мДж/м}^2$  при дозе облучения  $1 \text{ кГр}$  и  $37 \text{ мДж/м}^2$  при дозе облучения  $15 \text{ кГр}$ , что соответствует увеличению на  $31,5\%$  и  $19,1\%$  соответственно. Динамика измерений поверхностной энергии в течение 21 суток показала относительную стабильность значений данного показателя.

Среднее значение краевого угла смачивания ( $\theta_w^\circ$ ) модифицированных в плазме ТМ из ПЭТФ после  $\gamma$ -стерилизации составило  $37,3^\circ \pm 1,7^\circ$  при дозе облучения 1 кГр и  $40,1^\circ \pm 1,3^\circ$  при дозе облучения 15 кГр (рис. 3.23), что на 22%–28% больше значений угла модифицированных мембран без стерилизации ( $p > 0,05$ ).

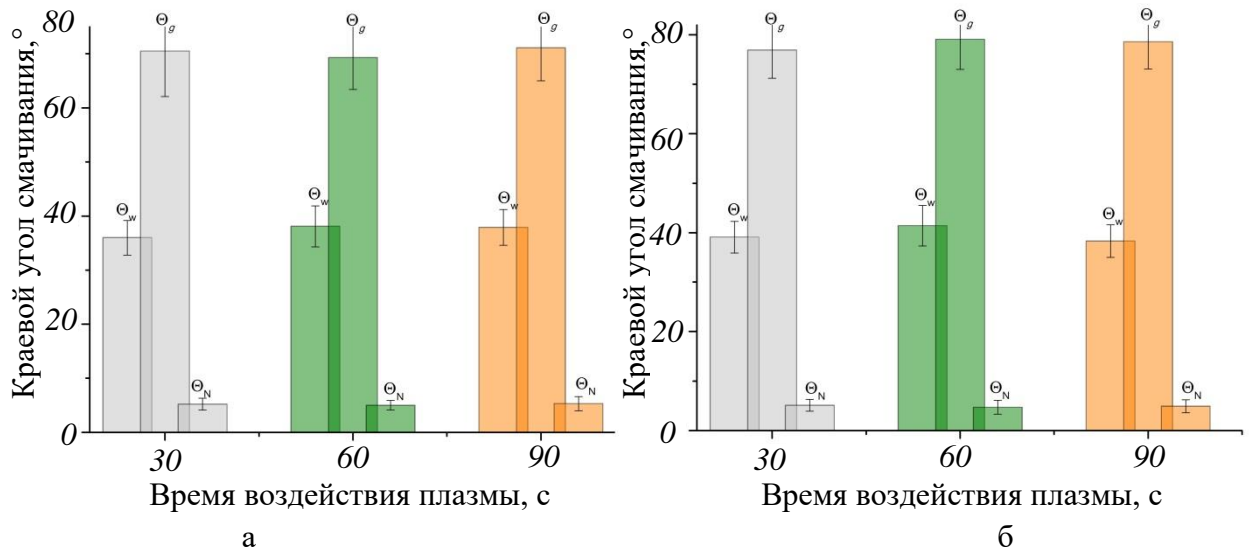


Рисунок 3.23 – Значения краевых углов ( $\theta_w^\circ$ ,  $\theta_g^\circ$ ,  $\theta_N^\circ$ ) смачивания модифицированных в плазме ТМ из ПЭТФ после  $\gamma$ -стерилизации: а – при дозе 1 кГр; б – при дозе 15 кГр

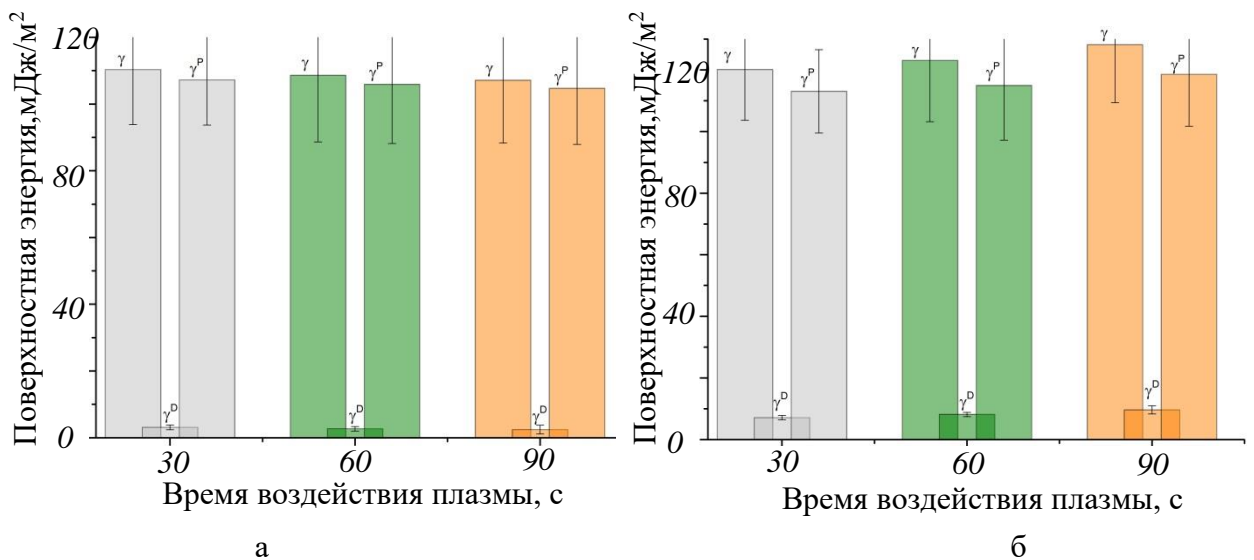


Рисунок 3.24 – Значения поверхностной энергии ( $\gamma$ ,  $\gamma^D$ ,  $\gamma^P$ ) модифицированных в плазме ТМ из ПЭТФ после  $\gamma$ -стерилизации: а – при дозе 1 кГр; б – при дозе 15 кГр

Среднее значение СЭП модифицированных в плазме образцов  $\gamma$ -облучения в дозе 1 кГр составило 108,3 мДж/м<sup>2</sup> (рис. 3.24), что в 1,25 раза меньше значений энергии модифицированных мембран без стерилизации ( $p > 0,05$ ). Соотношение  $\gamma^P$ :  $\gamma^D$  составило как 1:35. Хранение модифицированных в плазме образцов после  $\gamma$ -облучения в течение 21 дня не способствовало существенным изменениям значений СЭП.

Анализ ИК-спектров обработанных в плазме мембран после стерилизации показал уменьшение интенсивности полос поглощения при 1712 см<sup>-1</sup> (валентные колебания (C=C) и (C=O) групп [377]), 1241 см<sup>-1</sup> (колебания неполярных (C=C, C=O) функциональных групп [405]), 1340 см<sup>-1</sup> (колебания метиленовых (=CH<sub>2</sub>) групп [405]), 1093 см<sup>-1</sup> (колебания неполярных (C=C, C=O) функциональных групп [405]) (рис. 3.25, 3.26), что являлось свидетельством деструктивного действия  $\gamma$ -лучей на полимерные цепи с их разрывом и последующей сшивкой с образованием новых связей. Полученные данные коррелируют с данными по смачиваемости (стерилизация модифицированных образцов привела к увеличению краевого угла смачивания). Согласно литературным данным, воздействие ультрафиолетового (УФ) излучения эксимерной лампы при  $\lambda = 172$  нм на пленки ПЭТФ [396] аналогичны наблюдаемому действию  $\gamma$ -излучения. Однако, в отличие от УФ-воздействия, облучение радионуклеидом <sup>60</sup>Со оказывает более существенное влияние на параметры шероховатости поверхности модифицированных в плазме мембран из ПЭТФ: увеличивает среднеарифметическую шероховатость  $R_a$  ТМ из ПЭТФ в 1,6 раза, среднеквадратичную шероховатость  $R_q$  – в 1,4 раза по сравнению с исходными мембранами.

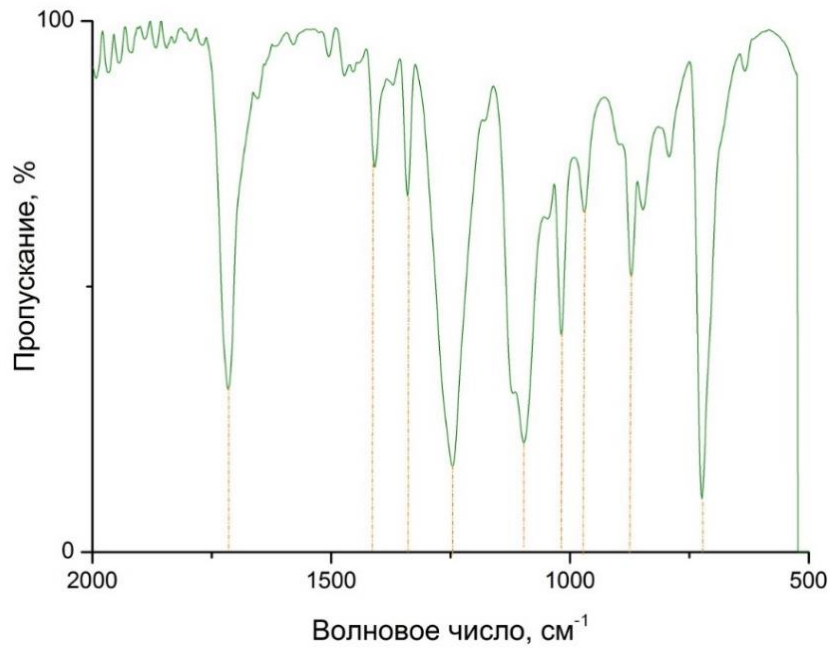


Рисунок 3.25 – ИК–спектр пропускания ТМ из ПЭТФ после  $\gamma$ -стерилизации (доза облучения – 1 кГр)

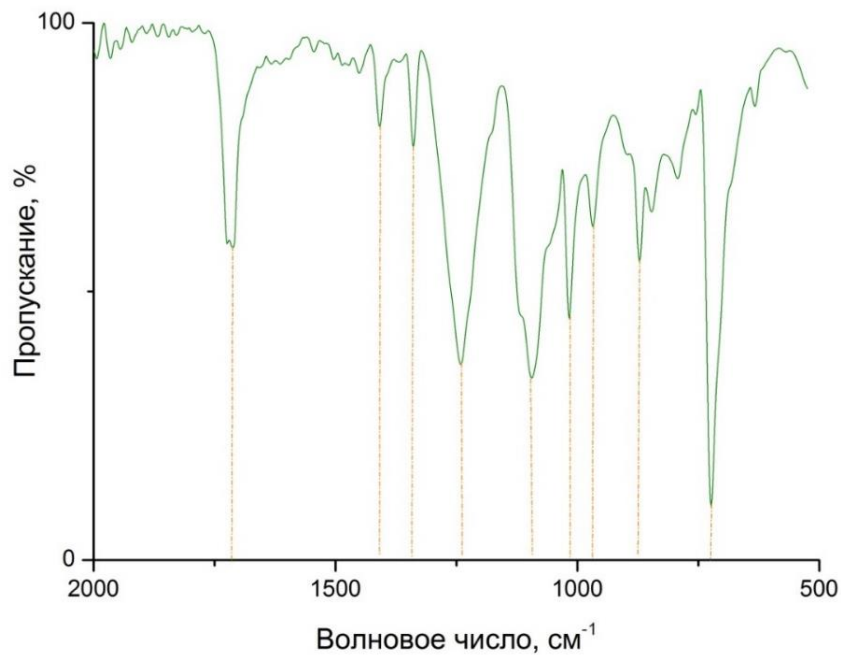


Рисунок 3.26 – ИК–спектр пропускания модифицированных в плазме (30с) ТМ из ПЭТФ после  $\gamma$ -стерилизации (доза облучения – 1 кГр)

В результате  $\gamma$ -воздействия стерилизационными дозами на ПЭТФ, как показывают данные работы [396], происходит разрыв и сшивка молекулярных связей ПЭТФ (рис. 3.27) [397].



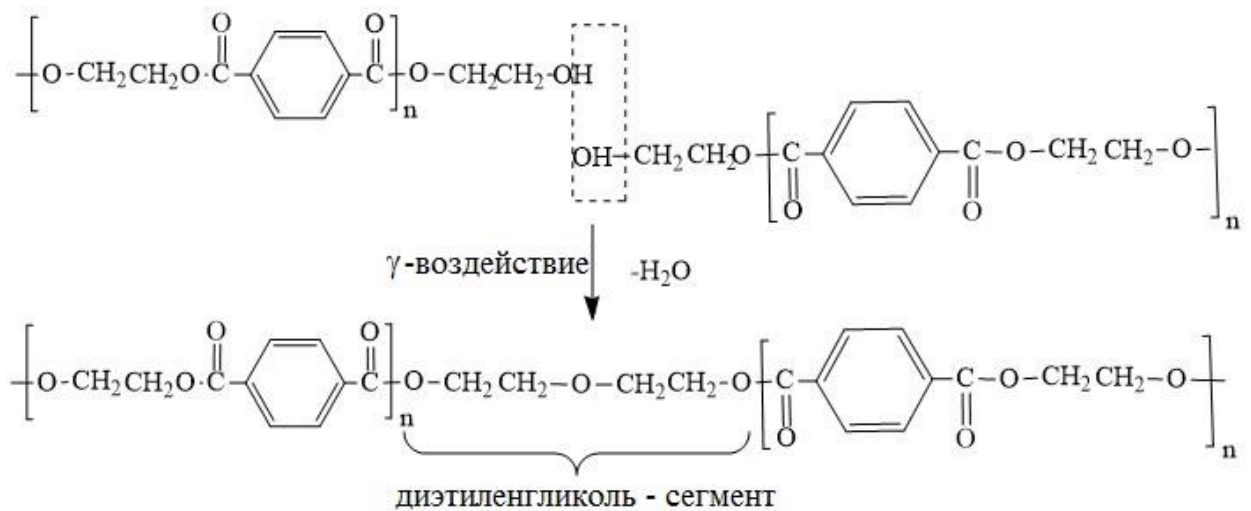


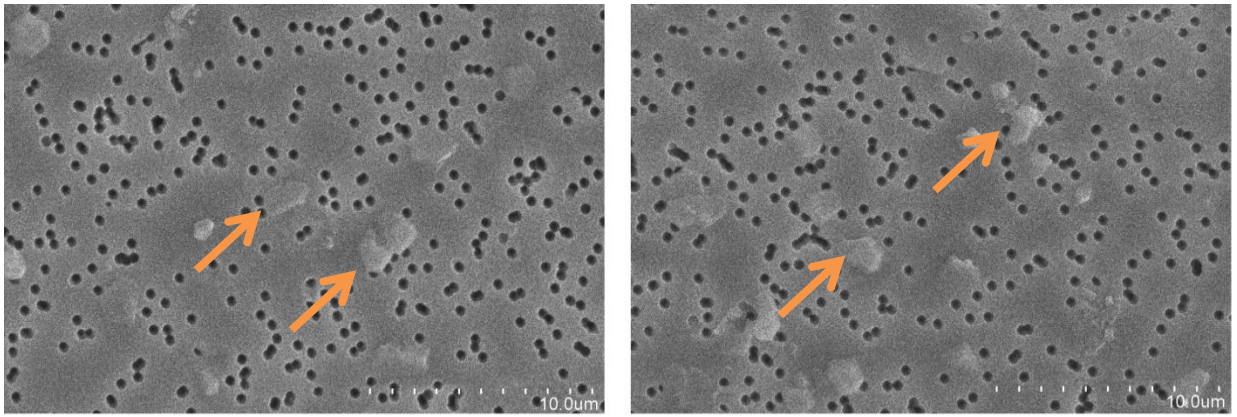
Рисунок 3.27 – Механизм сшивки полимерной цепи ПЭТФ в результате  $\gamma$ -воздействия

[397]

### 3.4 Влияние паровой стерилизации на свойства кератоимплантата из полиэтилентерефталата

Стерилизация паром под давлением (автоклавирование) медицинских изделий широко распространена в лечебно-профилактических учреждениях из-за простоты методики, эффективности и дешевизне. Для того, чтобы рекомендовать изделия для данного метода стерилизации необходимо точно знать его возможное влияние на структуру и свойства материала.

Согласно микроскопическому исследованию, паровая стерилизация способствовала появлению неравномерно распределенных по всей поверхности ТМ из ПЭТФ образований овальной формы различных размеров (рис. 3.28). Подобные поверхностные изменения после процедуры стерилизации наблюдались у исходных мембран и у модифицированных в плазме ТМ из ПЭТФ (рис. 3.28).

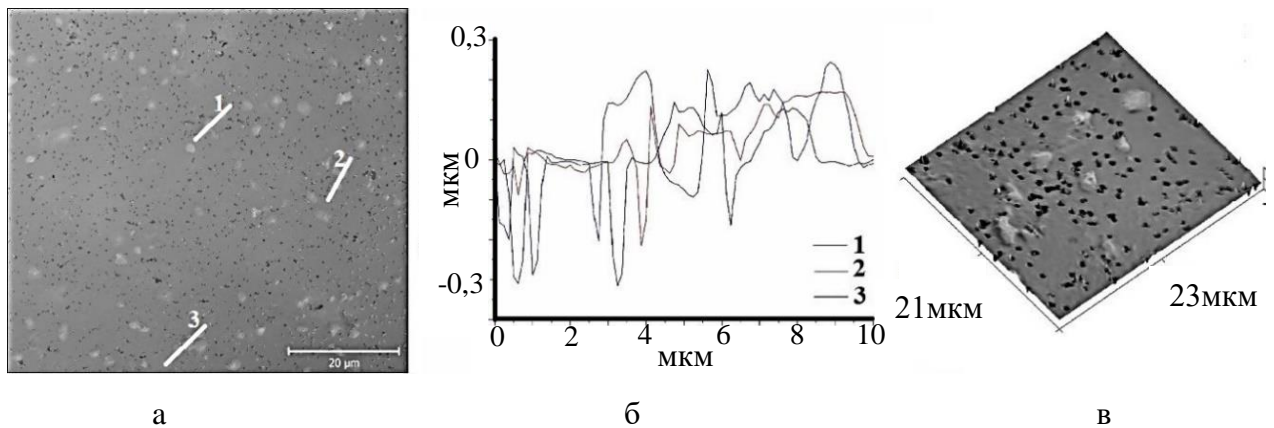


а

б

Рисунок 3.28 – Электронно-микроскопическое изображение исходной (а) и модифицированной в плазме (б) ТМ из ПЭТФ после паровой стерилизации ( $T = 120^{\circ}\text{C}$ ,  $P = 0,11 \text{ МПа}$ ). Стрелки указывают на образования поверхности мембран

Образования на ТМ из ПЭТФ, согласно исследованию профилей поверхностей, куполообразной формы высотой  $0,4 \pm 0,27 \text{ мкм}$ , средним диаметром  $1,5\text{--}3 \text{ мкм}$  (рис. 3.29, 3.30).



а

б

в

Рисунок 3.29 – Двухмерное изображение (а), профиль поверхности (б) и трехмерное изображение (в) поверхностей ТМ из ПЭТФ после паровой стерилизации при  $120^{\circ}\text{C}$ ; кривые 1 – 3 показывают профиль куполообразных образований мембраны

Плотность образований поверхности мембран из ПЭТФ после автоклавирования составляет  $0,007 \text{ выступов/мкм}^2$ .

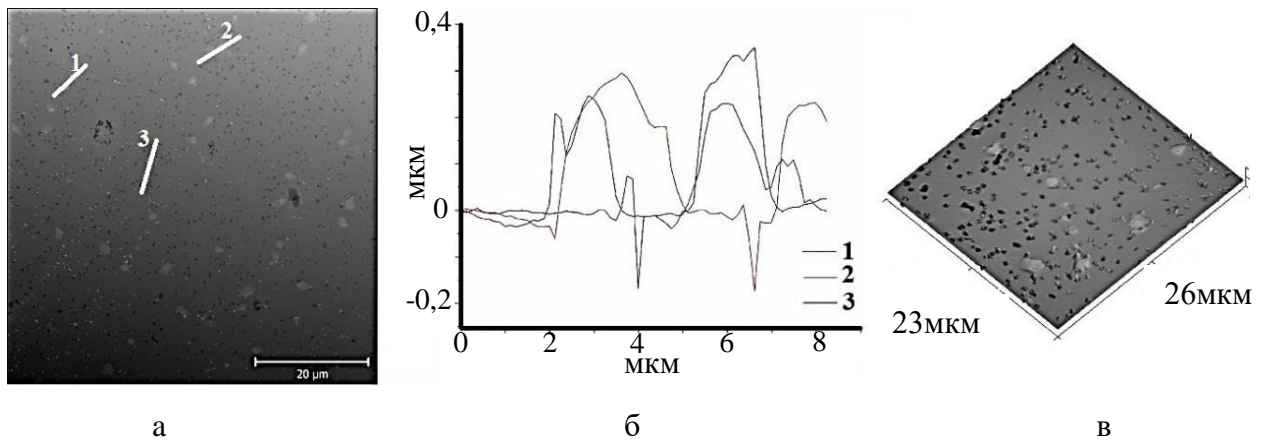


Рисунок 3.30 – Двухмерное изображение (а), профиль поверхности (б) и трехмерное изображение (в) поверхностей ТМ из ПЭТФ после паровой стерилизации при 130°C; кривые 1 – 3 показывают профиль куполообразных образований мембраны

Отмечено, что подобные изменения поверхности материала были получены как у исходной ТМ из ПЭТФ, так и у модифицированной в плазме мембраны (рис. 3.31).

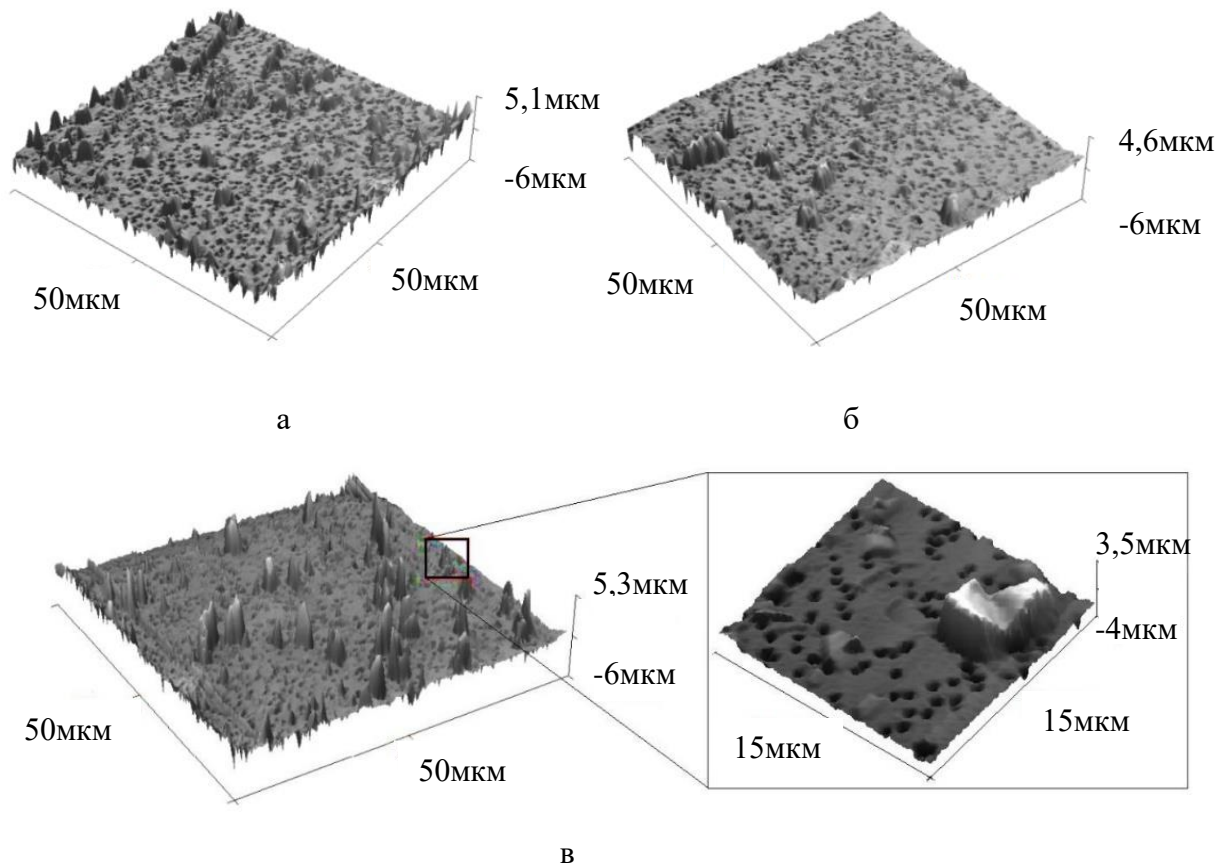


Рисунок 3.31 – Трехмерные изображения поверхностей модифицированных в плазме ТМ из ПЭТФ после паровой стерилизации при времени обработки плазмой 30с (а), 60с (б), 90с (в) и температуре стерилизации 120°C

Средний размер пор ТМ из ПЭТФ после паровой стерилизации составил 0,5 мкм, что статистически не отличалось от значений исходных мембран (рис. 3.32).

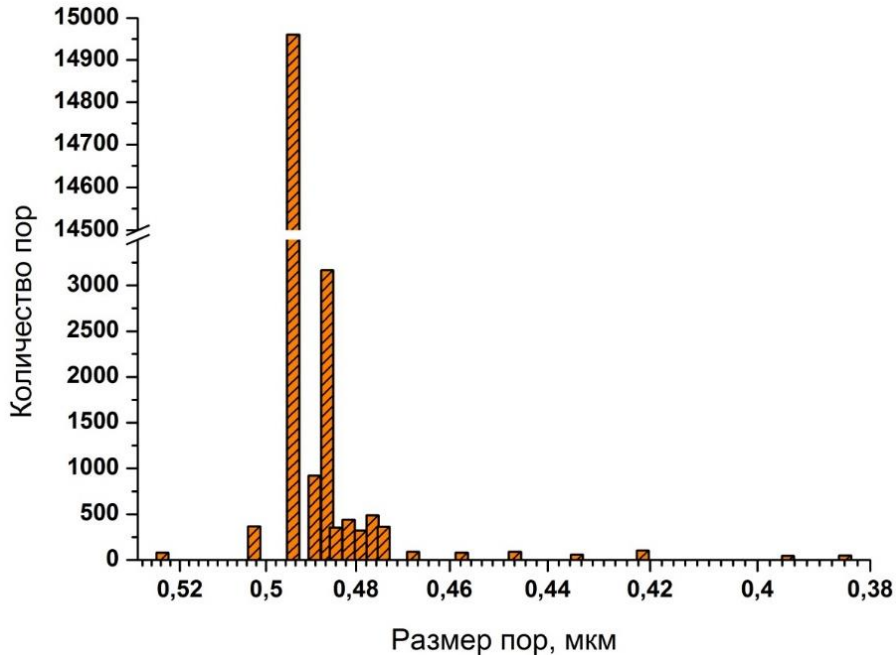


Рисунок 3.32 – Распределение размеров пор ТМ из ПЭТФ после паровой стерилизации ( $T = 120^{\circ}\text{C}$ )

Установлено, что количество пор мембран после паровой стерилизации с площадью входного отверстия  $0,09 - 0,1 \text{ мкм}^2$  составляло 66% (рис. 3.33), с площадью более  $0,3 \text{ мкм}^2 - 1,5\%$ , что на 7,5% меньше пор с данным диаметром исходных ТМ из ПЭТФ.

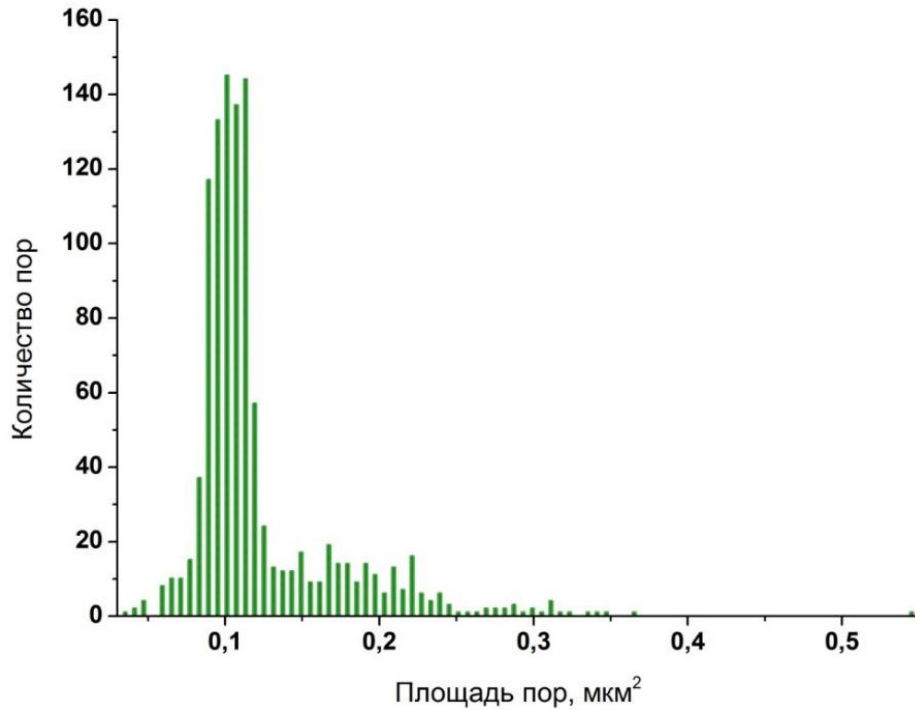


Рисунок 3.33 – Распределение пор ТМ из ПЭТФ после паровой стерилизации ( $T = 120^{\circ}\text{C}$ ) по площади сечения

Средняя площадь сечения пор мембран после различных воздействий (плазмы и пара) составляла  $(0,1 - 0,15)$  мкм<sup>2</sup>.

Анализ шероховатости показал, что паровая стерилизация увеличила среднеарифметическую шероховатость  $R_a$  исходных ТМ из ПЭТФ в 3,5 раз, среднеквадратичную шероховатость  $R_q$  – в 2,8 раз, среднюю максимальную высоту профиля  $R_z$  – в 2,6 раз. Стерилизация паром под давлением не способствовало существенным изменениям среднеарифметической шероховатости  $R_a$ , среднеквадратичной шероховатости  $R_q$  модифицированных в плазме мембран, однако снизило  $R_t$  и  $R_z$  в 3,1 раза и в 2 раза и в 2,68 раз соответственно (рис. 3.34).

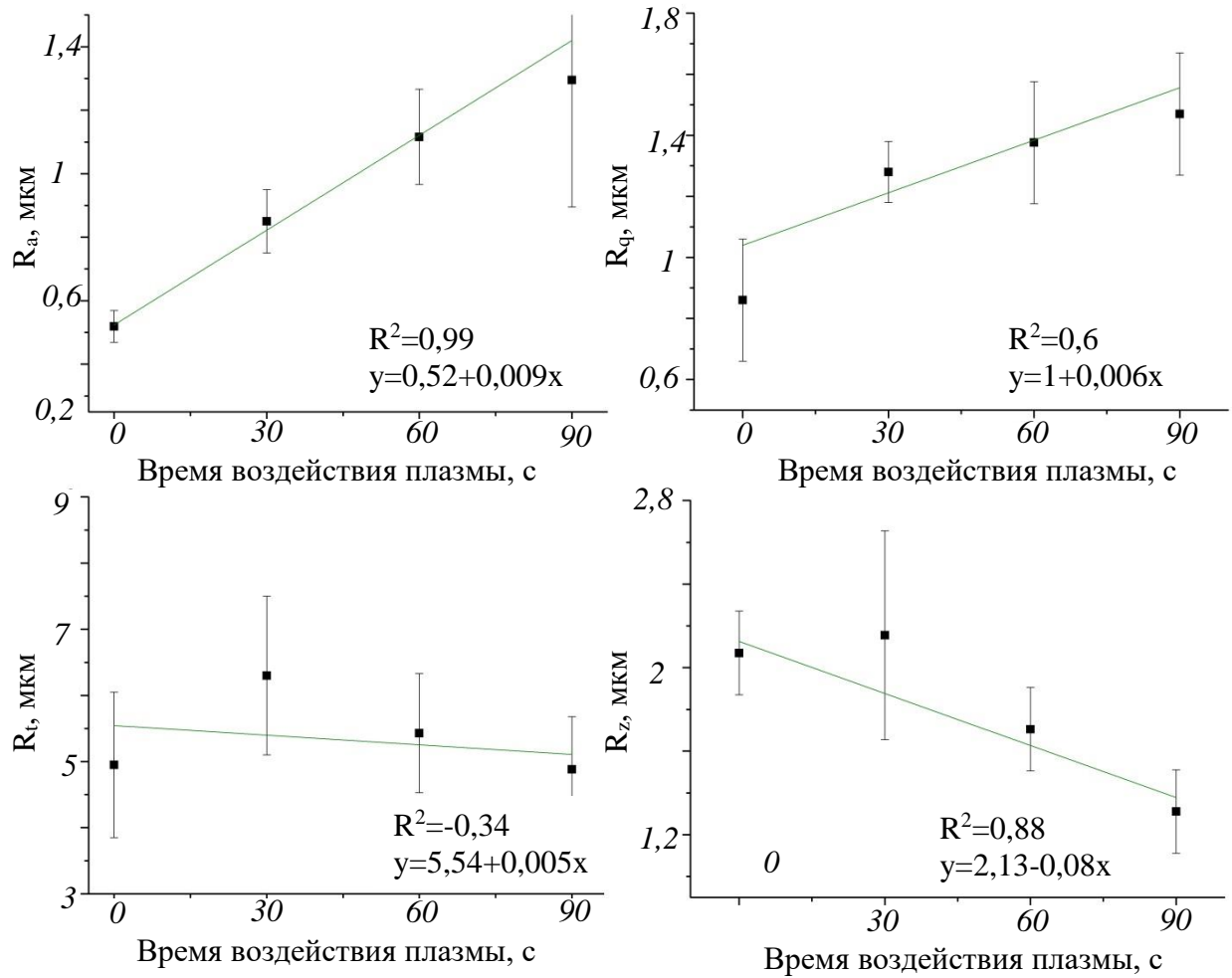


Рисунок 3.34 – Зависимость параметров шероховатости ( $R_a$ ,  $R_q$ ,  $R_t$ ,  $R_z$ ) стерилизованных паром под давлением ТМ из ПЭТФ от воздействия плазмы

Причем, сохраняется линейная зависимость параметров шероховатости ( $R_a$ ,  $R_q$ ,  $R_t$ ,  $R_z$ ) стерилизованных ТМ из ПЭТФ от времени воздействия плазмы (рис. 3.34). Необходимо отметить зависимость уменьшения  $R_z$  модифицированных в плазме ТМ из ПЭТФ после паровой стерилизации от времени плазменного воздействия (рис. 3.34). Согласно корреляционно-регрессионному анализу, экспозиция мембран плазмой с последующей стерилизацией не влияет на значения средней максимальной высоты профиля  $R_z$ .

Измерение смачиваемости ТМ из ПЭТФ после паровой стерилизации показало среднее значение краевого угла  $\theta_w^\circ 81,4 \pm 4,8$  при температуре стерилизации  $120^\circ\text{C}$  и  $\theta_w^\circ 91 \pm 6,4$  при температуре стерилизации  $130^\circ\text{C}$ , что



соответствует уменьшению на 8,2% и 18,7% соответственно исходных мембран. Динамика измерения  $\theta_w^\circ$  в течение 21 суток показала относительную стабильность значений данного показателя.

Воздействие на модифицированные в плазме ТМ из ПЭТФ горячего пара под давлением снизило гидрофильность поверхности и увеличило краевой угол смачивания на  $39,6^\circ$ – $48,4^\circ$  (52,7% – 54,5%), среднее значение  $\theta_w^\circ$  которого составило  $69,8^\circ$  и  $72,6^\circ$  при температуре стерилизации  $120^\circ\text{C}$  и  $130^\circ\text{C}$  соответственно (рис. 3.35). Динамика измерения краевого угла смачивания от времени хранения при комнатной температуре показала относительную стабильность полученных значений.

Стерилизация паром под давлением ТМ из ПЭТФ уменьшило свободную энергию поверхности мембран от  $29,95 \text{ мДж/м}^2$  до  $27,5 \text{ мДж/м}^2$  при температуре стерилизации  $120^\circ\text{C}$  и  $24,4 \text{ мДж/м}^2$  при температуре стерилизации  $130^\circ\text{C}$ , что соответствует уменьшению на 8,2% и 18,7% соответственно (рис. 3.36). Динамика измерений поверхностной энергии в течение 21 суток показала относительную стабильность значений данного показателя.

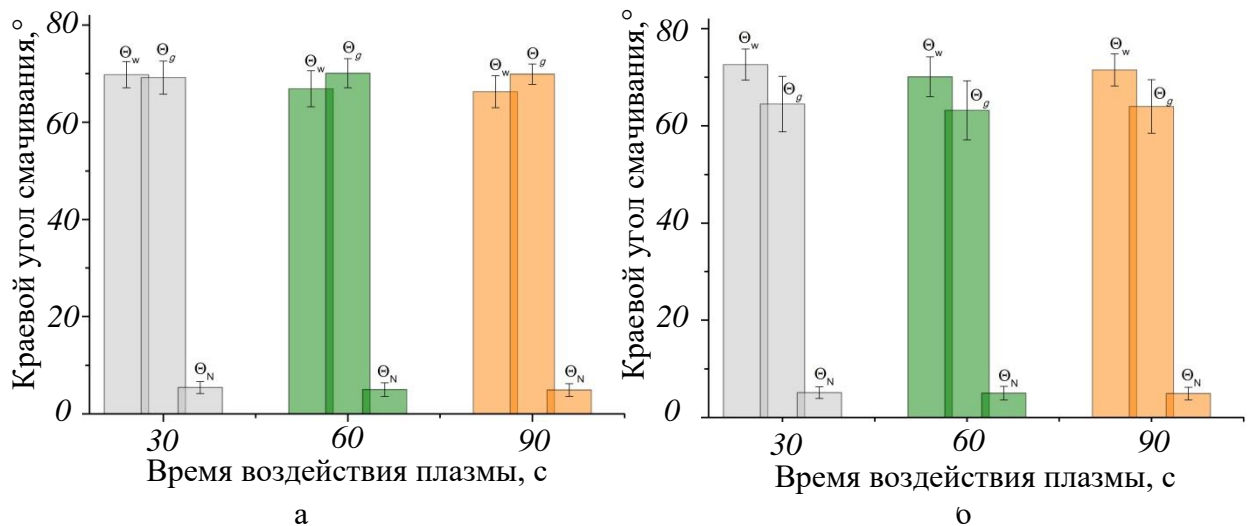


Рисунок 3.35 – Значения краевых углов ( $\theta_w^\circ$ ,  $\theta_g^\circ$ ,  $\theta_N^\circ$ ) смачивания модифицированных в плазме ТМ из ПЭТФ после паровой стерилизации: а – при температуре стерилизации  $120^\circ\text{C}$ ; б – при температуре стерилизации  $130^\circ\text{C}$

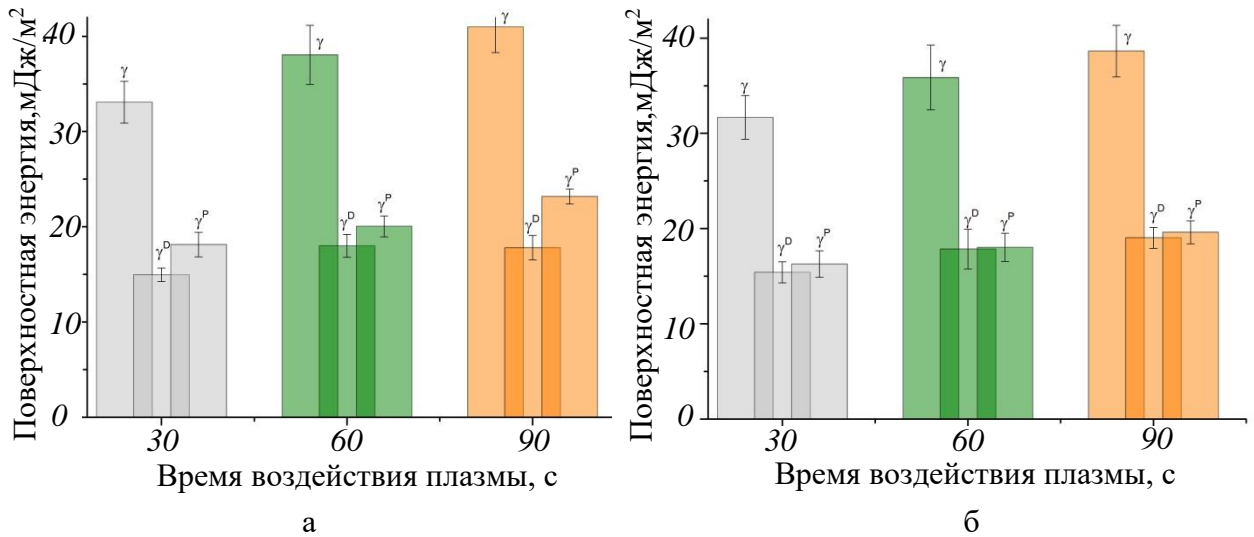


Рисунок 3.36 – Значения поверхностной энергии ( $\gamma$ ,  $\gamma^D$ ,  $\gamma^P$ ) модифицированных в плазме ТМ из ПЭТФ после паровой стерилизации: а – при температуре стерилизации 120°C; б – при температуре стерилизации 130°C

Среднее значение полной энергии поверхности модифицированных в плазме ТМ из ПЭТФ после паровой стерилизации составило 33,1 мДж/м<sup>2</sup> при температуре стерилизации 120°C и 31,7 мДж/м<sup>2</sup> при температуре стерилизации 130°C, что в 3,9–4,2 раза меньше энергии модифицированных мембран без стерилизации ( $p > 0,05$ ). Следует отметить, что соотношение  $\gamma^P$ :  $\gamma^D$  модифицированных в плазме ТМ из ПЭТФ после стерилизации составило как 1:1. Хранение модифицированных в плазме образцов после автоклавирования в течение 21 дня существенно не изменило значения СЭП.

Анализ ИК-спектров ТМ из ПЭТФ после автоклавирования показал незначительное уменьшение интенсивности полосы поглощения при 1716 см<sup>-1</sup> (рис. 3.37), свидетельствующее о снижении полярных функциональных групп и смачиваемости поверхности.



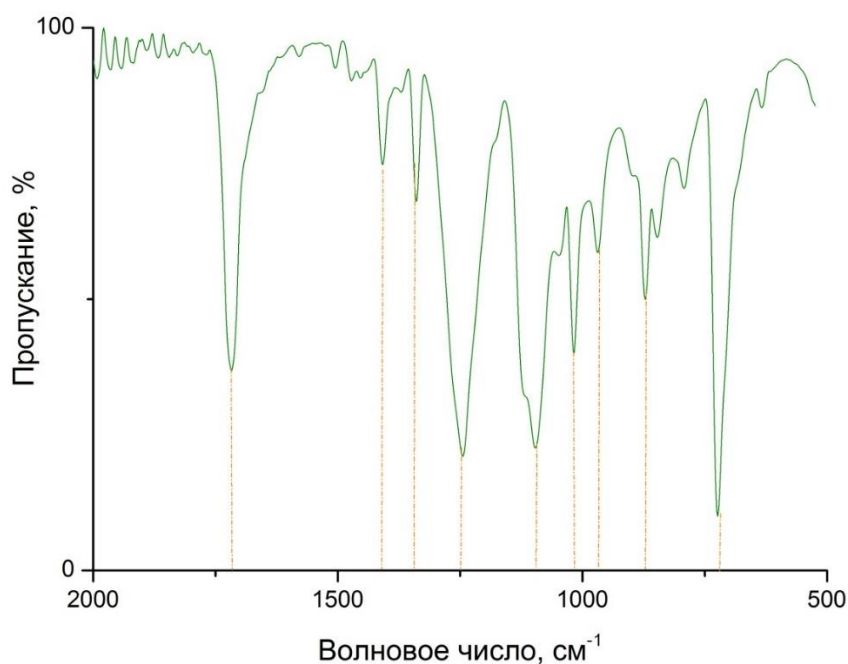


Рисунок 3.37 – ИК–спектр пропускания ТМ из ПЭТФ после паровой стерилизации при температуре 120°C

Таким образом, стерилизация паром под давлением оказывает заметное влияние на ТМ из ПЭТФ в виде появления образований овальной формы различных размеров, увеличении шероховатости и роста гидрофобности. Согласно данным литературы подобные полученные изменения связаны с деградацией поверхности материала, а также с увеличением на ней циклических тримеров [398], что выражается в физико-химических изменениях (изменения шероховатости, снижение гидрофильности поверхности) полимера [398, 399]. Кроме того, комбинированная обработка ТМ из ПЭТФ плазмой и паром под давлением имеет более выраженное для тонких мембран воздействие, выраженное в увеличении овальной формы артефактов и значительном изменении шероховатости поверхности.

### **3.5 Результаты проницаемости кератоимплантата из полиэтилентерефталата**

Одной из определяющих функциональность мембраны является ее проницаемость, которая зависит от множества факторов: давления,

концентрации растворенных веществ, а также особенности проницаемости различных растворов [400, 401]. Известно, что при увеличении давления происходит линейный рост проницаемости, что особенно выражено у  $H_2O$  [402]. Согласно полученным данным по исследованию проницаемости трековых мембран из ПЭТФ, проницаемость увеличивается у образцом после плазменной обработки поверхности более, чем в 2,5 раза, что связано с гидрофильности поверхности материала вследствие плазменной модификации (рис. 3.38).

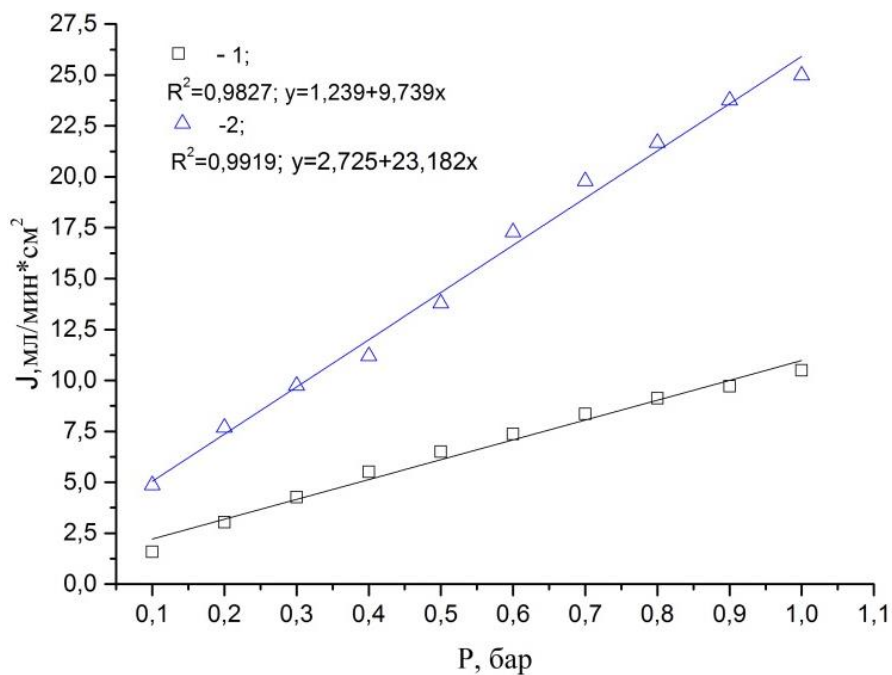


Рисунок 3.38 – Проницаемость ТМ из ПЭТФ по воде: 1 – исходная мембрана; 2 – после плазменной обработки (время обработки 30с)

Исследование проницаемости ТМ из ПЭТФ после  $\gamma$ -стерилизации показало увеличение данного показателя на 51% (доза облучения 1 кГр) и 58,3% (доза облучения 15 кГр) по сравнению с исходной (рис. 3.39). Увеличение проницаемости мембран после  $\gamma$ -облучения свидетельствует об увеличении количества пор более крупного диаметра входного отверстия (что согласуется с данными порометрии).

Исследование проницаемости по воде ТМ из ПЭТФ после автоклавирования показало (рис. 3.40) увеличение данного показателя на

40% (120°C) и 52,7% (130°C) по сравнению со значениями исходных мембран.

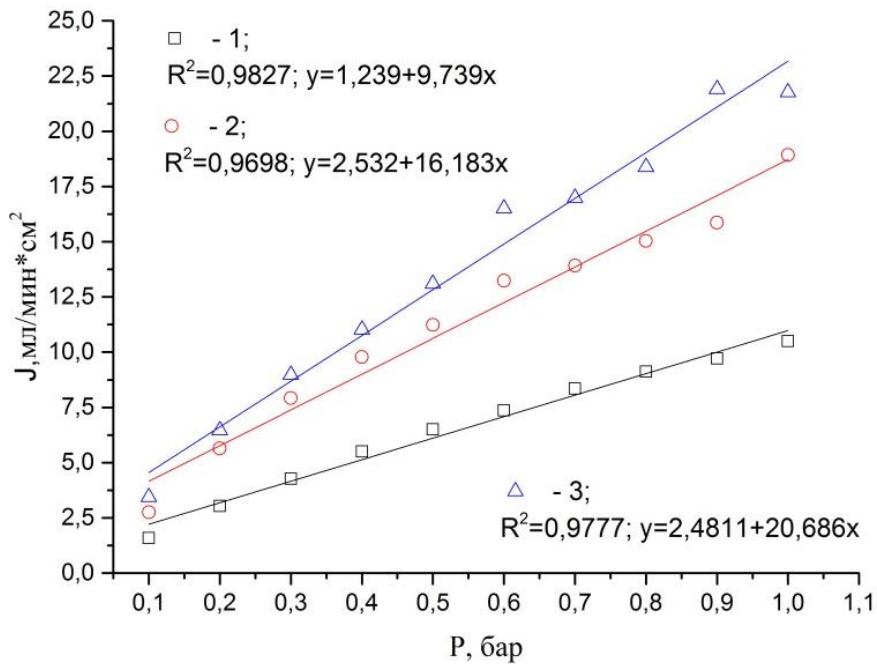


Рисунок 3.39 – Проницаемость ТМ из ПЭТФ по воде: 1 – исходный образец; 2 – образец после  $\gamma$ -стерилизации (доза облучения 1 кГр); 3 – образец после  $\gamma$ -стерилизации (доза облучения 15 кГр)

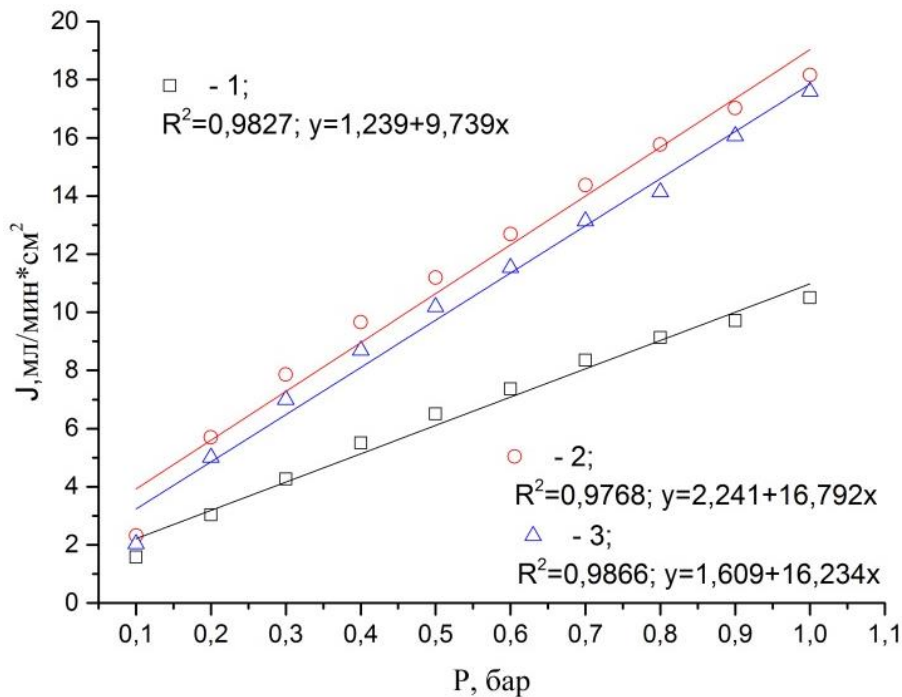


Рисунок 3.40 – Проницаемость ТМ из ПЭТФ по воде: 1 – исходный образец; 2 – образец после паровой стерилизации ( $T=120^\circ\text{C}$ ); 3 – образец после паровой стерилизации ( $T=130^\circ\text{C}$ )

### 3.6 Механические свойства кератоимплантата из полиэтилентерефталата

Исследование механических характеристик необходимо для определения рисков повреждения и разрывов мембраны в процессе их имплантации.

Значение модуля Юнга ТМ из ПЭТФ составило  $3836 \pm 184$  МПа. Модификация мембран плазмой уменьшило модуль на 6,8%–14% (рис. 3.41). Стерилизация  $\gamma$ -облучением снизило данный показатель на 11,3% исходных ТМ из ПЭТФ и на ~15,2% модифицированных в плазме мембран,  $p < 0,05$ . Стерилизация паром под давлением (рис. 3.42) имело аналогичный эффект воздействия на модуль Юнга ТМ из ПЭТФ, снизив значение показателя на 8,8% при температуре стерилизации 120°C и на 11,8% при температуре 130°C. Однако, статистически значимых различий модуля Юнга между модифицированных в плазме мембранами до и после паровой стерилизации выявлено не было,  $p > 0,05$ .

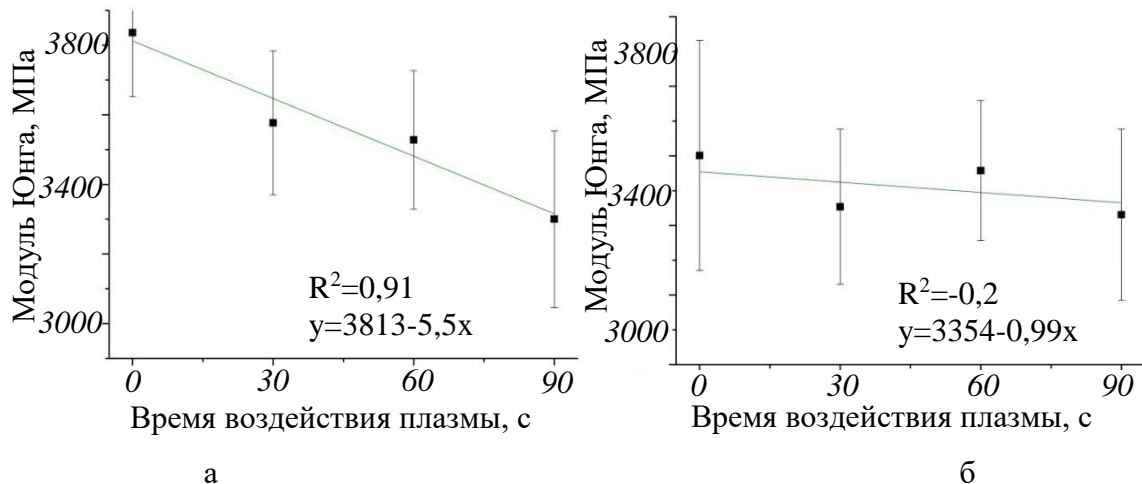


Рисунок 3.41 – Зависимость модуля Юнга от времени воздействия плазмы: а – модифицированные в плазме ТМ из ПЭТФ без стерилизации; б – модифицированные в плазме ТМ из ПЭТФ после  $\gamma$ -излучения (доза облучения 1 кГр)

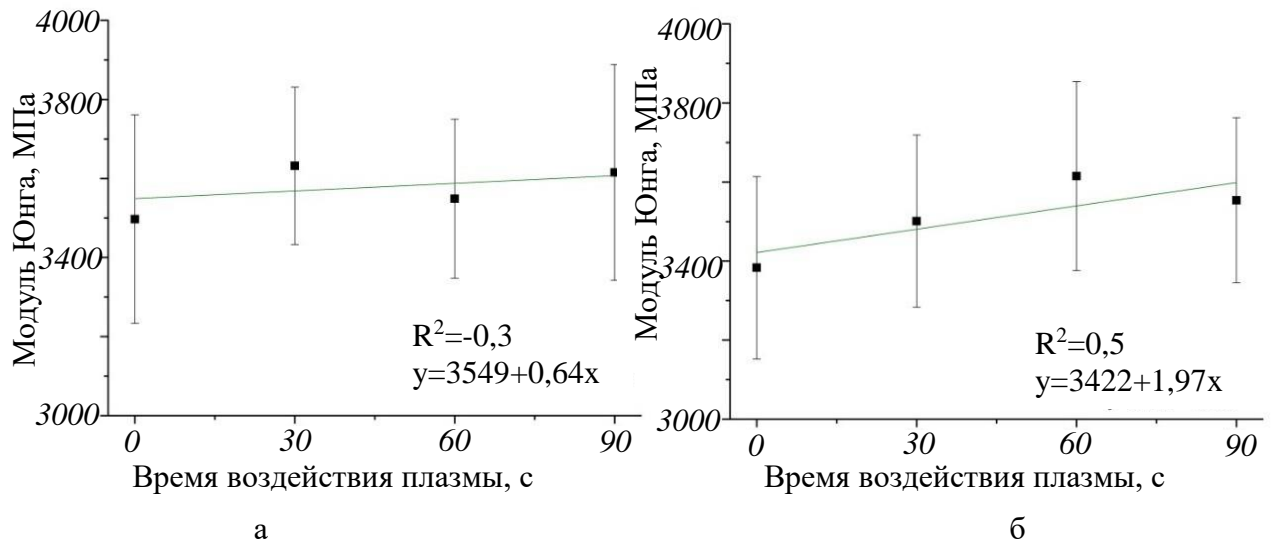


Рисунок 3.42 – Зависимость модуля Юнга ТМ из ПЭТФ после паровой стерилизации от времени воздействия плазмы: а – при температуре стерилизации 120°C; б – при температуре стерилизации 130°C

Анализ показателя напряжения при растяжении показал, что значение данного показателя ТМ из ПЭТФ составило  $70,8 \pm 17,1$  МПа. Модификация ТМ из ПЭТФ плазмой снизило напряжение при растяжении на 24,9%–30,8% (рис. 3.43). Значительно изменения в значении данного показателя внесла  $\gamma$ -стерилизация: напряжения при растяжении снизился на 45,2%–49,2% исходных ТМ из ПЭТФ и на 40,3% модифицированных в плазме мембран. Аналогично  $\gamma$ -облучению, паровая стерилизация (рис. 3.44) снизила напряжение при растяжении на 41%–45,9% исходных мембран. Однако, статистически значимых различий данного показателя между модифицированных в плазме ТМ из ПЭТФ до и после паровой стерилизации выявлено не было,  $p > 0,05$ .

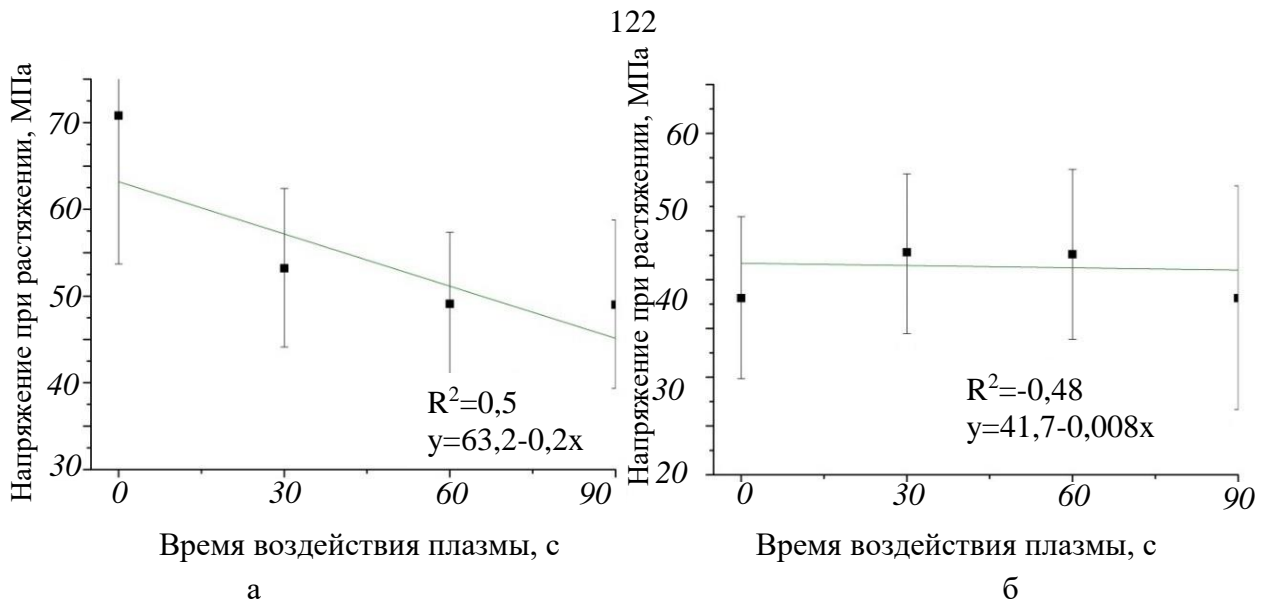


Рисунок 3.43 – Зависимость напряжения при растяжении от времени воздействия плазмы: а – модифицированные в плазме ТМ из ПЭТФ без стерилизации; б – модифицированные в плазме ТМ из ПЭТФ после  $\gamma$ -излучения (доза облучения 1 кГр)

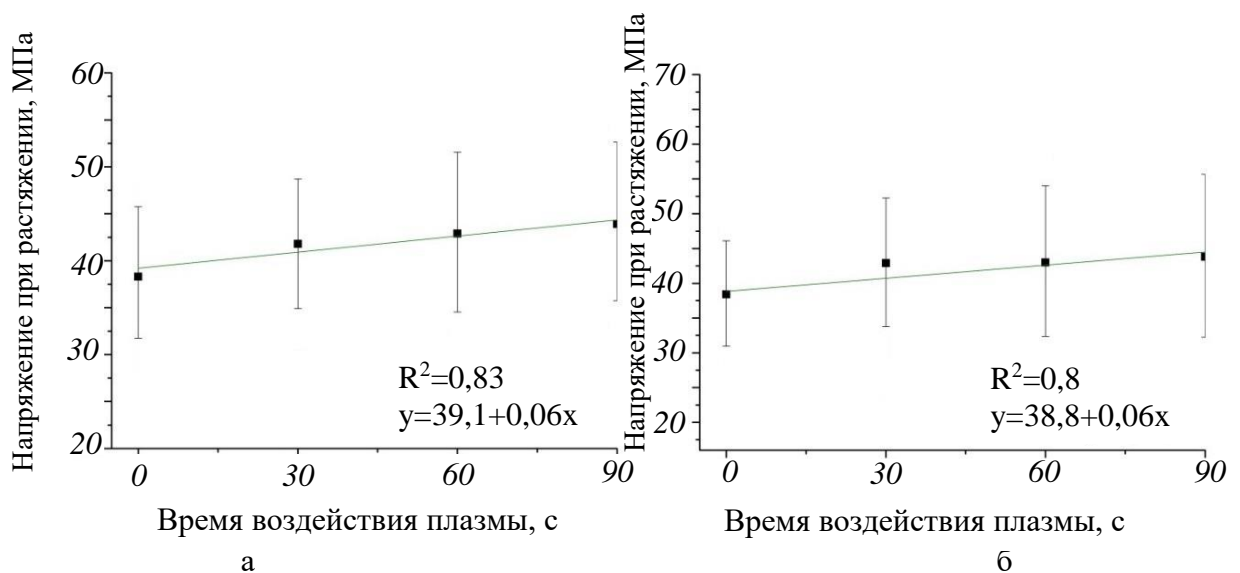


Рисунок 3.44 – Зависимость напряжения при растяжении ТМ из ПЭТФ после паровой стерилизации от времени воздействия плазмы: а – при температуре стерилизации 120°C; б – при температуре стерилизации 130°C

Значение исходных ТМ из ПЭТФ удлинения при растяжении составило  $10,2\pm 2,3\%$ . Плазменная обработка уменьшила значения данного показателя на 24%–53%. Причем, с увеличением времени модификации плазмой ТМ из ПЭТФ линейно снижается удлинение при растяжении мембран (рис. 3.45). Статистически значимых различий между исходными ТМ из ПЭТФ и мембранами после  $\gamma$ -облучения не выявлено,  $p>0,05$ . Удлинение при

растяжении ТМ из ПЭТФ после паровой стерилизации (рис. 3.46) составило  $5,5 \pm 1,3\%$  при температуре воздействия  $120^\circ\text{C}$  и  $5,9 \pm 1,9\%$  при температуре  $130^\circ\text{C}$ , что на 48,7% и 42,4% соответственно меньше исходного значения,  $p < 0,0005$ . Однако, статистически значимых различий данного показателя между модифицированными в плазме ТМ из ПЭТФ до и после паровой стерилизации выявлено не было,  $p > 0,05$ .

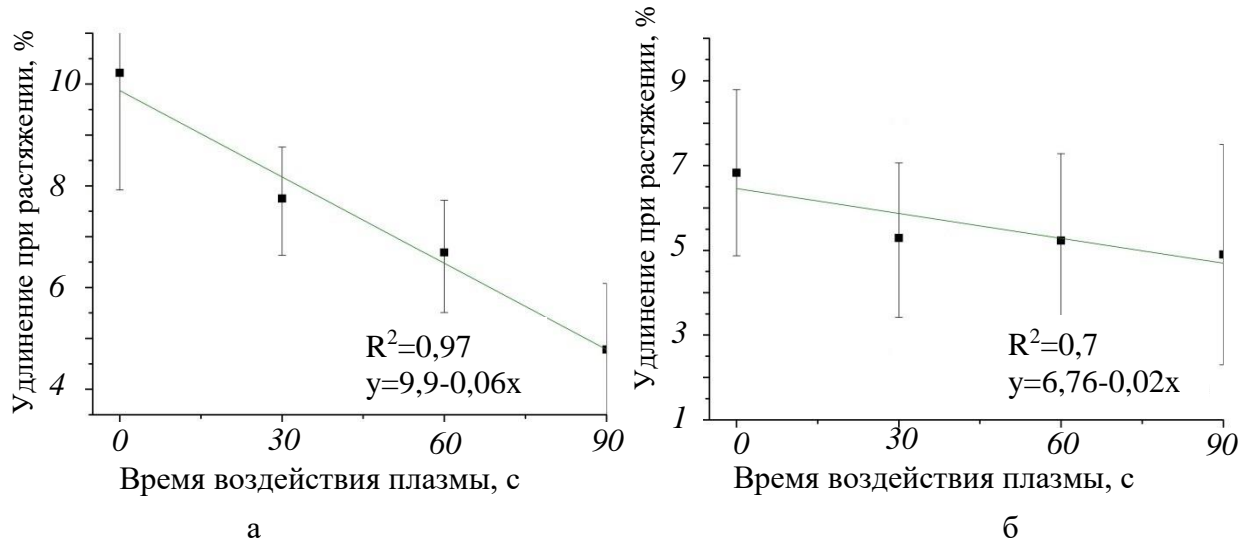


Рисунок 3.45 – Зависимость удлинения при растяжении от времени воздействия плазмы: а – модифицированные в плазме ТМ из ПЭТФ без стерилизации; б – модифицированные в плазме ТМ из ПЭТФ после  $\gamma$ -излучения (доза облучения 1 кГр)

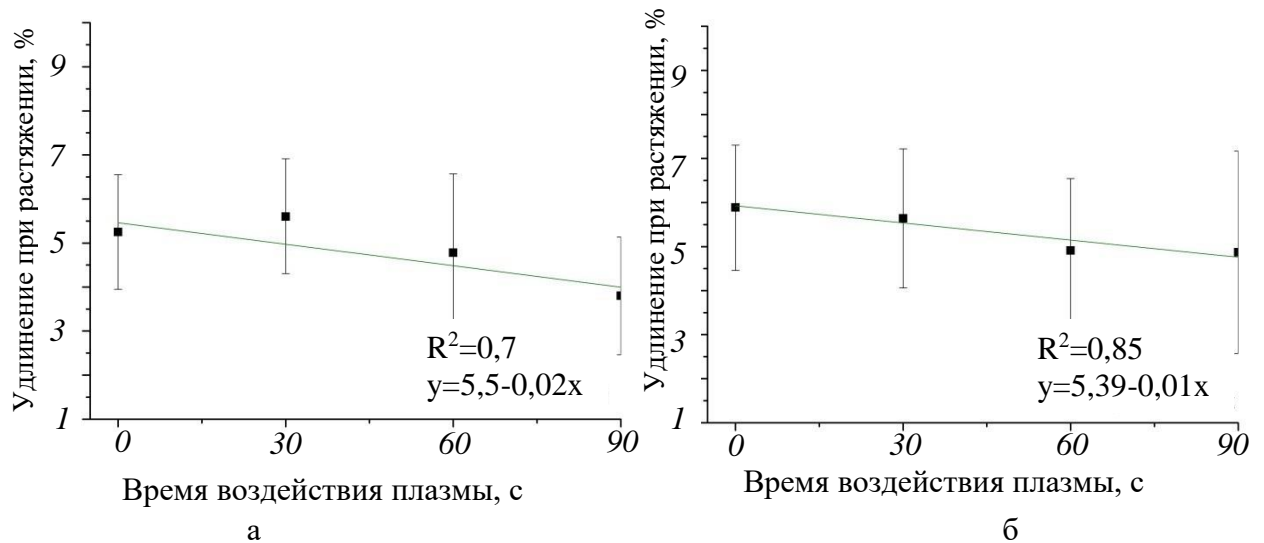


Рисунок 3.46 – Зависимость удлинения при растяжении ТМ из ПЭТФ после паровой стерилизации от времени воздействия плазмы: а – при температуре стерилизации  $120^\circ\text{C}$ ; б – при температуре стерилизации  $130^\circ\text{C}$

Для лучшего понимания механизма влияния различных обработок на механические свойства ТМ из ПЭТФ необходимо оценить степень кристалличности материала.

Степень кристалличности ТМ из ПЭТФ составила 41,91%, после плазменной обработки (30с) – 43,55%, после  $\gamma$ -стерилизации – 43,71%, что не превышает исходное значение 2% (рис. 3.47).

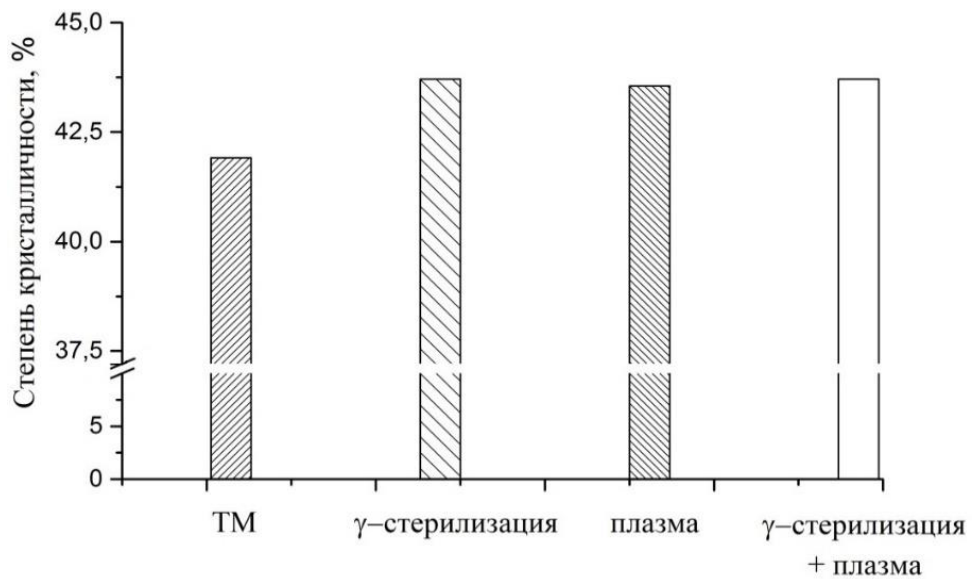


Рисунок 3.47 – Степень кристалличности исходных ТМ из ПЭТФ, мембран после  $\gamma$ -стерилизации и после плазменной обработки

Согласно литературным данным [403, 404, 405], увеличение кристалличности в полимерных материалах наблюдается при  $\gamma$ -облучении дозами до 25 кГр. Более высокие дозы (свыше 25 кГр) снижает степень кристалличности, способствуя переходу полимера в аморфное состояние [405, 406]. Механизм подобного действия связан с разрывом связей, образующих кристаллическую структуру материала, и последующей более хаотичной перестройкой полимерных цепей [407, 408].

Степень кристалличности ТМ из ПЭТФ после паровой стерилизации составила 41,71% (рис. 3.48), что свидетельствовало об отсутствии влияния горячего пара под давлением на степень кристалличности мембран.



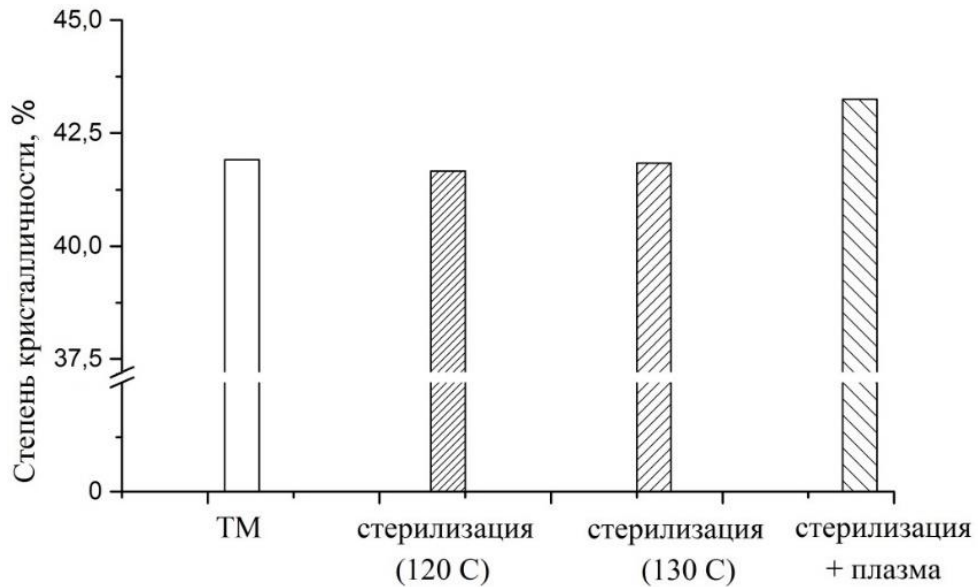


Рисунок 3.48 – Степень кристалличности исходных ТМ из ПЭТФ, мембран после паровой стерилизации и плазменной обработки

Интересен тот факт противоположного воздействия автоклавирования на исходную пленку ПЭТФ. Так, например, в работе [398] отмечено, что паровая стерилизация на 7% – 15% увеличивает степень кристалличности рассматриваемого полимера, причем с увеличением времени воздействия горячего пара увеличивается данный показатель материала, что объясняется реорганизацией аморфных фаз под действие высокой температуры (120°C – 130°C) [398]. Однако по отношению к ТМ из ПЭТФ горячий пар под давлением не вызвал дальнейшую кристаллизацию мембран, сохраняя полимер в уже кристаллизованной фазе на 40% – 42%.

### 3.7 Трибологические испытания кератоимплантата из полиэтилентерефталата

Хирургическая методика имплантации трековой мембраны из ПЭТФ предполагает расправление материала внутри собственного вещества роговой оболочки путем многократных маятникообразных движений длинных шпателей вдоль поверхностей изделия, что может повлечь его повреждению, заглаживанию пор и снижению функциональности, в связи с

чем были проведены трибологические испытания прототипов кераимплантатов (без и после плазменной обработки) при нагрузках 1Н и 2Н и варьированию пути трения и скорости скольжения.

Согласно полученным результатам, коэффициента трения нагрузке 1Н и 2Н прототипа кератоимплантата из ПЭТФ составил 0,08 – 0,17 (рис. 3.49, 3.50, 3.51).

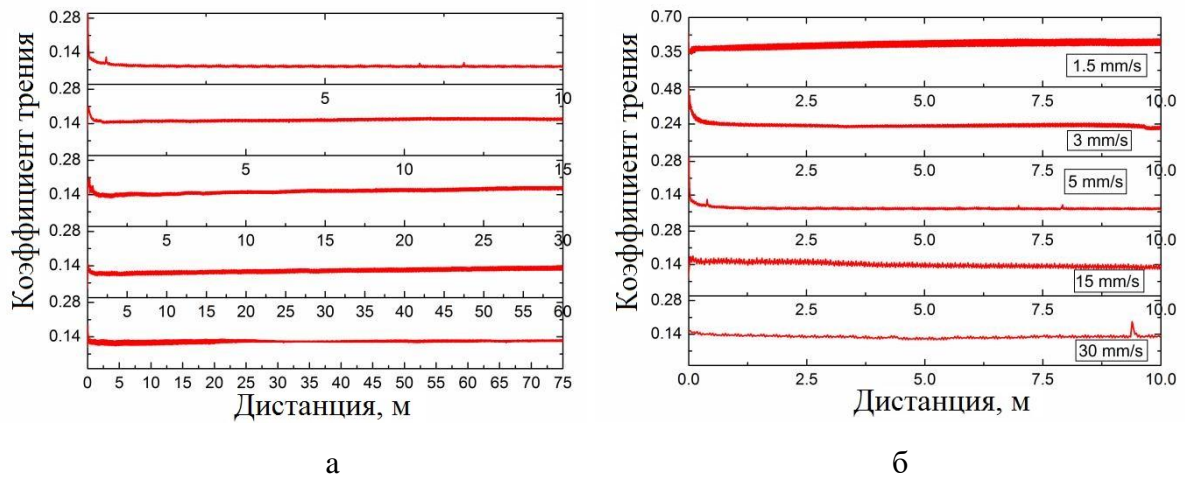


Рисунок 3.49 – Зависимости изменения коэффициента трения для различного пути трения (а) и скорости скольжения (б)

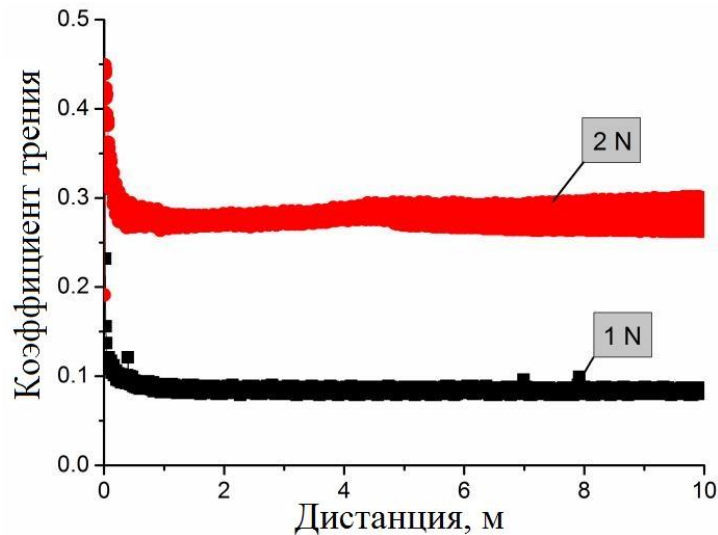


Рисунок 3.50 – Коэффициент трения ТМ из ПЭТФ при нормальных нагрузках (1Н и 2Н)

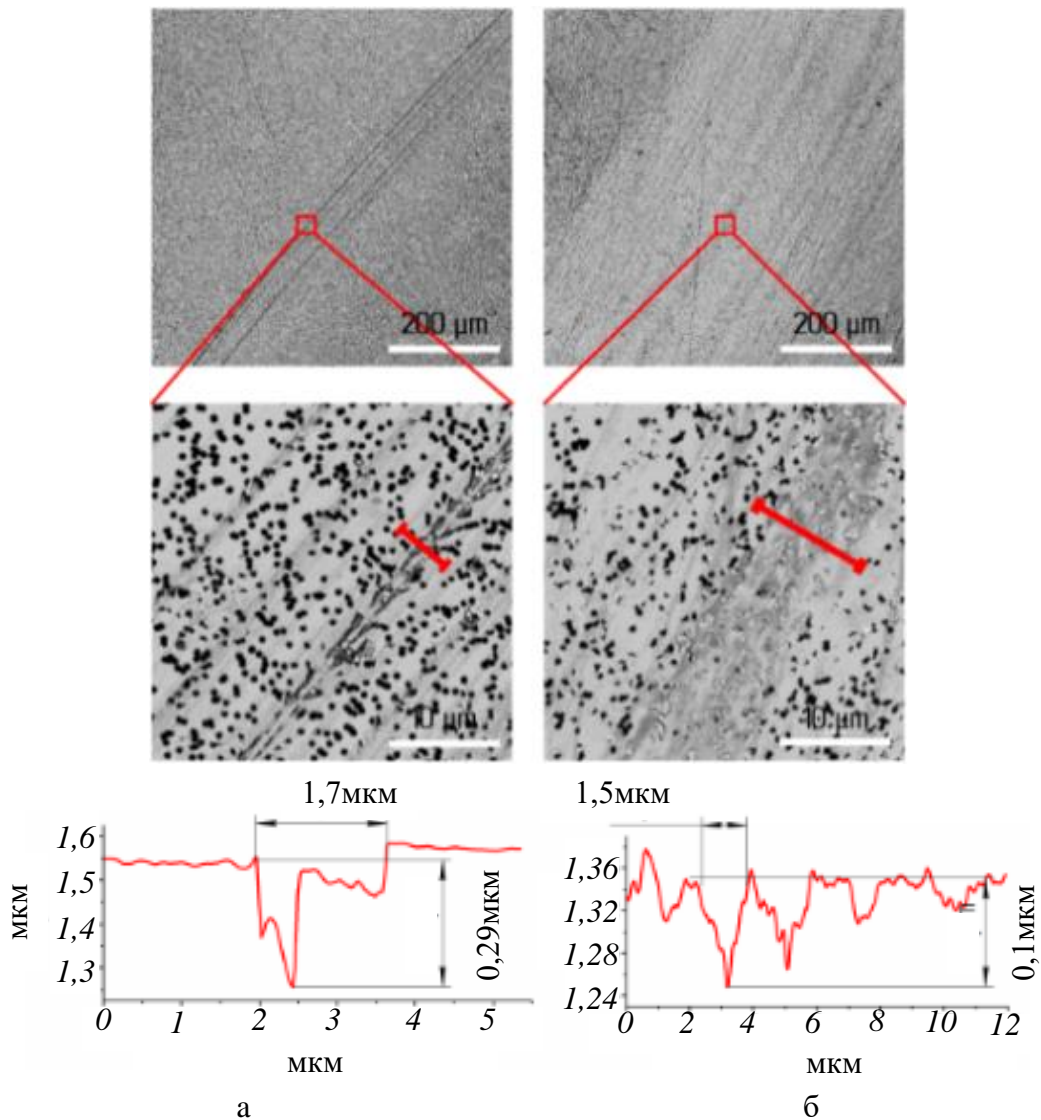


Рисунок 3.51 – Изображения дорожек трения после испытаний с различной нагрузкой и профиль бороздок с увеличенных фрагментов: 1Н (а), 2Н (б)

Снижение скорости скольжения от 5 мм/с до 1,5 мм/с увеличивало коэффициент трения в 3 – 4 раза, в то время как увеличение способствовало росту коэффициента в 3 раза (рис. 3.49). Следует отметить, что изменение длительности испытания не влияло на значения коэффициента трения.

Согласно полученным результатам (рис. 3.52), увеличение длительности испытания способствовало более сильному воздействию контртела на поверхность ТМ из ПЭТФ без выраженной направленности: ширина бороздок увеличивалась, глубина изменялась неравномерно (при трении с дистанцией 30 м она составила 0,05 мкм, с дистанцией 10 м – 0,29 мкм).

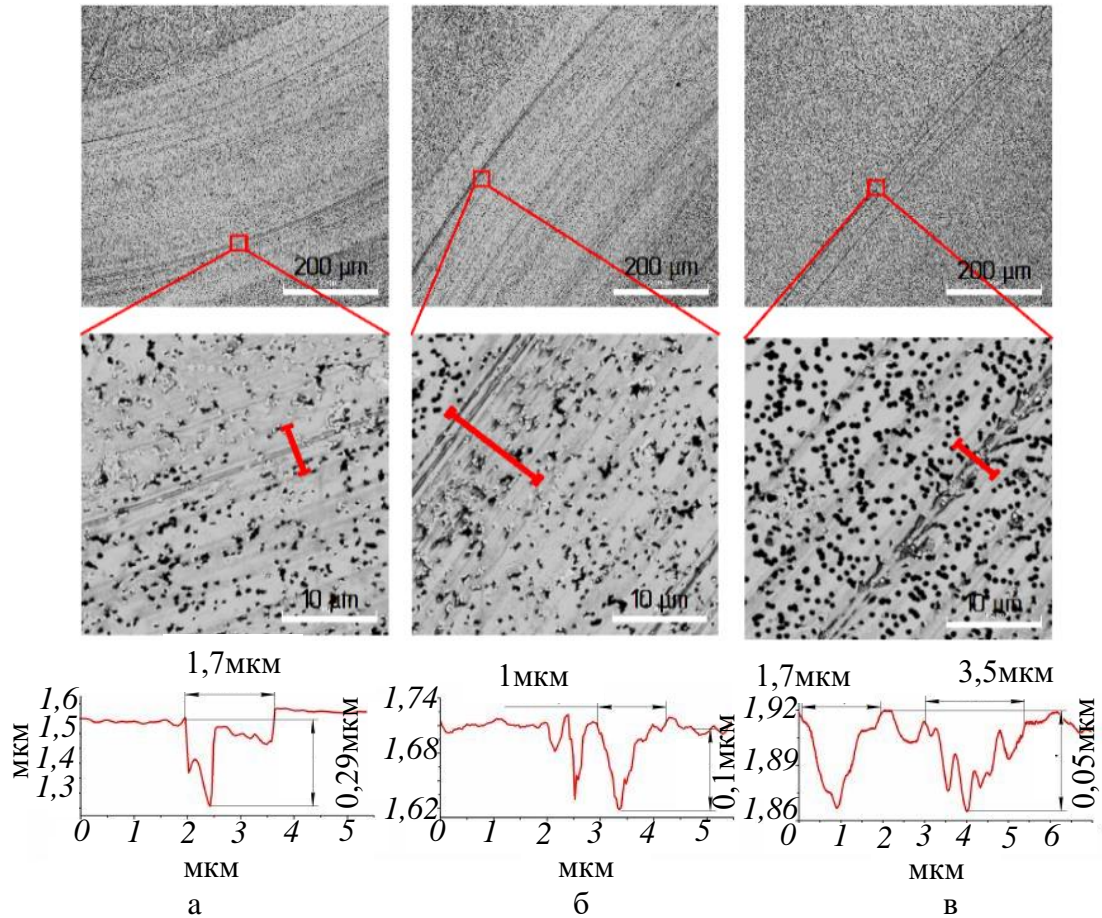


Рисунок 3.52 – Изображения дорожек трения после испытаний с различной длиной пути трения и профиль бороздок с увеличенных фрагментов исходной ТМ из ПЭТФ: 10 м (а), 15 м (б), 30 м (в)

Данный факт, предположительно, связан с тем, что в случае формирования единственной «бороздки», деформация более локализована, при образовании большого количества дорожек напряжения распределяются на большей поверхности и материал не переходит в стадию разрушения.

Подобные изменения были отмечены при испытаниях с различной скоростью скольжения (рис. 3.53). На рисунке 3.53 представлены профили дорожек трения и бороздок ТМ из ПЭТФ, где заметно влияние различной скорости скольжения на износ материала (рис. 3.53).



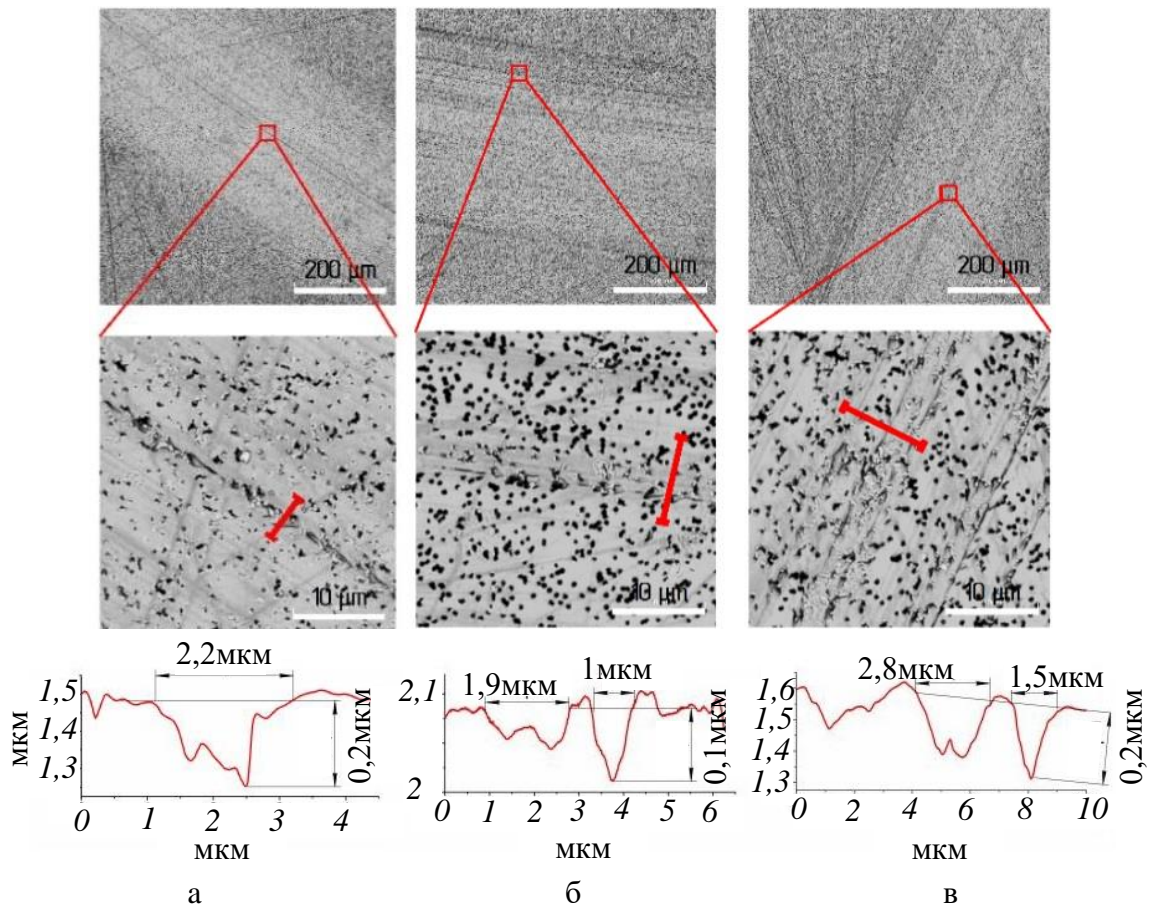


Рисунок 3.53 – Профили дорожек трения и бороздок с фрагментов исходной ТМ из ПЭТФ после испытаний с различной скоростью скольжения: 5 мм/с (а), 15 мм/с (б), 30 мм/с (в)

Согласно результатам трибологических испытаний (рис. 3.54) прототипов кератоимплантатов (ТМ из ПЭТФ после плазменной модификации), действие контртела на поверхность изделия аналогичное, как на исходные ТМ из ПЭТФ: увеличение длительности испытания способствовало более сильному воздействию контртела на поверхность материала без выраженной направленности (ширина бороздок увеличивалась, глубина изменялась неравномерно).

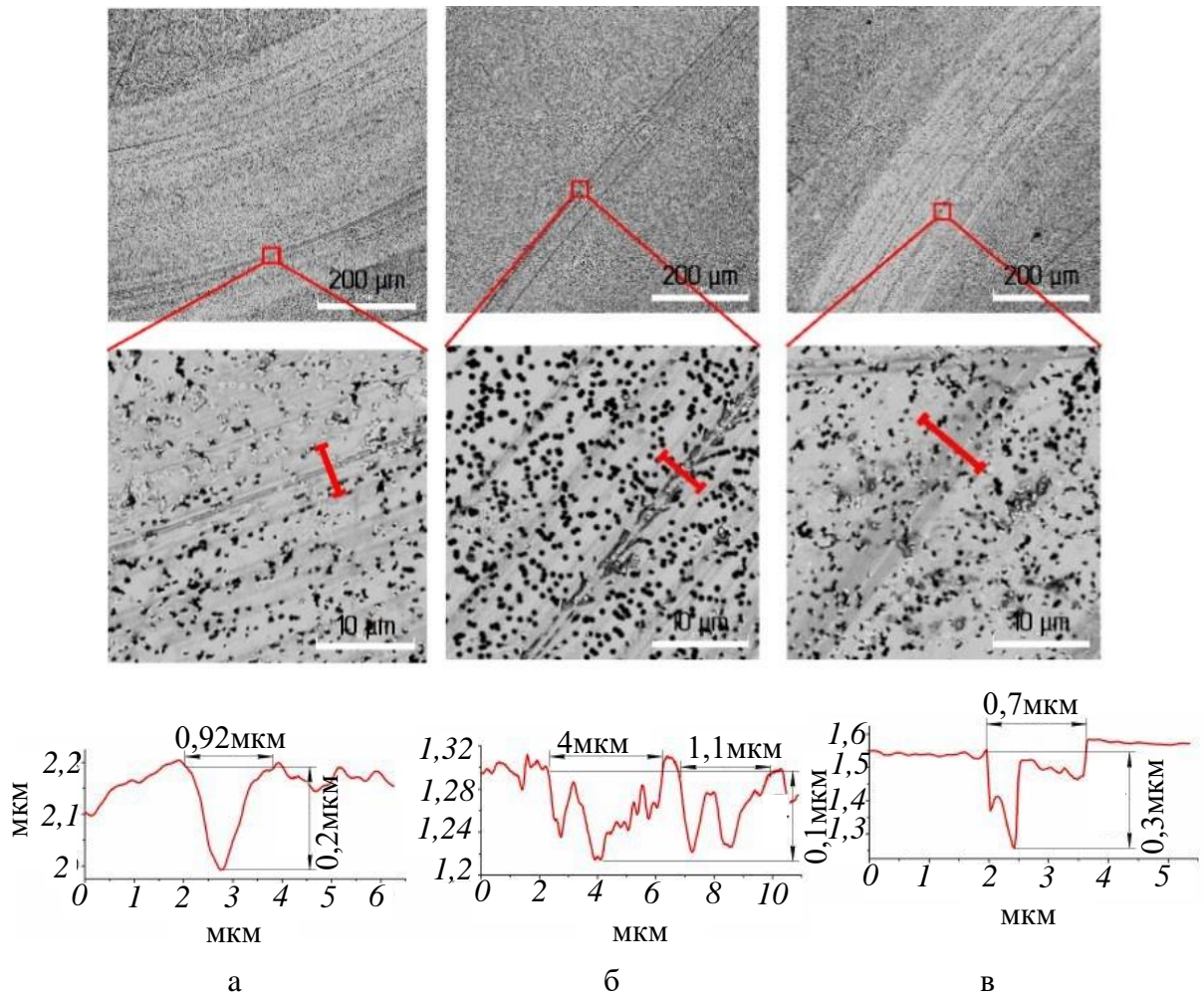


Рисунок 3.54 – Изображения дорожек трения с длиной пути трения 10 м и профиль бороздок с увеличенных фрагментов ТМ из ПЭТФ: исходные (а), после плазменной обработки – 30 с (б), после плазменной обработки – 60 с (в)

По результатам трибологических испытаний отмечено, что выраженные следы износа ТП из ПЭТФ вне зависимости от обработки поверхности заметны пор наблюдается при трении с дистанцией 30 м, большей нагрузкой и со скоростью скольжения более 5 мм/с. Учитывая особенность хирургической методики, деликатность микрохирургических манипуляций, а также результаты трибологических тестов, можно сделать вывод, что воздействие длинных шпателей на материал внутрикорнеально не способствуют выраженной деформации и повреждению поверхности разрабатываемого изделия.

### 3.8 Оптические характеристики кератоимплантата из полиэтилентерефталата

Результаты исследования оптических характеристик ТМ из ПЭТФ показали коэффициент коллимированного пропускания  $\tau(\lambda)$  видимой области спектра исходных мембран 40%–44%. Воздействие плазмы уменьшило  $\tau(\lambda)$  материала на 2%–5%. Стоит отметить, что в спектре с  $\lambda > 620$  нм наблюдались интерференционные явления (рис. 3.55).

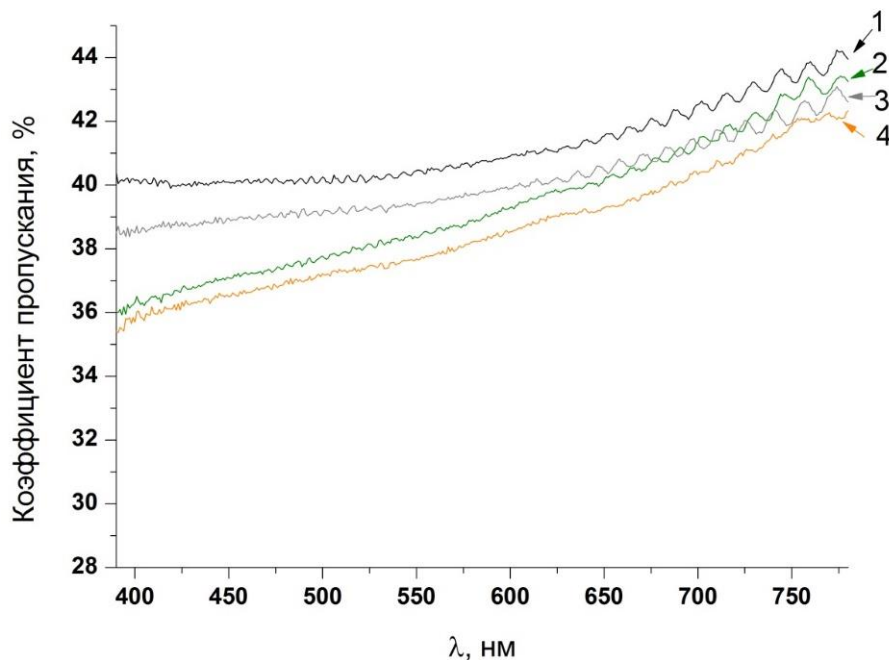


Рисунок 3.55 – Спектр пропускания исходных (1) ТМ из ПЭТФ и мембран после модификации в плазме при времени воздействия 30с (2), 60с (3), 90с (4)

Успешное применение изделия в качестве кератоимплантата во многом зависит от значения коэффициента преломления  $n$ , в данном случае равное 1,5 [409]. Согласно литературным данным, повышение преломляющей способности полимера достигается путем введения в мономеры элементов с высокой молекулярной рефракцией, например, ароматических соединений, карбоксильных групп, соединения брома, хлора [410]. На значение показателя преломления  $n$  также может оказывать влияние оптическая неоднородность самого материала [409]. В случае волновых aberrаций,

обусловленных неоднородностью структуры, термоупругими напряжениями, свилями (прозрачными дефектами) вещества, показатель преломления пленок ПЭТФ приобретает неоднородный характер и имеет невысокие значения [409].

Показатель преломления ТМ из ПЭТФ, определенный из оптических измерений по методике, представленной в [411, 412], до и после модификации в плазме при всех значениях  $\lambda$  оказался равным  $n = 1,255 \pm 0,1$ , т. е. относительно низкое значение по сравнению с пленкой ПЭТФ, у которой  $n = 1,6$  [409, 410, 413, 414]. Это, по-видимому, связано с появлением в пленке ПЭТФ в процессе создания мембраны неоднородностей структуры в виде пор и свилей. Кроме того, развитие рельефа поверхности ТМ из ПЭТФ после плазмы также способствует снижению коэффициента коллимированного пропускания.

Согласно данным ДСК, а также фазовому анализу, степень кристалличности исходной ТМ из ПЭТФ (без плазменной обработки поверхности) составил 41,9%, после модификации в плазме (30с) – 43,55%. Известно, что образование кристаллического состояния в полимере зависит от способности его молекул выстраиваться в упорядоченные структуры [414], что формирует анизотропные структуры – сферолиты, которые размером более 100нм вносят основной вклад в рассеяние света и являются одной из главных причин недостаточности прозрачности материала [409, 404 415]. Таким образом, возможное образование сферолитов вследствие увеличения степени кристалличности ТМ из ПЭТФ способствует снижению коэффициента пропускания  $\tau(\lambda)$  материала после плазменной обработки.

Показатель преломления и показатель поглощения зависят от изменения состава или структуры полимерного материала [409, 415]. Так, например, полимеры с превалированием карбоксильных групп имеют больший коэффициент поглощения [416]. Анализ ИК-спектров мембран из ПЭТФ после воздействия на поверхность материала плазмы показал уменьшение полос поглощения при  $1712 \text{ см}^{-1}$ ,  $1241 \text{ см}^{-1}$  и  $1093 \text{ см}^{-1}$  (рис.



3.11), связанных с колебаниями неполярных (C=C, C=O) функциональных групп, что согласуется с литературными данными [316, 321, 390], где отмечено уменьшение количества неполярных (гидрофобных) функциональных групп C=C и C=O в результате плазменного воздействия в поверхностном слое полимера и образование C–C/C–H, C–O и/или C–N, O=C–O и/или N–CO–N, и N–C=O групп, свидетельствующих об увеличении количества полярных (гидрофильных) функциональных групп [316, 321, 390]. Это сказывается на увеличении шероховатости материала и снижению коэффициента коллимированного пропускания  $t(\lambda)$ .

Коэффициент коллимированного пропускания ТМ из ПЭТФ после  $\gamma$ -стерилизации находился в пределах 37%–43%, что в среднем на 3% меньше  $t(\lambda)$  исходных мембран (рис. 3.56).

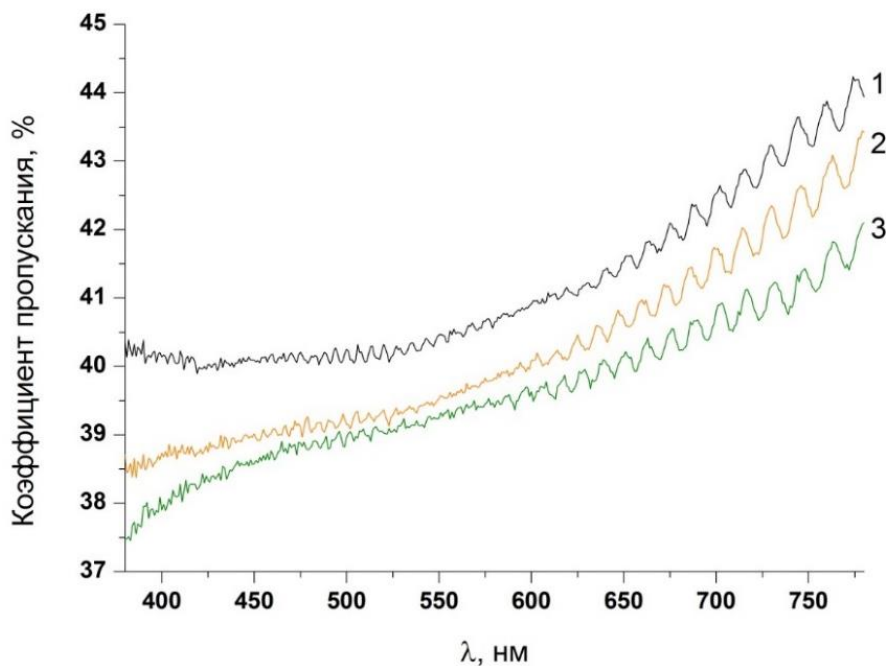


Рисунок 3.56 – Спектр пропускания исходных (1) ТМ из ПЭТФ и мембран после  $\gamma$ -стерилизации при дозе облучения 1кГр (2) и 15кГр (3)

Вид спектральных кривых  $t(\lambda)$  зависит от дозы облучения [416]: с увеличением дозы уменьшаются значения  $t(\lambda)$ , причем наибольшее влияние дозы на вид кривых отмечено ближе к красной области спектра (рис. 3.56).

Коэффициент коллимированного пропускания ТМ после паровой стерилизации (рис. 3.57) находился в пределах 37,5–42% при режиме стерилизации (стерилизация при 120–121°C) и 39,9%–42,5% (стерилизация при 130–132°C). Интерференционная картина коэффициента пропускания ТМ после автоклавирования как и в случае с мембранами после  $\gamma$ -стерилизации наблюдалась ближе к красной области спектра.

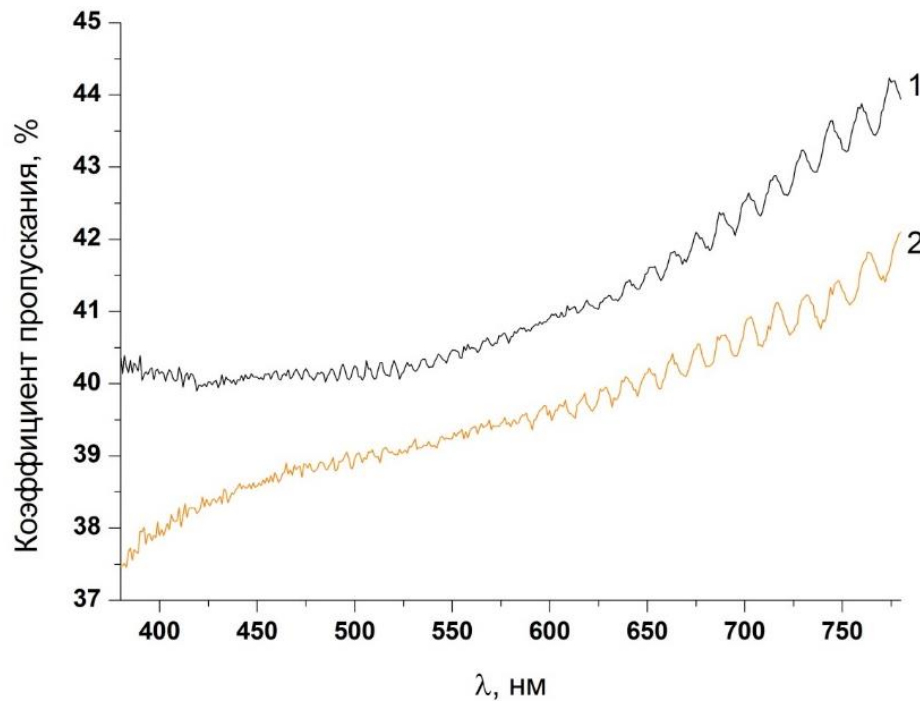


Рисунок 3.57 – Спектр пропускания исходных (1) ТМ из ПЭТФ и мембран после паровой стерилизации (2)

Полученные результаты ДСК, фазового анализа свидетельствуют о заметном влиянии  $\gamma$ -лучей на кристалличность ТМ в отличие от паровой стерилизации, которая вносит вклад только в изменение поверхностных свойств ТМ без вовлечения структуры полимера в целом (см. разд. 3.4). Как уже было отмечено ранее, механизм  $\gamma$ -воздействия на разрабатываемый материал связан с разрывом связей полимера с последующей реорганизацией цепей, укладыванием их в более упорядоченную – кристаллическую – структуру, что сказалось на снижении коэффициента коллимированного пропускания. Механизм воздействия паровой стерилизации на оптические

свойства ТМ из ПЭТФ объясним образованием овальных артефактов на поверхности материала, а также деформацией тонкой пленки под действием горячего пара.

### 3.9 Результаты наблюдения микробицидной эффективности воздействия низкотемпературной плазмы

В результате оценки бактерицидного действия низкотемпературной плазмы атмосферного давления было выявлено помутнение сред группы образцов без стерилизации плазмой в первые сутки инкубации (рис. 3.58, 3.59).



а

б

в

Рисунок 3.58 – Посев в тиогликолевой среде ТМ из ПЭТФ: а – образцы после обработки плазмой 30с; б – образцы после обработки плазмой 60с; в – образцы без плазменной обработки



а

б

в

Рисунок 3.59 – Посев в бульоне Сабуро ТМ из ПЭТФ: а – образцы после обработки плазмой 30с; б – образцы после обработки плазмой 60с; в – образцы без плазменной обработки

Среды с материалом после воздействия плазмы оставались прозрачными на протяжении всего эксперимента (рис. 3.56, 3.57).

Как было отмечено ранее, плазменная обработка генерирует химически активные формы кислорода и азота, в том числе свободные радикалы (O, O<sub>3</sub>, OH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, HO<sub>2</sub>, NO, ONOON и многие другие) [417, 418]. В результате плазмохимических реакций, образованные активные частицы воздействуют на клеточную стенку микроорганизмов и обуславливают окислительный стресс в клетках [417, 419].

Бактерицидные эффекты низкотемпературной плазмы хорошо продемонстрированы в работах [420, 421, 422] и в основном обусловлены действием активных форм кислорода (АФК) [423, 424]. Поскольку повреждения ДНК, вызванные АФК, могут быть зафиксированы в виде точечных мутаций, необходимо исследовать влияние продолжительности плазменного воздействия на ДНК для успешного использования в дезинфекции. Недавние работы показали, что индуцированное плазмой внутриклеточное образование АФК вызывает инактивацию *E. Coli* за счет перекисного окисления липидов и окислительного повреждения ДНК [425]. Варьирование продолжительности плазменного воздействия вызывает значительное повреждение ДНК при его увеличении, что существенно снижает жизнеспособность клеток и приводит клеточному апоптозу у млекопитающих [426]. Помимо повреждений ДНК, плазменное воздействие может влиять на биологические процессы, включая мутагенез, старение и нейродегенерацию [427].

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод, что низкотемпературная плазма обладает стерилизующей способностью в режимах обработки образцов по 30, 60 и 90 секунд и может применяться в качестве стерилизующего агента для трековых мембран из полиэтилентерефталата.

### **3.10 Требования к параметрам кератоимплантата из полиэтилентерефталата для лечения буллёзной кератопатии**

Кератоимплантат из ПЭТФ может быть получен путем облучения пленки ПЭТФ толщиной 10-12мкм пучком тяжелых ионов Ar с энергией 41 МэВ и селективного щелочного травления в водном растворе NaOH (концентрация раствора 1,5М, температура травления (72–82)°С), а также последующей модификации поверхностей полученной мембраны низкотемпературной плазмой продолжительностью 30с. При заданных условиях получения кератоимплантат из полиэтилентерефталата отвечает необходимыми для использования в кератопластике в лечении буллёзной кератопатии требованиям: средним диаметром пор 0,4–0,6 мкм; плотностью –  $5 \times 10^8$  пор/см<sup>2</sup>; геометрией пор – цилиндрической; краевым углом смачивания 30°–55°; проницаемостью по H<sub>2</sub>O 4–6 мл/мин\*см<sup>2</sup> (при P = 0,1 бар).

Стерилизация разработанного изделия из ПЭТФ возможна стерилизующим агентом ионизированной плазменной средой на установке низкотемпературной плазмы путем обработки продолжительностью 30 секунд каждой стороны имплантата в асептических условиях в соответствии с МУ 287–113, ГОСТ ИСО 11737–2–2011, ГОСТ ИСО 11737–1–2012, ГОСТ Р ИСО 14937–2012, ГОСТ Р ИСО 14630–2011, после чего кератоимплантат может храниться в специальных пакетах для стерилизации в течение 21 дня до момента использования. Возможна стерилизация газовым методом – этилен оксидом в соответствии с ГОСТ ISO 11135-2017.

Условия хранения готового изделия: в упаковке при температуре от +5 до +40°С, влажности не выше 80%, вдали от источников тепла, в месте, защищенном от влаги и прямых солнечных лучей.

### Выводы по главе III

1. Воздействие низкотемпературной плазмы увеличивает значения параметров шероховатости более, чем в 3,8 раз (параметр  $R_a$ ), снижает краевой угол смачивания на 56% – 58%, увеличивает значения свободной энергии поверхности в 4,5 раз в большей мере за счет полярной составляющей, увеличивает пропускную способность трековой мембраны из ПЭТФ в 2,5 раза, изменяет механические свойства материала, но не влияет на его коэффициент пропускания.

2. Воздействие  $\gamma$ -излучения  $^{60}\text{Co}$  на модифицированные в низкотемпературной плазме трековых мембран из ПЭТФ не способствует существенным изменениям среднеарифметической шероховатости  $R_a$ , однако на 22%–28% повышает значения краевого угла смачивания и на 20% снижает среднее значение свободной энергии поверхности.

3. Автоклавирование оказывает заметное влияние как на исходную, так и на модифицированную в плазме трековую мембрану из ПЭТФ, выраженное в появлении артефактов овальной формы различных размеров, увеличении шероховатости, снижении приобретенных вследствие плазменной обработке гидрофильности, а также в изменении механических свойств материала, что не может случить выбором данного метода стерилизации мембран рассматриваемого полимера.

4. Низкотемпературная плазма атмосферного давления обладает стерилизующей способностью уже на 30 секундах и может применяться в качестве стерилизующего агента для трековых мембран из ПЭТФ.

## ГЛАВА IV КЕРАТОИМПЛАНТАТ ИЗ ПОЛИМОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ

### 4.1 Пленки из полимолочной кислоты

Электронно-микроскопическое исследование пленок ПМК показало, что стороны материала имеют различную морфологию поверхности, зависимую от контакта выливаемого раствора с атмосферой или чашкой Петри: при контакте с чашкой Петри – сторона материала более гладкая, при контакте с атмосферой – поверхность более рельефная (рис. 4.1).

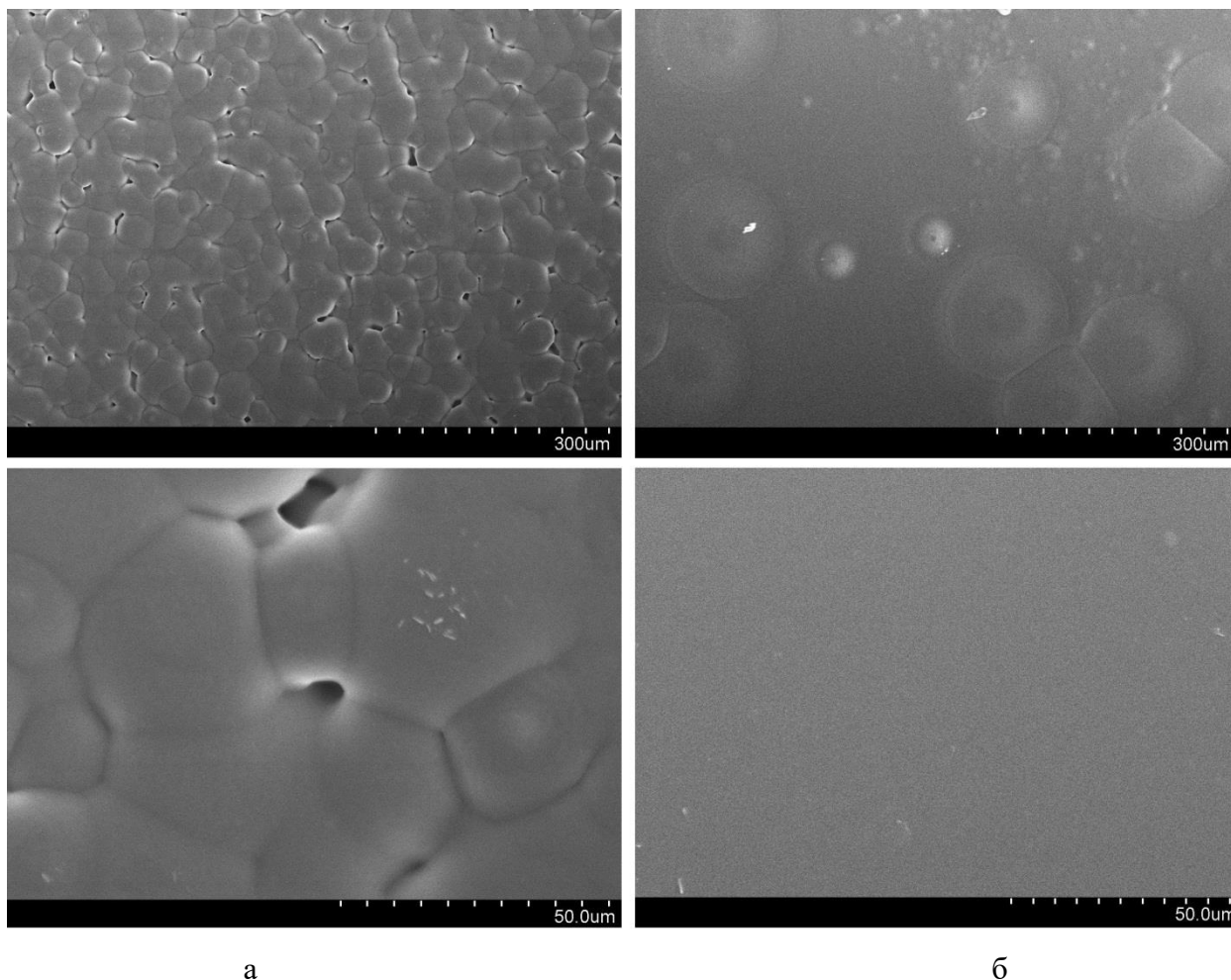


Рисунок 4.1 – РЭМ – изображение поверхности плёнок ПМК (масса выливаемого раствора – 10г): а – внешняя; б – внутренняя

Применяемая в данной работе методика литья раствора в чашки Петри отражается и на топографии сторон пленок ПМК (рис. 4.2, 4.3).

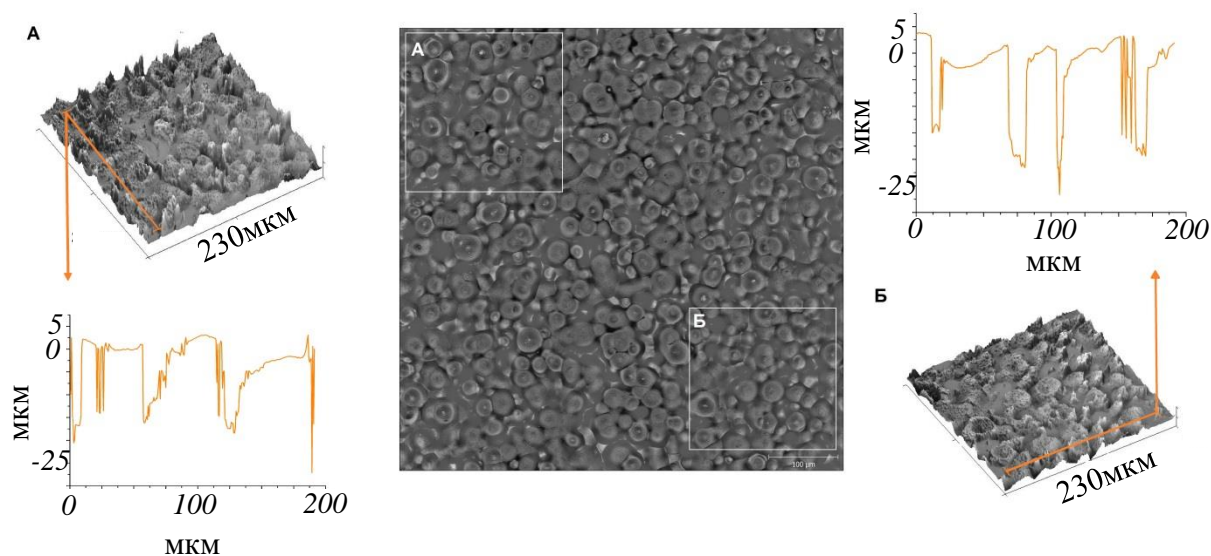


Рисунок 4.2 – Двух- и трехмерные изображения, профили поверхности внешней стороны пленки ПМК (масса выливаемого раствора – 10г)

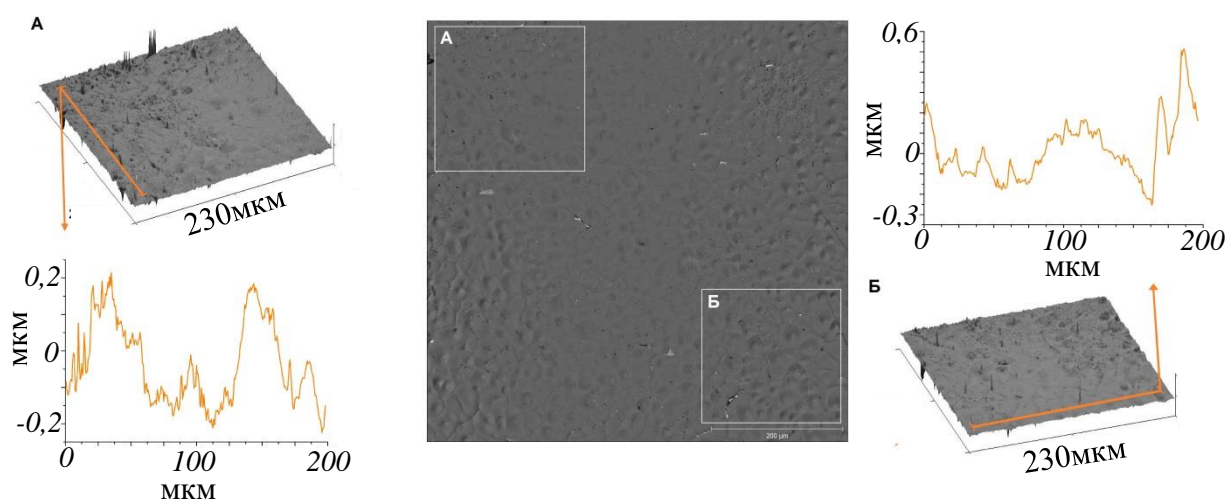


Рисунок 4.3 – Двух- и трехмерные изображения, профили поверхности внутренней стороны пленки ПМК (масса выливаемого раствора – 10г)

Анализ шероховатости показал, что среднеарифметическая шероховатость ( $R_a$ ) внутренней стороны пленки ПМК (10г) составляет  $0,01 \pm 0,003$  мкм, внешней –  $0,17 \pm 0,06$  мкм, тем самым составляя разницу между величинами в 17 раз ( $p < 0,0001$ ). Различия между поверхностями выражены и в других параметрах: среднеквадратичная шероховатость  $R_q$  внутренней стороны – 0,014 мкм, внешней – 0,4 мкм ( $p < 0,0003$ ); максимальная высота шероховатости  $R_t$  внутренней стороны – 0,18 мкм, внешней – 4 мкм; средняя



максимальная высота профиля  $R_z$  внутренней стороны – 0,09 мкм, внешней – 3 мкм ( $p < 0,0002$ ). Стоит отметить, что пленки ПМК (масса выливаемого раствора – 10г) обладали левосторонней асимметрией: коэффициент асимметрии  $R_{sk}$  внутренней поверхности составил -0,001, внешней – (-1,0).

Как было отмечено в главе II, для получения нужной толщины (15-30 мкм) и морфологии пленок, масса выливаемого раствора подбиралась эмпирически, в связи с чем, пленки выливались из раствора по  $(10 \pm 1)$ г,  $(20 \pm 1)$ г,  $(30 \pm 1)$ г. Толщина пленок имеет важное значение для создания из них мембран, так как методика облучения и получения трековых структур предполагает толщину исходного материала до 30 мкм. Кроме того, выраженная шероховатость поверхности, как и сами сквозные поры, могут служить хорошей адгезионной площадкой для культуры клеток. Таким образом, важно подобрать нужные характеристики для будущих имплантатов и разработать методику их изготовления.

Измерение толщины показало, что выливаемые пленки ПМК имели неоднородность по толщине: различия варьировались в пределах 3,0–4,5 мкм (рис. 4.4).

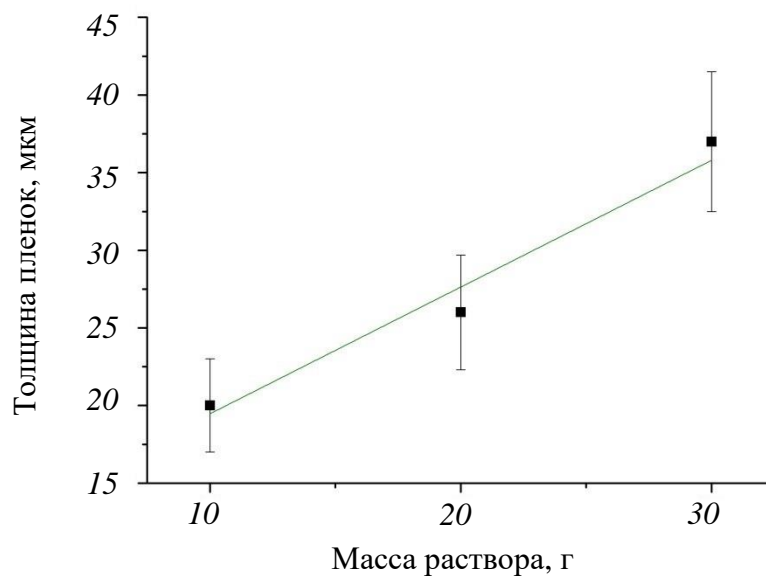


Рисунок 4.4 – Зависимость толщины пленок ПМК от массы выливаемого в пленки раствора

Анализируя толщину, масса раствора 10г (толщина  $20,1 \pm 3,0$  мкм) и 20г (толщина  $26,2 \pm 3,7$  мкм) выглядят более подходящими под требования создания мембран.

С увеличением массы раствора меняется топография пленок ПМК: стороны приобретают более рельефную поверхность (рис. 4.5, 4.6).

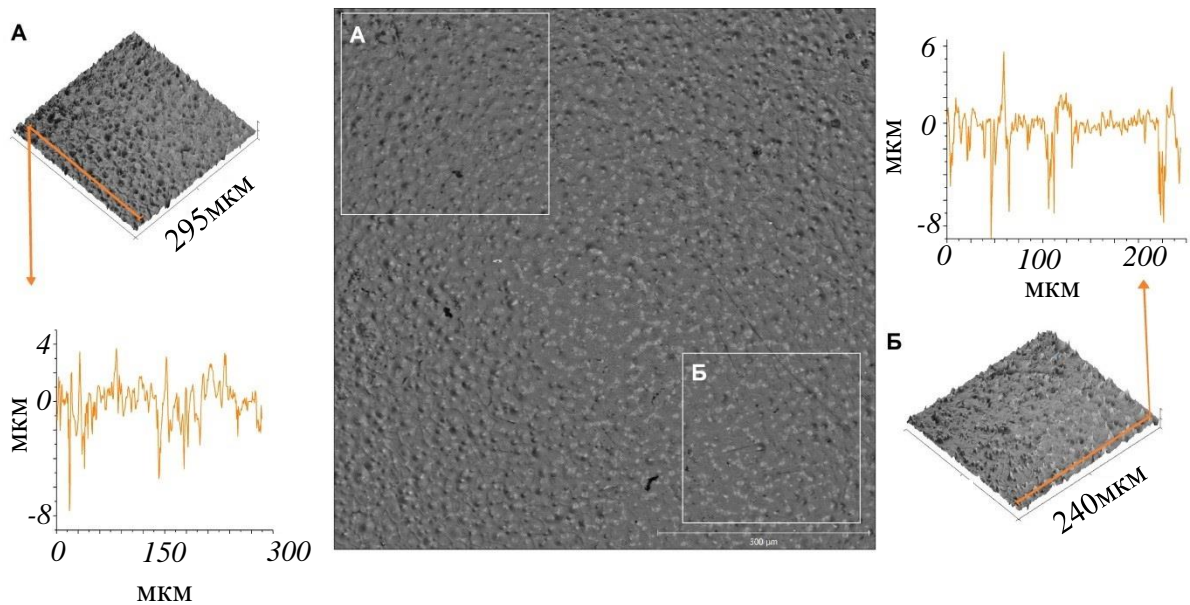


Рисунок 4.5 – Двух- и трехмерные изображения, профили поверхности внутренней стороны пленки ПМК (масса выливаемого раствора – 20г)

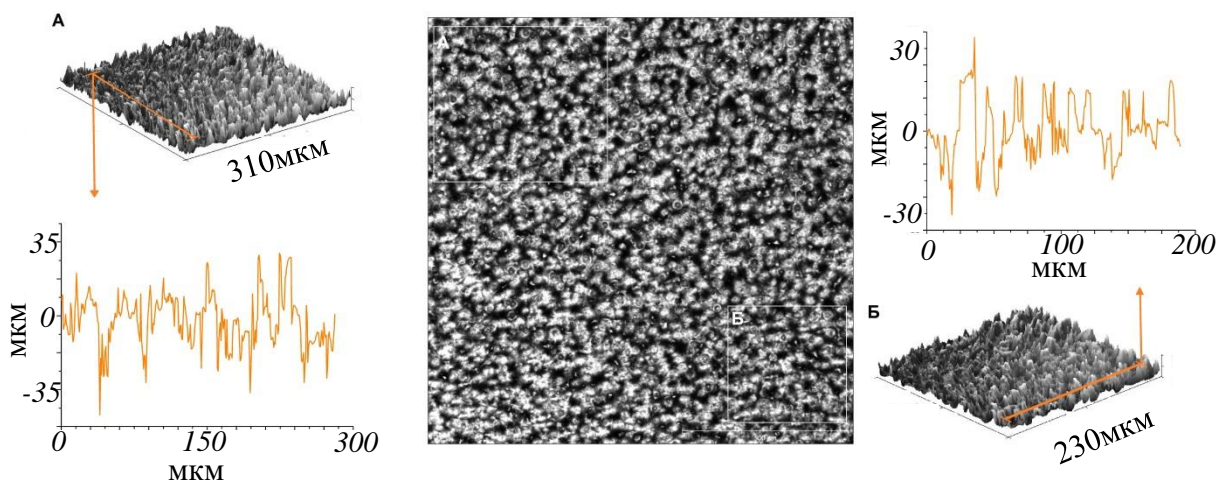


Рисунок 4.6 – Двух- и трехмерные изображения, профили поверхности внешней стороны пленки ПМК (масса выливаемого раствора – 20г)

Изменения шероховатости, как и топографии поверхности, зависит от изменения массы выливаемого в пленки раствора (рис. 4.7). Причем, тенденция различий сторон пленок сохраняется: при контакте с чашкой Петри – материал более гладкий, при контакте с атмосферой – более рельефный (рис. 4.5, 4.6).

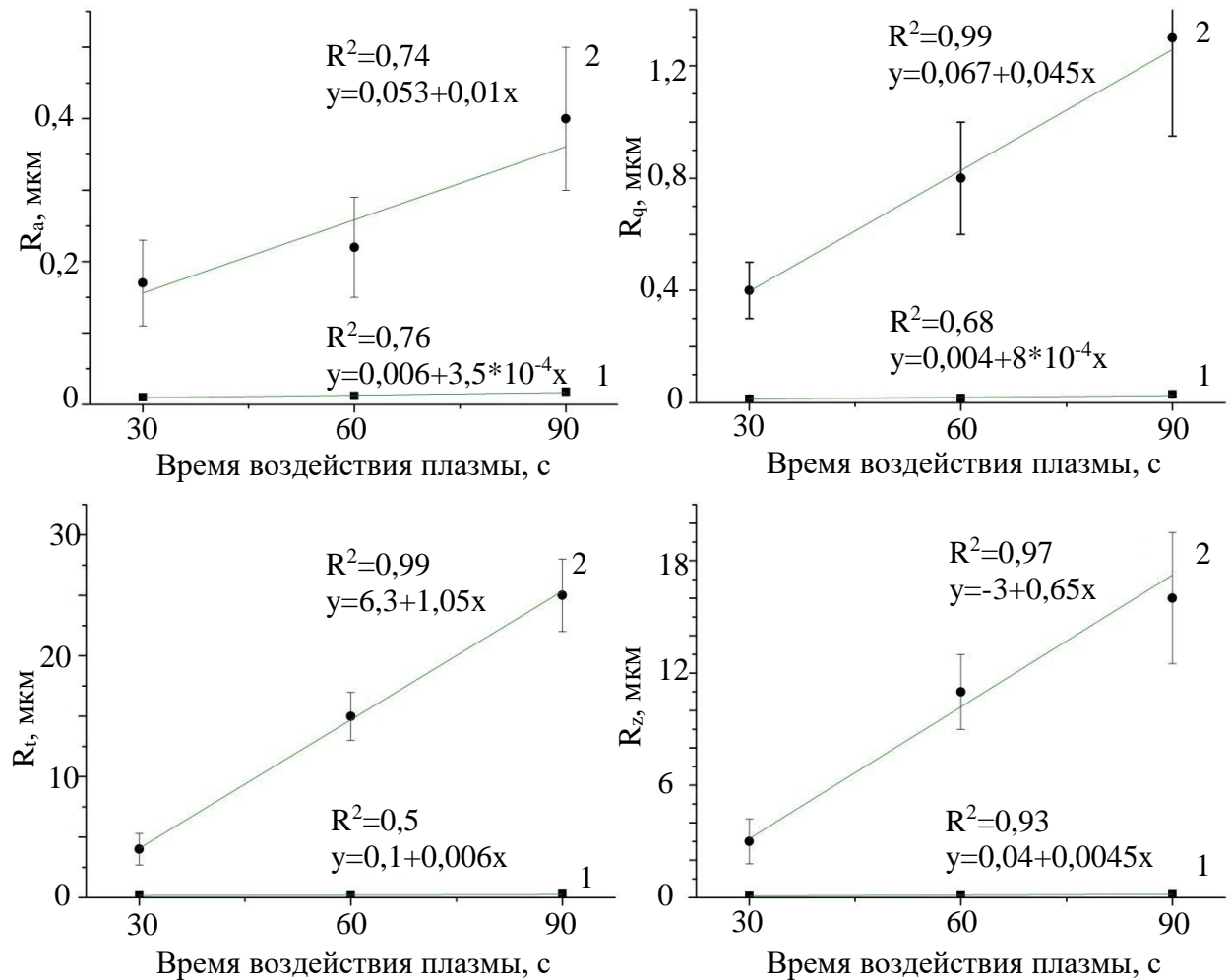


Рисунок 4.7 – Зависимость параметров шероховатости ( $R_a$ ,  $R_q$ ,  $R_t$ ,  $R_z$ ) пленок ПМК от массы выливаемого в пленки раствора: 1 – внутренняя сторона; 2 – внешняя сторона материала

Среднеарифметическая шероховатость  $R_a$  пленок ПМК возрастает в 2,4 раза (внешняя поверхность) и в 2 раза (внутренняя поверхность) с увеличением массы выливаемого в пленки раствора, среднеквадратичная шероховатость  $R_q$  – в 3,25 раза (внешняя поверхность) и в 2 раза (внутренняя поверхность). Максимальная высота шероховатости возрастает в 6,3 раз

(внешняя поверхность) и в 1,6 раз (внутренняя поверхность), средняя максимальная высота профиля – в 5,3 раз (внешняя поверхность) и в 2 раза (внутренняя поверхность). Корреляционно-регрессионный анализ показал линейную зависимость параметров шероховатости  $R_a$ ,  $R_q$ ,  $R_t$ ,  $R_z$ . Таким образом, анализ профиля поверхностей и параметров шероховатости пленок ПМК показал, что с увеличением массы выливаемого в пленки раствора, увеличивается рельефность обеих сторон материала.

В литературе приведено достаточно данных, свидетельствующих о влиянии на функцию адгезивной клетки геометрических особенностей контактируемой с ней стороной материала [428], так как пролиферация клеток тесно связана с областью адгезии [429]. Кроме того, в настоящее время имеются убедительные доказательства того, что «микро-» и «наноразмерные» поверхности (поверхности с параметрами шероховатостью порядка микрометра или нанометра) сильно влияют на рост и дифференцировку адгезированных клеточных структур [430, 431]. Таким образом, пленки с более рельефной поверхностью, в особенности – с внешней стороны, являются наиболее привлекательными для создания будущей подложки для клеточных культур и роговичного имплантата в целом.

Смачиваемость является важным параметром для создания изделия медицинского назначения, в частности – роговичного имплантата. Известно [331], что поверхность близкая к гидрофильной более благоприятная для клеточных культур. Кроме того, создание из материала мембраны подразумевает ее дальнейшее функционирование, которое возможно только при согласовании ее смачиваемости с выполняемой ей функцией. Измерения краевого угла смачивания показало, среднее значение для пленок, вылитых из раствора разной массы:  $\theta_w^\circ = 81,1^\circ \pm 1,3^\circ$ ,  $\theta_N = 5,1^\circ \pm 1,7^\circ$ ,  $\theta_g^\circ = 72,5^\circ \pm 2^\circ$  для внутренней стороны полимера;  $\theta_w^\circ = 78,8^\circ \pm 1,5^\circ$ ,  $\theta_N = 5,1^\circ \pm 1,6^\circ$ ,  $\theta_g^\circ = 70,4^\circ \pm 2,3^\circ$  для внешней стороны, тем самым приближая свойства материала к гидрофобным. Статистический анализ показал отсутствие значимой разницы

углов смачивания между пленками, вылитых из раствора разной массы и сторонами материала,  $p > 0,05$  (рис. 4.8).

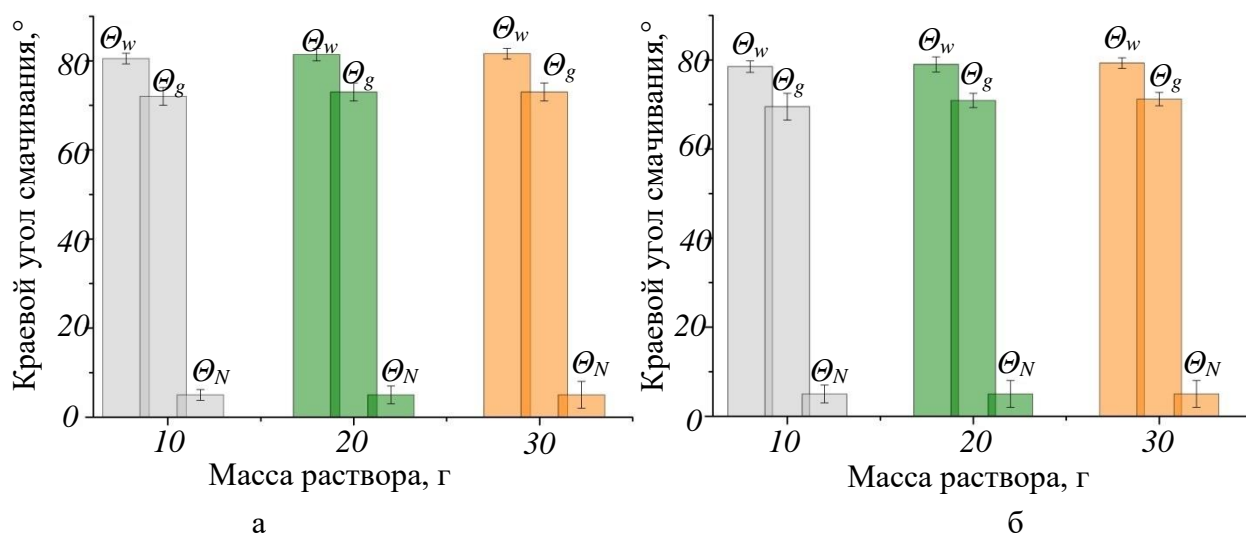


Рисунок 4.8 – Значения краевых углов ( $\theta_w^\circ, \theta_g^\circ, \theta_N$ ) смачивания пленок, вылитых из раствора разной массы: а – внутренняя сторона материала; б – внешняя сторона материала

Поверхностная энергия является параметром, определяющим взаимодействие материала с окружающей средой. Данный параметр очень важен в вопросе создания изделия медицинского назначения, так как он может во многом определять взаимодействие материала с клеткой, ее адгезию и дальнейшее поведение.

Расчет средней свободной энергии поверхности пленок ПМК, вылитых из раствора разной массы, показал значение полной энергии  $\gamma = 26,6 \pm 0,7$  мДж/м<sup>2</sup> для внутренней стороны материала и  $\gamma = 28,75 \pm 0,6$  мДж/м<sup>2</sup> для внешней, причем вклад дисперсионной составляющей для двух сторон значительней поляризационной. Статистический анализ показал отсутствие значимой разницы поверхностной энергии между пленками, вылитых из раствора разной массы,  $p > 0,05$  (рис. 4.9).

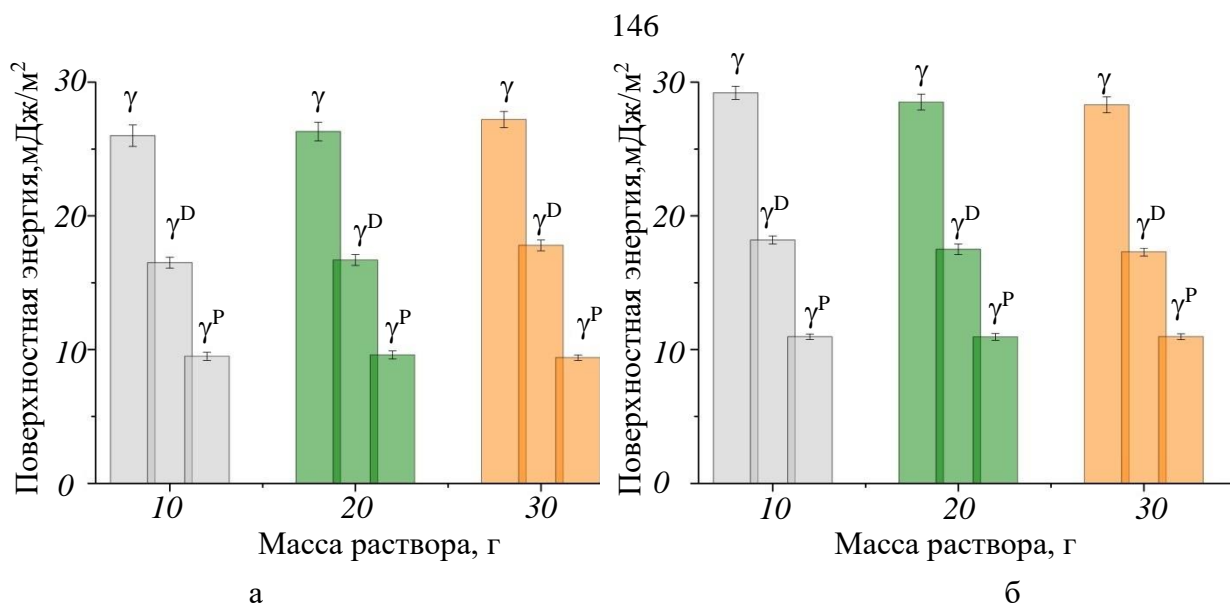


Рисунок 4.9 – Значения поверхностной энергии ( $\gamma$ ,  $\gamma^D$ ,  $\gamma^P$ ) пленок, вылитых из раствора разной массы: а – внутренняя сторона материала; б – внешняя сторона материала

Расчет средней полярности  $p$  пленок ПМК, вылитых из раствора разной массы, показал значение  $p = 0,36$  для внутренней стороны материала и  $p = 0,39$  для внешней.

На рисунке 4.10 представлен ИК-спектр пленки ПМК, на котором отчетливо видны следующие характерные для данного материала полосы:  $760 \text{ см}^{-1}$  и  $740 \text{ см}^{-1}$  (деформационные колебания карбонильных групп (C=O)),  $960 \text{ см}^{-1}$  (валентные колебания (CC) группы),  $1185 \text{ см}^{-1}$  (валентные ассиметричные колебания кислорода в (C-O-C) группе),  $1305 \text{ см}^{-1}$ ,  $1300 \text{ см}^{-1}$  (деформационные колебания (CH) группы),  $1751 \text{ см}^{-1}$  (валентные колебания карбонильной группы (C = O),  $2944 \text{ см}^{-1}$  (валентные ассиметричные колебания метильной (CH<sub>3</sub>) группы).

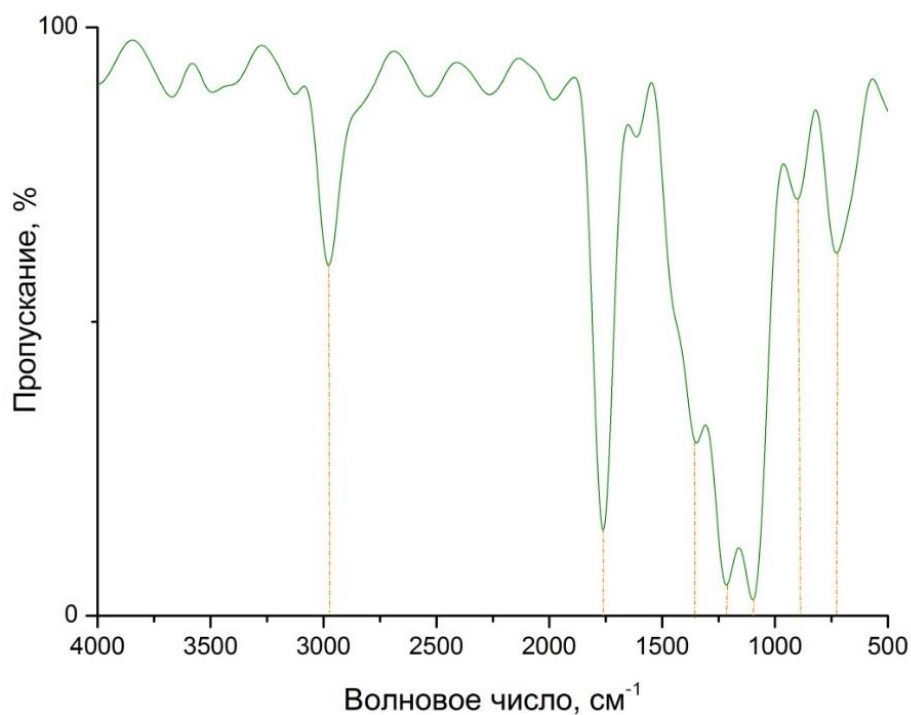


Рисунок 4.10 – ИК-спектр пропускания пленок ПМК

Более детальное изучение структурных и фазовых характеристик плёнок ПМК было осуществлено методом комбинационного рассеяния света (Рамановские спектры) (рис. 4.11, табл. 4.1). Приведенные данные были нормированы на максимум интенсивности полосы  $873\text{ см}^{-1}$ . Полученные спектры комбинационного рассеяния света ПМК показали характерный для данного полимера набор линий при  $305\text{ см}^{-1}$ ,  $403\text{ см}^{-1}$ ,  $713\text{ см}^{-1}$ ,  $740\text{ см}^{-1}$ ,  $873\text{ см}^{-1}$ ,  $922\text{ см}^{-1}$ ,  $1043\text{ см}^{-1}$ ,  $1129\text{ см}^{-1}$ ,  $1179\text{ см}^{-1}$ ,  $1301\text{ см}^{-1}$ ,  $1392\text{ см}^{-1}$ ,  $1454\text{ см}^{-1}$ ,  $1766\text{ см}^{-1}$ , принадлежащий различным колебательным модам материала.

Так, спектры ПМК характеризуются набором линий валентных колебаний  $\nu(\text{C}=\text{O})$ , которые соответствуют 4 активным модам А, В,  $E_1$  и  $E_2$  при  $1749\text{ см}^{-1}$ ,  $1766\text{ см}^{-1}$ ,  $1769\text{ см}^{-1}$  и  $1773\text{ см}^{-1}$  [432]. Присутствует линия при  $1454\text{ см}^{-1}$ , относящаяся к деформационным ассиметричным колебаниям  $\delta_{as}(\text{CH}_3)$ , и которая хорошо наблюдается в ИК-спектрах. Рассматривая область  $1400\text{ см}^{-1} - 1250\text{ см}^{-1}$ , то можно выделить хорошо разрешенные пики небольшой интенсивности при  $1392\text{ см}^{-1}$  (А),  $1356\text{ см}^{-1}$  (В),  $1301\text{ см}^{-1}$  (Е ( $E_1$  и  $E_2$ )), соответствующие колебаниям  $\delta_s(\text{CH}_3)$ ,  $\delta(\text{CH}) + \delta_s(\text{CH}_3)$ ,  $\delta_2(\text{CH})$  [432].



Симметричные моды C–O–C при  $1092\text{ см}^{-1}$  на спектрах комбинационного рассеяния света слабее выражены, чем в ИК-спектрах, а валентные колебания  $\nu(\text{C–CH}_3)$  и  $\nu(\text{C–COO})$  при  $1043\text{ см}^{-1}$  и  $873\text{ см}^{-1}$  представлены более интенсивными линиями. Данный факт связан с различной физической природой происхождения колебательных спектров ИК-поглощения и комбинационного рассеяния света.

Кроме того, в спектрах комбинационного рассеяния света пленок ПМК наблюдаются линии на  $740\text{ см}^{-1}$ ,  $713\text{ см}^{-1}$ ,  $403\text{ см}^{-1}$ ,  $305\text{ см}^{-1}$ , соответствующие деформационным и скелетным колебаниям  $\delta(\text{C=O})$ ,  $\gamma(\text{C=O})$ ,  $\delta\text{CCO}$ ,  $\delta_2(\text{C–CH}_3)$  +  $\delta\text{COC}$ .

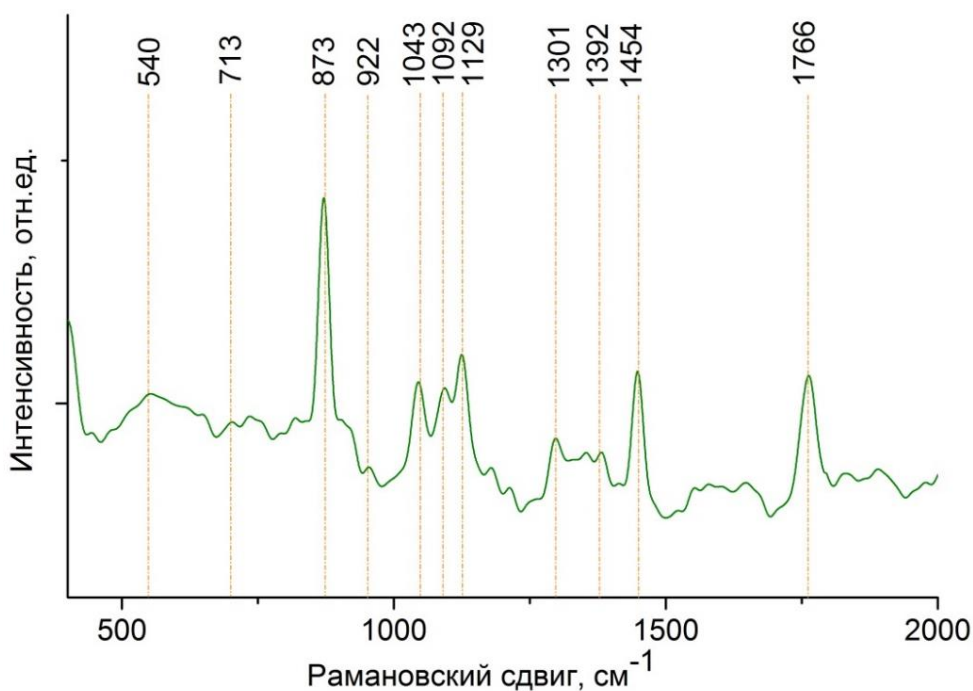


Рисунок 4.11 – Спектр комбинационного рассеяния плёнок ПМК

Таблица 4.1 – Характерные линии комбинационного рассеяния ПМК

Волновое число, $\text{см}^{-1}$	Природа поглощения	Волновое число, $\text{см}^{-1}$	Природа поглощения
1766	$\nu(\text{C=O})$	922	$r(\text{CH} + \nu\text{CC})$
1454	$\delta_{\text{as}}(\text{CH}_3)$	873	$\nu(\text{C–COO})$
1392	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$	740	$\delta(\text{C=O})$
1301	$\delta_{\text{s}}(\text{CH})$	713	$\gamma(\text{C=O})$
1129	$r_{\text{as}}(\text{CH}_3)$	540	$\delta_1(\text{C–CH}_3 + \delta\text{COC})$
1043	$\nu(\text{C–CH}_3)$		



Таким образом, анализ данных показал, что оптимальным выбором для создания мембраны как будущего роговичного имплантата является пленка ПМК, вылитая из раствора 10г, так как отвечает нужным требованиям: толщиной  $20 \pm 1,5$  мкм, рельефной поверхностью, более выраженной с внешней стороны. Однако, пленка ПМК с присущей ей гидрофобностью (краевым углом смачивания  $\theta_w^\circ = 81,1^\circ \pm 1,3^\circ$ ) менее благоприятна для адгезии и пролиферации клеток, что послужило модификации поверхности материала.

#### 4.2 Модификация поверхности низкотемпературной плазмой

Электронно-микроскопическое исследование пленок ПМК после плазменного воздействия показало, что стороны материала также имеют различную морфологию поверхности, зависимую от контакта выливаемого раствора с атмосферой или чашкой Петри: гладкую и более рельефную (рис. 4.12).

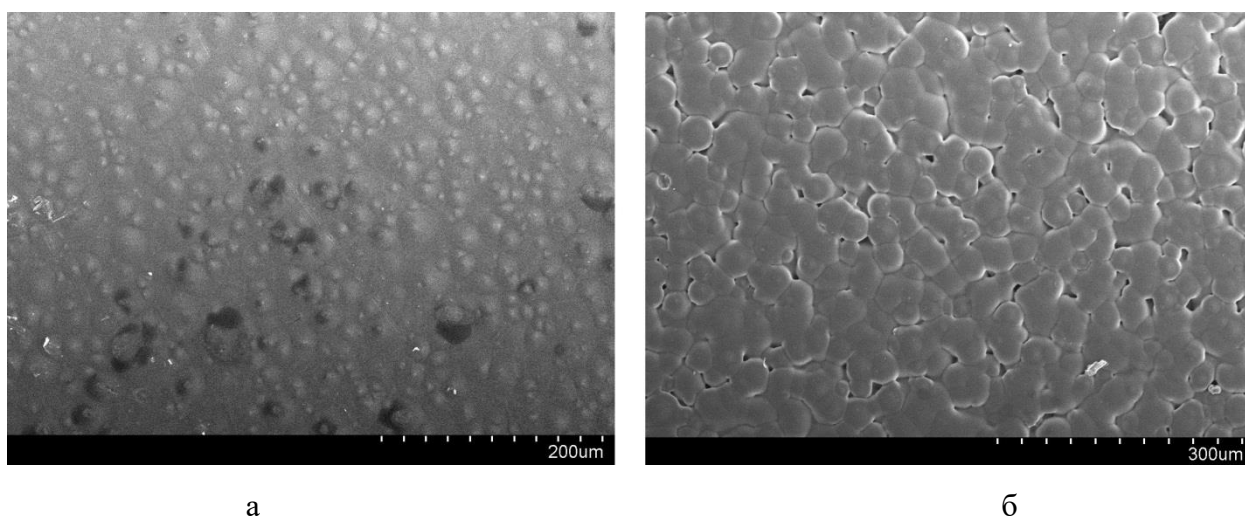


Рисунок 4.12 – РЭМ – изображение поверхности плёнок ПМК после воздействия плазмы (время воздействия – 30с): а – внутренняя; б – внешняя

Растровая электронная микроскопия не показала значимых отличий пленок после воздействия плазмы при различной ее экспозиции от исходного материала. Более значимые различия были получены по данным АСМ и

лазерной сканирующей микроскопии и были выражены в «усилении» рельефа поверхности за счет появления выступов на поверхности (рис. 4.13, 4.14).

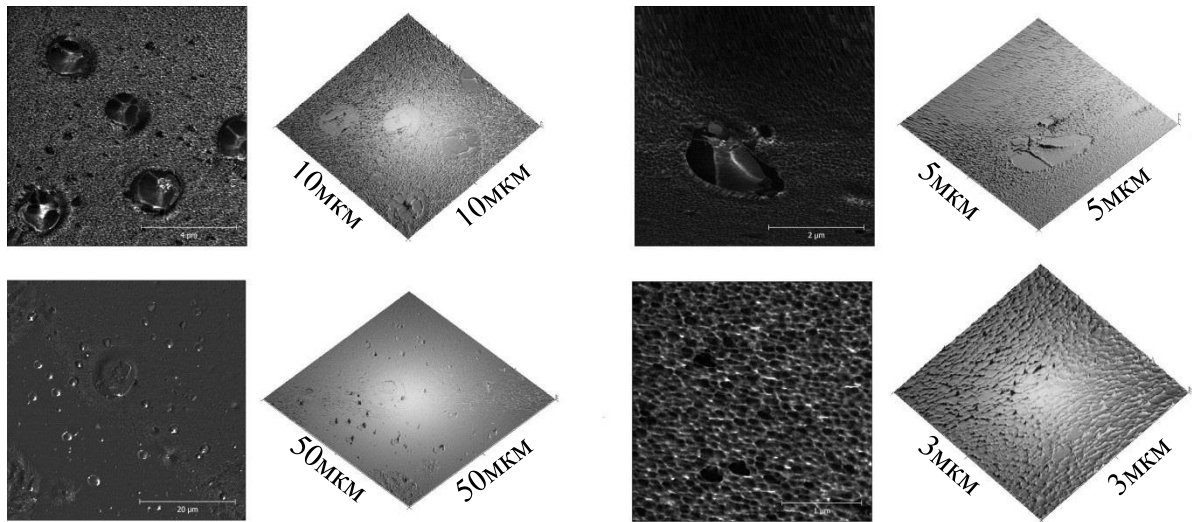


Рисунок 4.13 – Двух- и трехмерные изображения стороны пленки ПМК после модификации плазмой (время обработки поверхности – 30с)

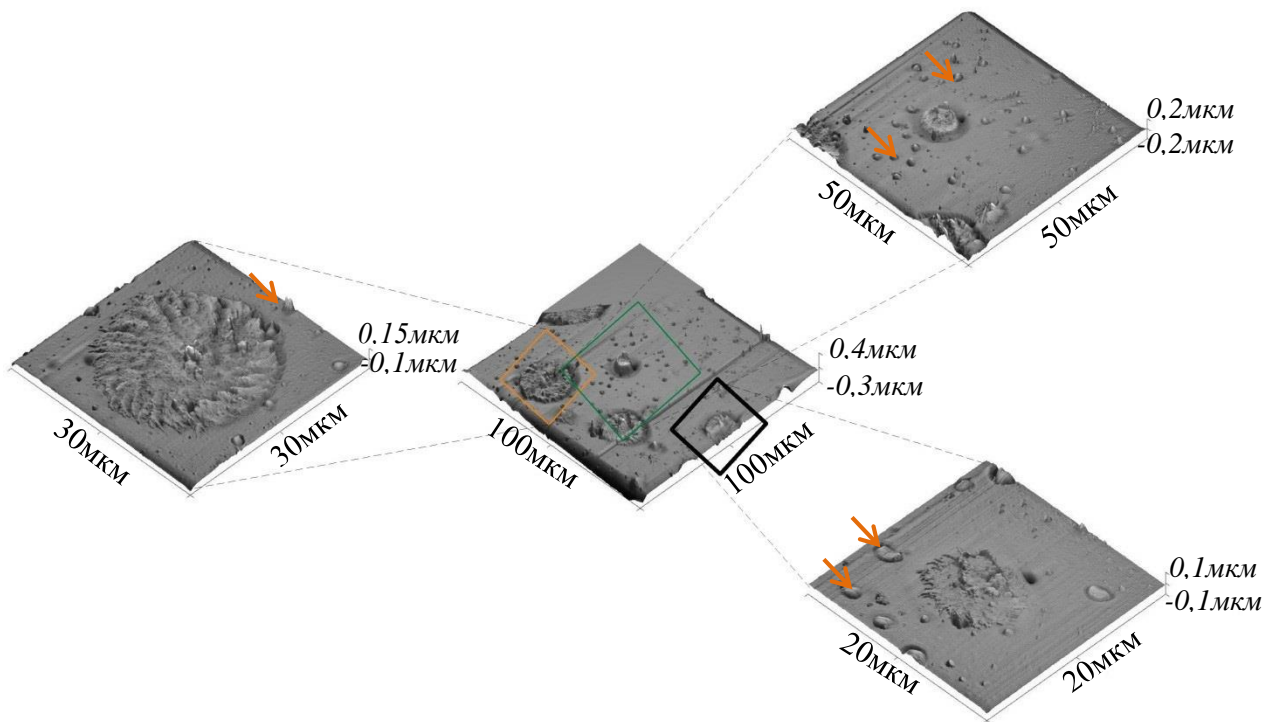


Рисунок 4.14 – Трехмерные изображения внутренней стороны пленки ПМК после модификации плазмой (время обработки поверхности – 30с). Стрелками указано «усиление» рельефа материала после воздействия плазмы

Воздействие низкотемпературной плазмы атмосферного давления приводит к тем же изменениям морфологии поверхности, как и в случае с ТМ

из ПЭТФ (глава III). На пленках ПМК замечены деструктивные области в виде многочисленных хаотично распределенных мелких неровностей конусообразной формы, высотой до ~50нм (при времени обработки поверхности 90с). Плотность таких образований достигала ~1,9 пиков/мкм<sup>2</sup> при времени воздействия плазмы 90 с. Стоит отметить, что подобные изменения были более выражены у внешней стороны материала, чем у внутренней. Высота мелких неровностей внутренней поверхности ПМК после плазмы достигала ~30нм. С увеличением времени модификации сторон материала поверхностные изменения более выражены.

Анализ шероховатости пленок из ПМК после воздействия плазмы при экспозиции 30с показал, что среднеарифметическая шероховатость ( $R_a$ ) внутренней стороны материала составляет  $0,04 \pm 0,003$  мкм, внешней –  $0,6 \pm 0,2$  мкм, тем самым составляя разницу между величинами в 15 раз ( $p < 0,0001$ ). С увеличением времени плазменной модификации линейно увеличивался показатель среднеарифметической шероховатости (рис. 4.15) обеих сторон. Подобный эффект плазмы был замечен и по отношению к ТМ из ПЭТФ (глава III).

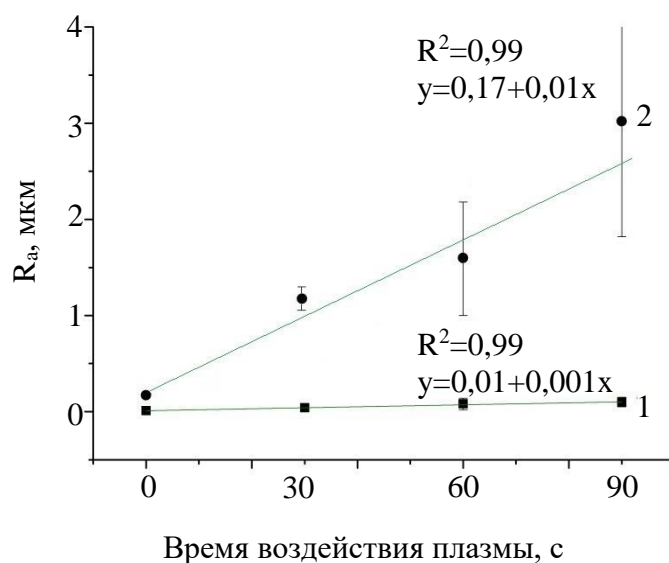


Рисунок 4.15 – Зависимость среднеарифметической шероховатости ( $R_a$ ) пленок ПМК от времени воздействия плазмы: 1 – внутренняя сторона; 2 – внешняя сторона материала

Так как пленка ПМК имела гидрофобные свойства (краевым углом смачивания  $\theta_w^\circ = 81,1^\circ \pm 1,3^\circ$ ), материал был подвергнут модификации низкотемпературной плазмой атмосферного давления для улучшения его смачивания и создания благоприятных условий для клеток. Измерения краевого угла смачивания показали, что среднее значение для пленок после плазмы при экспозиции 30с составило:  $\theta_w^\circ = 58,5^\circ \pm 3^\circ$ ,  $\theta_N = 5,0^\circ \pm 3^\circ$ ,  $\theta_g^\circ = 53,6^\circ \pm 4,8^\circ$ , тем самым снизив показатель в 1,4 раза (на 27,3%) и приблизив свойства материала к гидрофильным (рис. 4.16). Статистический анализ показал отсутствие значимой разницы углов смачивания между пленками, обработанными плазмой разной временной выдержкой,  $p > 0,05$  (рис. 4.16). Кроме того, анализ также показал отсутствие значимой разницы показателей смачивания между сторонами материала.  $p > 0,05$ .

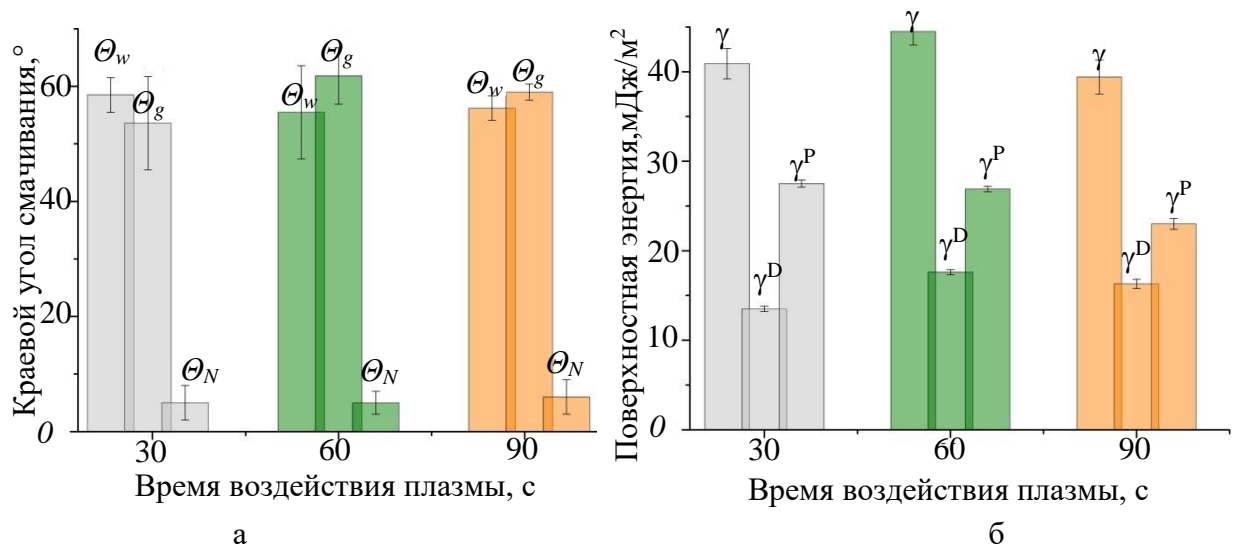


Рисунок 4.16 – Значения краевых углов ( $\theta_w^\circ$ ,  $\theta_g^\circ$ ,  $\theta_N$ ) смачивания (а) и поверхностной энергии ( $\gamma$ ,  $\gamma^D$ ,  $\gamma^P$ ) (б) пленок ПМК после воздействия плазмы

Плазменная модификация материала сказалась и на значении свободной энергии поверхности, которое возросло в 1,8 раз (на 36,4%) при времени экспозиции плазмой 30 с по сравнению с исходным материалом. Причем, наблюдаемые изменения энергии произошли главным образом за счет увеличения полярной составляющей ( $\gamma^P$  в среднем увеличилась в 3 раза по сравнению с исходными значениями). Полярность пленки после модификации

составила 0,33 (для исходного материала  $p = 0,36–0,39$ ). Статистический анализ показал отсутствие значимой разницы поверхностной энергии между пленками, обработанных плазмой разной временной выдержкой, и сторонами материала,  $p > 0,05$ .

Полученные спектры комбинационного рассеяния света (Рамановские спектры) пленок ПМК после плазменного воздействия показали отсутствие выраженных изменений по сравнению со спектром и присутствие характерного для данного полимера набора линий (рис. 4.17).

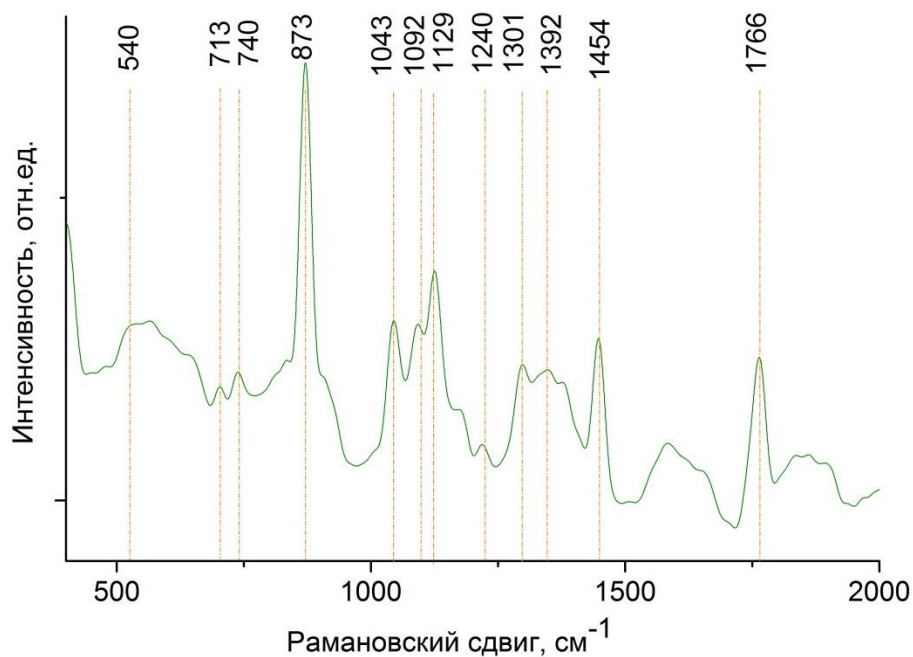


Рисунок 4.17 – Спектр комбинационного рассеяния плёнок ПМК после плазменной модификации при времени воздействия – 30с

Микроразряды, возникающие в барьерном разряде при модификации поверхности пленок ПМК низкотемпературной плазмой атмосферного давления, приводят к диссоциации молекул кислорода на атомы с образованием озона [316, 434], что в результате протекания химических реакций увеличивает концентрацию кислородсодержащих полярных групп (таких, как NO, OH) и промежуточных соединений на поверхности материала [435].

### 4.3 Влияние $\gamma$ -стерилизации на свойства пленок полимолочной кислоты

Электронно-микроскопическое исследование пленок ПМК после  $\gamma$ -стерилизации показало, что стороны материала также имеют различную морфологию поверхности, зависимую от контакта выливаемого раствора с атмосферой или чашкой Петри: гладкую и более рельефную (рис. 4.18). Кроме того, заметного влияния  $\gamma$ -облучения на поверхность ПМК по данным РЭМ-исследования выявлено не было.

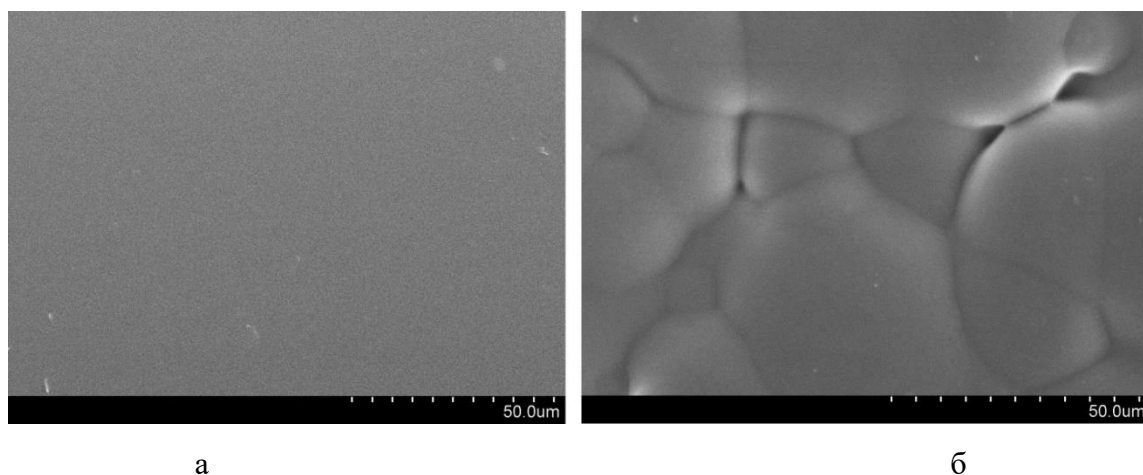


Рисунок 4.18 – РЭМ – изображение поверхности плёнок ПМК после  $\gamma$ -стерилизации (время воздействия – 30 с): а – внутренняя; б – внешняя

Анализ шероховатости пленок ПМК после  $\gamma$ -стерилизации показал, что среднеарифметическая шероховатость ( $R_a$ ) внутренней стороны материала составляет  $0,017 \pm 0,01$  мкм, внешней –  $0,19 \pm 0,1$  мкм, тем самым составляя разницу между величинами в 10 раз ( $p < 0,0001$ ). Статистический анализ параметров шероховатости показал отсутствие разницы между пленками ПМК до и после стерилизации,  $p > 0,05$ . Различия между поверхностями выражены и в других параметрах: среднеквадратичная шероховатость  $R_q$  внутренней стороны –  $0,024$  мкм, внешней –  $0,45$  мкм ( $p < 0,05$ ); максимальная высота шероховатости  $R_t$  внутренней стороны –  $0,31$  мкм, внешней –  $4,5$  мкм; средняя максимальная высота профиля  $R_z$  внутренней стороны –  $0,31$  мкм, внешней –  $3,4$  мкм ( $p < 0,05$ ).

Измерения краевого угла смачивания показали, среднее значение для пленок ПМК:  $\theta_w^\circ = 71,8^\circ \pm 9,0^\circ$ ,  $\theta_N = 5,1^\circ \pm 1,2^\circ$ ,  $\theta_g^\circ = 72,9^\circ \pm 4^\circ$ , тем самым критически не меняя гидрофобные свойства полимера. Статистический анализ показал отсутствие значимой разницы углов смачивания между сторонами материала,  $p > 0,05$  (рис. 4.19).

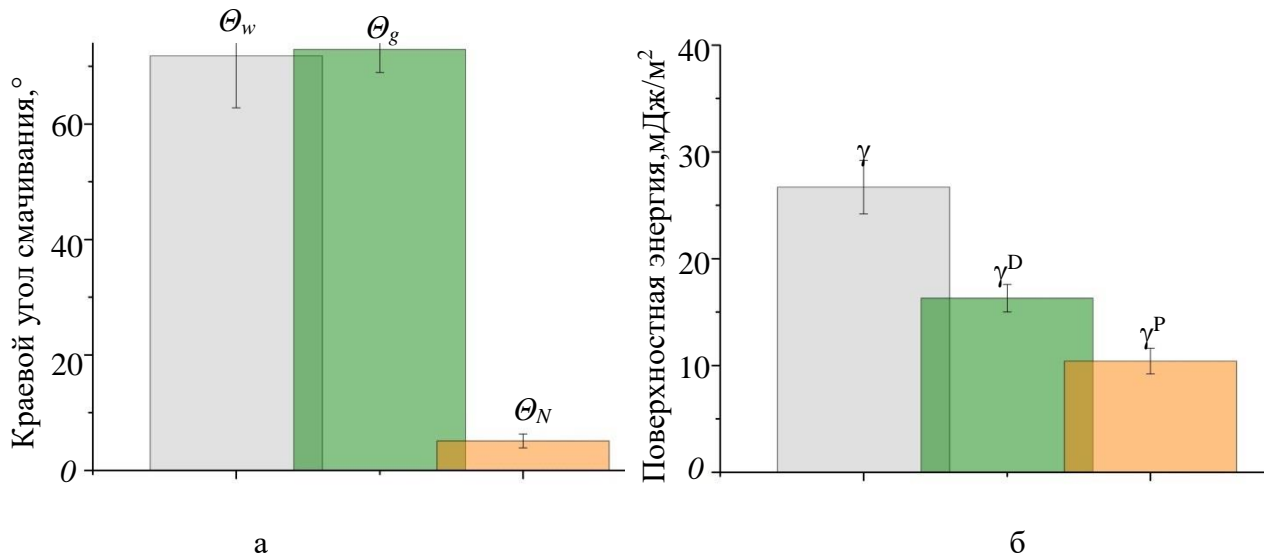


Рисунок 4.19 – Значения краевых углов ( $\theta_w^\circ, \theta_g^\circ, \theta_N$ ) смачивания (а) и поверхностной энергии ( $\gamma, \gamma^D, \gamma^P$ ) (б) пленок ПМК после  $\gamma$ -стерилизации

Расчет средней свободной энергии поверхности пленок ПМК после  $\gamma$ -стерилизации показал значение полной энергии  $\gamma = 26,7 \pm 2,5$  мДж/м², что статистически не отличалось от данных исходной пленки из ПМК. Кроме того, анализ показал отсутствие значимой разницы поверхностной энергии между сторонами материала,  $p > 0,05$  (рис. 4.20).

Расчет средней полярности  $p$  пленок ПМК после  $\gamma$ -стерилизации показал среднее значение  $p = 0,39$ .

Полученные спектры комбинационного рассеяния света (Рамановские спектры) пленок из ПМК после  $\gamma$ -стерилизации показали отсутствие выраженных изменений по сравнению со спектром и присутствие характерного для данного полимера набора линий (рис. 4.20).



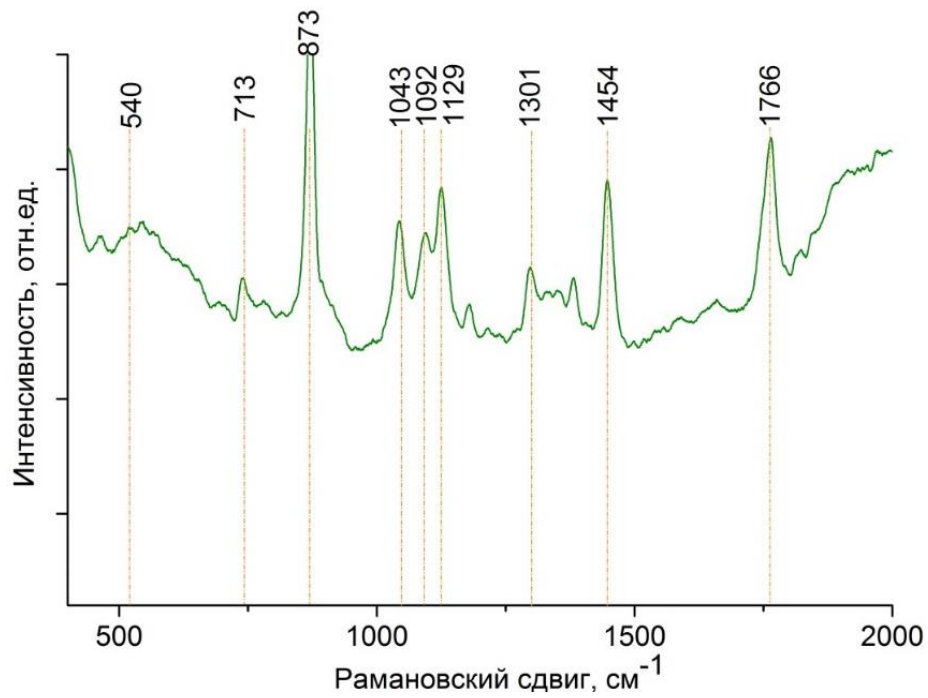


Рисунок 4.20 – Спектр комбинационного рассеяния плёнок ПМК после  $\gamma$ -стерилизации

Анализ шероховатости пленок ПМК после воздействия плазмы и  $\gamma$ -стерилизации показал, что среднеарифметическая шероховатость ( $R_a$ ) внутренней стороны материала составила  $0,04 \pm 0,01$  мкм, внешней –  $0,6 \pm 0,2$  мкм, что статистически не значимо по сравнению с модифицированными пленками без стерилизации,  $p > 0,05$  (рис. 4.21).

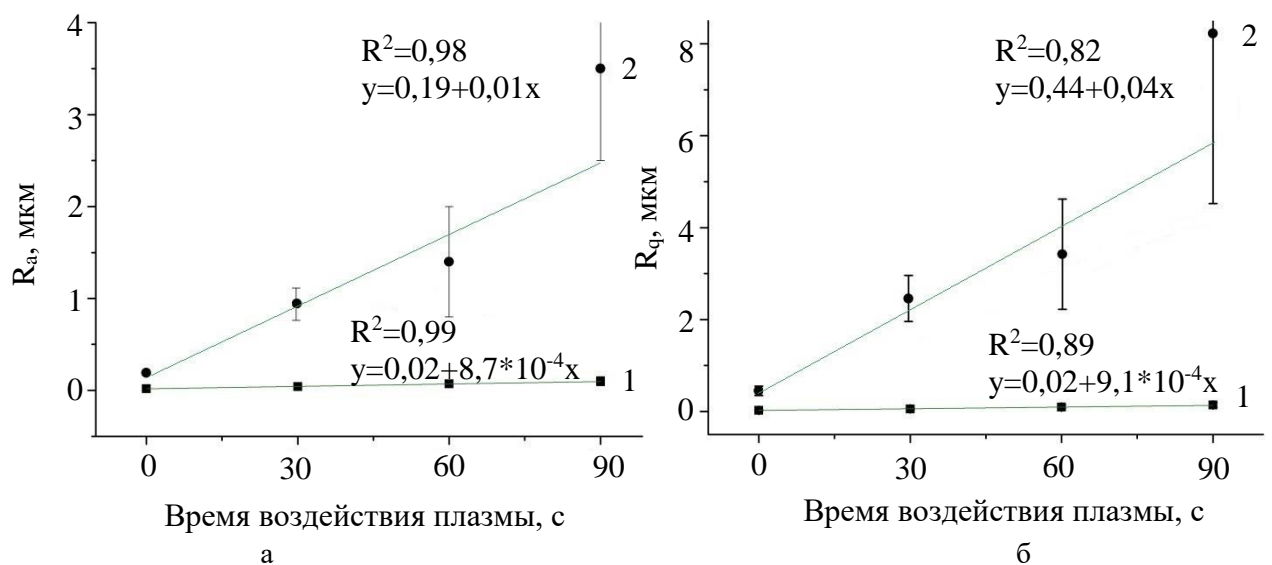


Рисунок 4.21 – Зависимость среднеарифметической шероховатости ( $R_a$ ) (а) и среднеквадратичной шероховатости ( $R_q$ ) (б) пленок ПМК от времени воздействия плазмы после  $\gamma$ -стерилизации: 1 – внутренняя сторона; 2 – внешняя сторона материала



С увеличением времени плазменной модификации линейно увеличивался показатель среднеарифметической шероховатости (рис. 4.21) обеих сторон.

Так как пленка ПМК имела гидрофобные свойства (краевым углом смачивания  $\theta_w^\circ = 81,1^\circ \pm 1,3^\circ$ ) и была подвергнута модификации низкотемпературной плазмой атмосферного давления для улучшения его смачивания, то существует риск потери приобретённых свойств после стерилизации. Измерения краевого угла смачивания материала после воздействия плазмы и стерилизации показало, что среднее значение полимера после плазмы при экспозиции 30с:  $\theta_w^\circ = 58,2^\circ \pm 3^\circ$ ,  $\theta_N = 7,0^\circ \pm 2,8^\circ$ ,  $\theta_g^\circ = 53,3^\circ \pm 2,5^\circ$  (рис. 4.22). Статистический анализ показал отсутствие значимой разницы углов смачивания между модифицированными в плазме и немодифицированными пленками после стерилизации, а также между пленками, обработанных плазмой разной временной выдержкой,  $p > 0,05$  (рис. 4.22). Кроме того, анализ также показал отсутствие значимой разницы показателей смачивания между сторонами материала,  $p > 0,05$ .

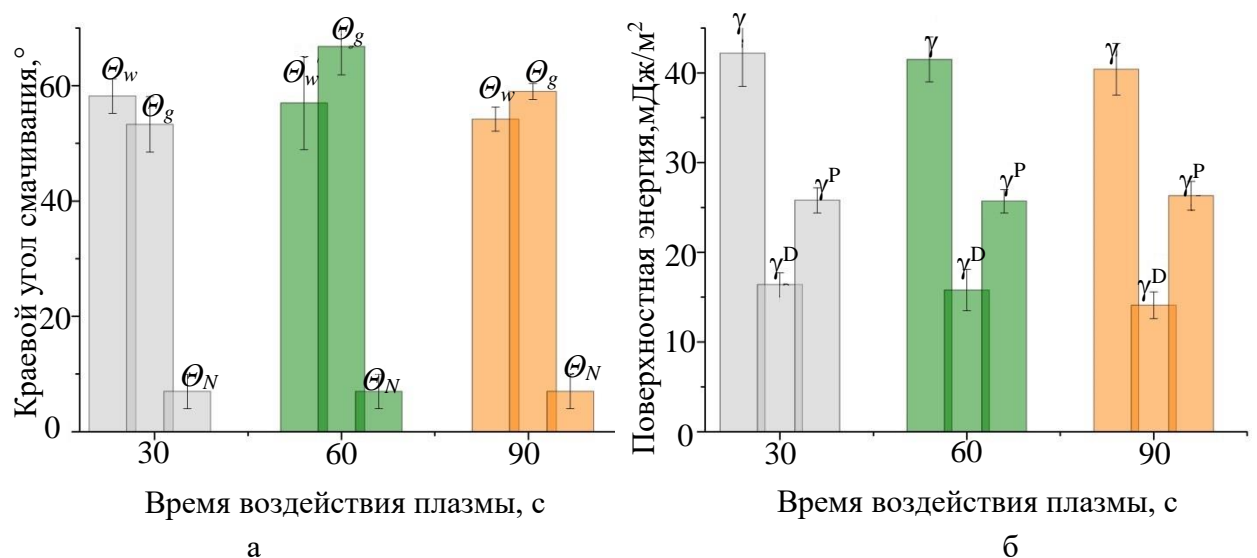


Рисунок 4.22 – Значения краевых углов ( $\theta_w^\circ$ ,  $\theta_g^\circ$ ,  $\theta_N$ ) смачивания (а) и поверхностной энергии ( $\gamma$ ,  $\gamma^D$ ,  $\gamma^P$ ) (б) пленок ПМК после воздействия плазмы и после  $\gamma$ -стерилизации

Расчет полной энергии поверхности показал, что  $\gamma$ -стерилизация фактически не изменяет значения энергии плазменно-обработанных образцов (рис. 4.22). Статистический анализ показал отсутствие значимой разницы поверхностной энергии между пленками, обработанных плазмой разной временной выдержкой и после  $\gamma$ -излучения, и сторонами материала,  $p > 0,05$ .

Анализ ИК-спектров пленок ПМК до и после  $\gamma$ -излучения показал характерные для данного материала полосы:  $760 \text{ см}^{-1}$  и  $740 \text{ см}^{-1}$  (деформационные колебания карбонильных групп ( $C=O$ )),  $960 \text{ см}^{-1}$  (валентные колебания ( $CC$ ) группы),  $1185 \text{ см}^{-1}$  (валентные ассиметричные колебания кислорода в ( $C-O-C$ ) группе),  $1305 \text{ см}^{-1}$ ,  $1300 \text{ см}^{-1}$  (деформационные колебания ( $CH$ ) группы),  $1751 \text{ см}^{-1}$  (валентные колебания карбонильной группы ( $C=O$ )),  $2944 \text{ см}^{-1}$  (валентные ассиметричные колебания метильной ( $CH_3$ ) группы) (рис. 4.23).

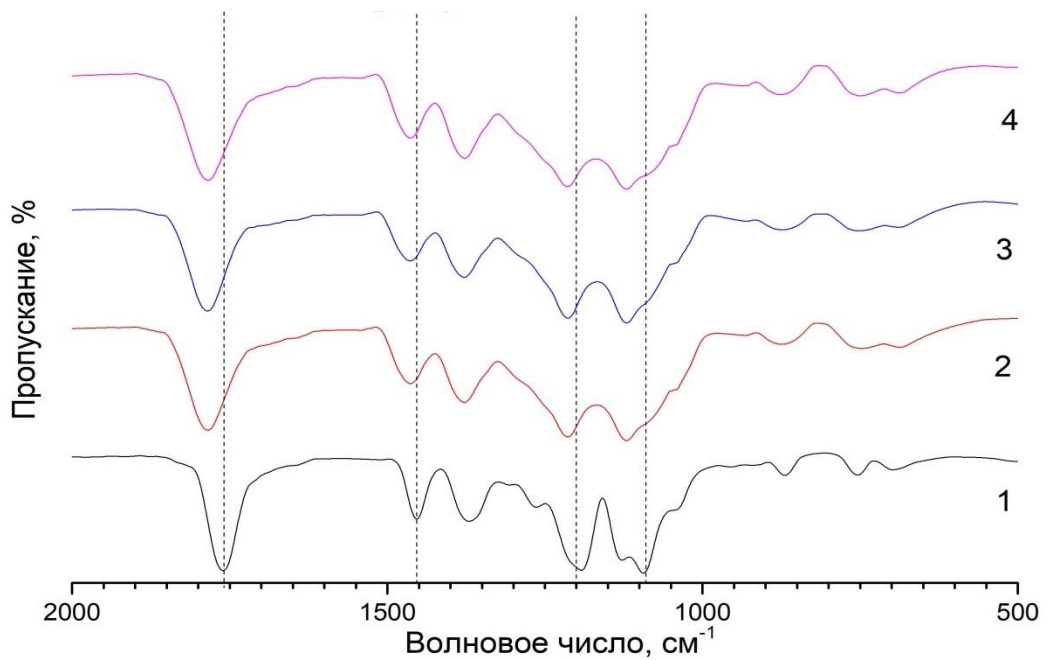


Рисунок 4.23 – ИК – спектры пропускания пленок ПМК: 1- исходные плёнки ПМК; 2 – плёнки ПМК после модификации плазмы при времени воздействия 30с, 3 – плёнки ПМК после  $\gamma$ -излучения, 4 – плёнки ПМК после модификации плазмы при времени воздействия 30с и  $\gamma$ -излучения

Однако, было выявлено увеличение и сдвиг пиков в области  $815 \text{ см}^{-1}$ , соответствующим валентным колебаниям  $\nu(C-COO)$ , исчезновение пиков в

1275  $\text{см}^{-1}$ , соответствующих колебаниям  $\delta(\text{CH}) + \nu(\text{C}-\text{O}-\text{C})$ , сдвиг 1760  $\text{см}^{-1}$  - валентных колебаний карбонильной группы ( $\text{C}=\text{O}$ ) [318, 380].

Анализ ИК-спектров плазменно-обработанных пленок ПМК после  $\gamma$ -излучения показал наличие смещения пика валентных колебаний  $\nu(\text{C}=\text{O})$  и  $\nu(\text{C}-\text{COO})$ , а также деформационно-ассиметричных колебаний  $\delta_{\text{as}}(\text{CH}_3)$  до 1712  $\text{см}^{-1}$  (димеры), 803  $\text{см}^{-1}$  и 1403  $\text{см}^{-1}$ . Кроме того, уменьшается интенсивность и происходит смещение пика деформационных колебаний  $\delta_2(\text{CH})$  на 1253  $\text{см}^{-1}$ . В области вращательных  $\text{gas}(\text{CH}_3)$  (1118-1056)  $\text{см}^{-1}$  и скелетных колебаний  $\gamma(\text{CC})$  и  $\gamma(\text{COC})$  (300-103)  $\text{см}^{-1}$  наблюдалось перекрытие полос и уширение пиков. Отмечено исчезновение пиков  $\delta_2(\text{C}-\text{CH}_3) + \delta\text{COC}$  на 347  $\text{см}^{-1}$ . Уширение и снижение интенсивности низкочастотного максимума также свидетельствует об изменении степени кристалличности фаз полимера, а их сдвиг может обуславливаться молекулярной вибрацией частиц во время возбуждения [436, 437].

#### **4.4 Влияние паровой стерилизации на свойства пленок полимолочной кислоты**

Электронно-микроскопическое исследование пленок ПМК после стерилизации паром показало, что стороны материала также имеют различную морфологию поверхности, зависимую от контакта выливаемого раствора с атмосферой или чашкой Петри: гладкую и более рельефную (рис. 4.24), как и в случае с исходным материалом. Однако, на внутренней поверхности визуально прослеживаются появления неровностей (рис. 4.24), которые, возможно, связаны с деформацией образцов вследствие влияния на них горячего пара под давлением. Деформации внешней стороны материала менее заметны из-за выраженной «рельефности» поверхности.

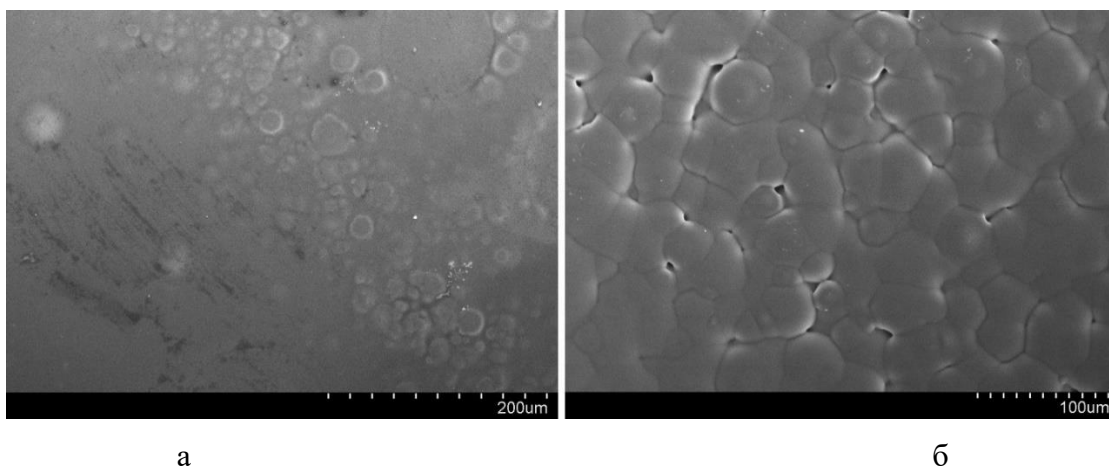


Рисунок 4.24 – РЭМ – изображение поверхности плёнок ПМК после воздействия паровой стерилизации: а) внутренняя; б) внешняя

Кроме того, в некоторых местах пленок ПМК после паровой стерилизации были замечены трещины материала (рис. 4.25), а также разрушение материала (рис. 4.26).

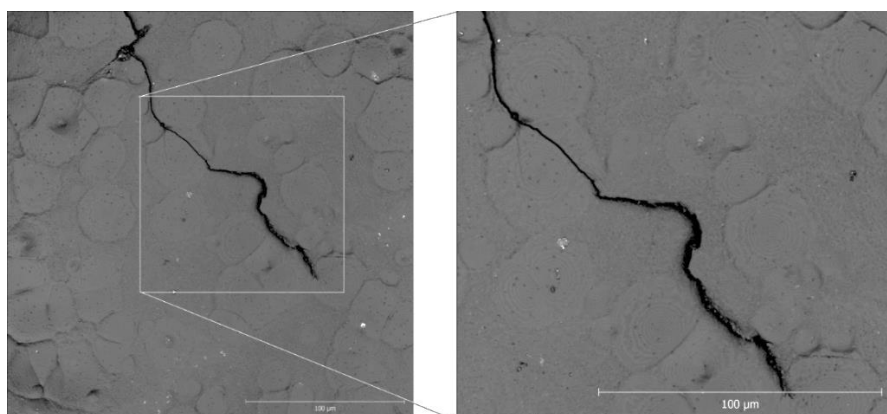


Рисунок 4.25 – Трещина поверхности плёнок ПМК после воздействия паровой стерилизации

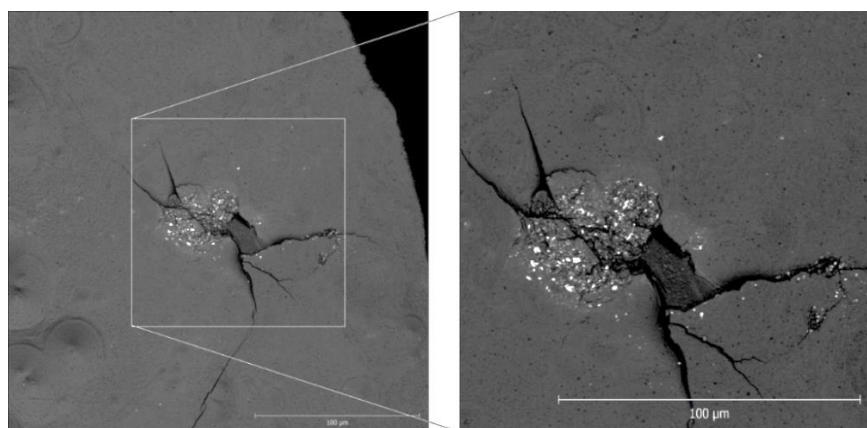


Рисунок 4.26 – Разрушение плёнок ПМК после воздействия паровой стерилизации

Анализ шероховатости пленок ПМК после паровой стерилизации показал, что среднеарифметическая шероховатость ( $R_a$ ) внутренней стороны материала составляет  $0,05 \pm 0,04$  мкм, внешней –  $0,2 \pm 0,05$  мкм, что больше исходного значения в 5 раз (внутренняя поверхность) и в 2 раза (внешняя) и статистически значимо по сравнению с исходными образцами ( $p < 0,01$ ). Различия других параметров шероховатости ( $R_q, R_t, R_z$ ) пленок ПМК после паровой стерилизации также статистически значимо по сравнению с исходным материалом ( $p < 0,01$ ) (рис. 4.27).

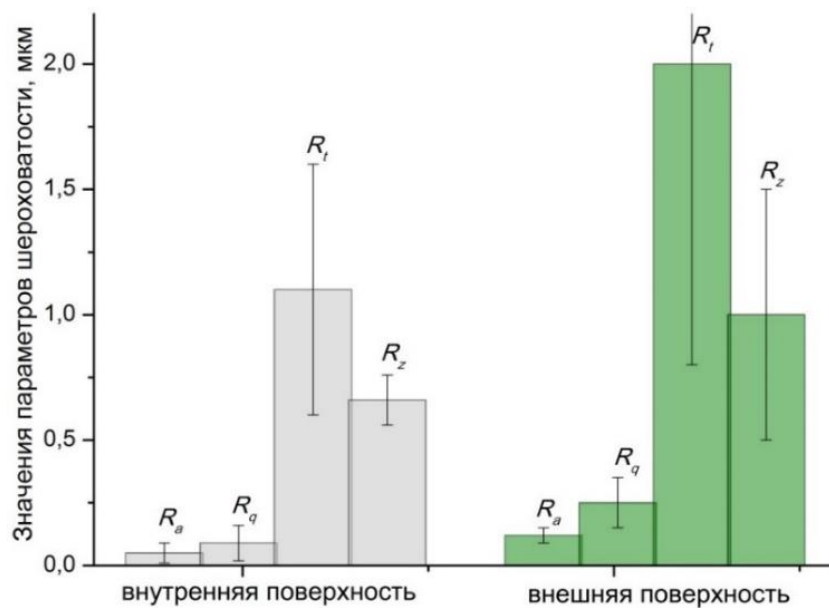


Рисунок 4.27 – Значения параметров шероховатости ( $R_a, R_q, R_t, R_z$ ) пленок ПМК после паровой стерилизации

Таким образом, стерилизация паром имеет негативное влияние на морфологию поверхности пленок ПМК, деформируя и местами разрушая материал, что, в свою очередь сказывается на увеличении параметров шероховатости исследуемого полимера.

Измерения краевого угла смачивания показало, что среднее значение для пленок после паровой стерилизации уменьшился на (15–17)% в сторону гидрофильности (рис. 4.28). Статистический анализ показал отсутствие

значимой разницы показателей смачивания между сторонами материала,  $p > 0,05$ .

Расчет свободной энергии поверхности показал, что стерилизация способствует увеличению значения энергии на 12% (внешняя сторона) и 24% (внутренняя сторона) (рис. 4.28). Причем, наблюдаемые изменения энергии произошли, как и в случае с плазменной модификацией, за счет увеличения полярной составляющей ( $\gamma^P$  в среднем увеличилась в 1,8 раза по сравнению с исходными значениями). Полярность пленки после стерилизации составила 0,5 (для исходного материала  $p = 0,36-0,39$ ). Статистический анализ показал отсутствие значимой разницы поверхностной энергии между сторонами материала,  $p > 0,05$ .

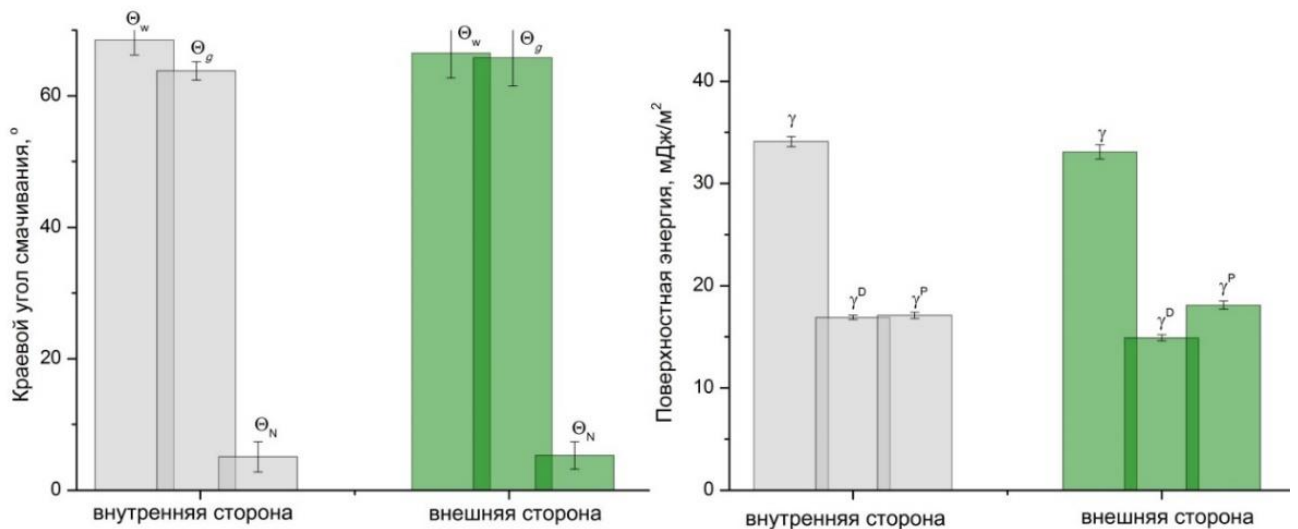


Рисунок 4.28 – Значения краевых углов смачивания (а) и поверхностной энергии (б) пленок ПМК после паровой стерилизации

На рисунке 4.29 представлен ИК-спектр пленки ПМК, на котором заметно некоторое уширение характерных полос  $2996 \text{ см}^{-1}$  и  $2944 \text{ см}^{-1}$ , обусловленных симметричными и ассиметричными колебаниями  $\nu\text{CH}_3$ , а также валентными колебаниями карбонильной группы  $\text{C} = \text{O}$  в области  $1768 \text{ см}^{-1}$  (рис. 4.29).

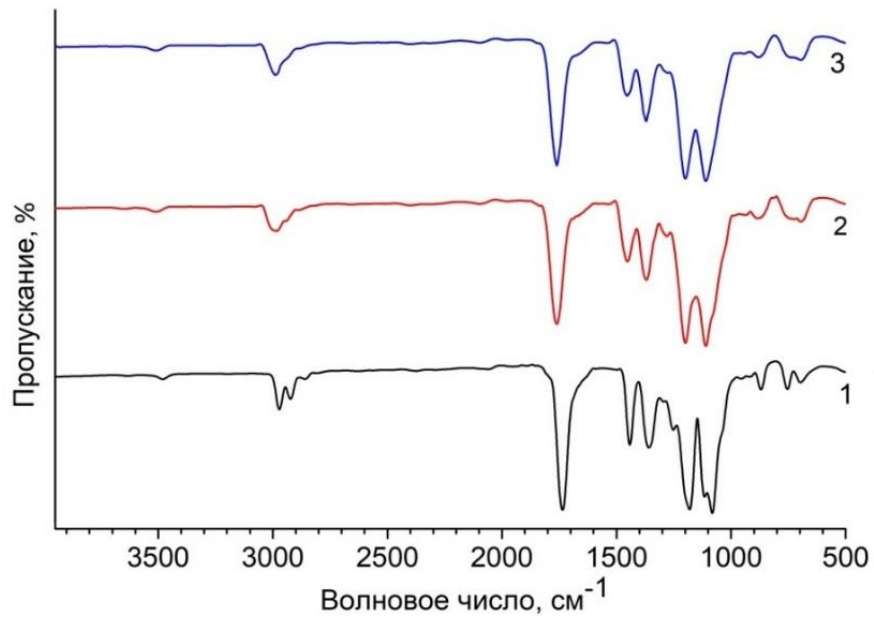


Рисунок 4.29 – ИК– спектр пропускания пленок ПМК: 1 – исходные пленки; 2 – пленки после паровой стерилизации 120°C; 3 – пленки после паровой стерилизации 130°C

Полученные спектры комбинационного рассеяния света (Рамановские спектры) пленок ПМК после паровой стерилизации показали отсутствие выраженных изменений по сравнению со спектром исходного материала и присутствие характерного для данного полимера набора линий (рис. 4.30).

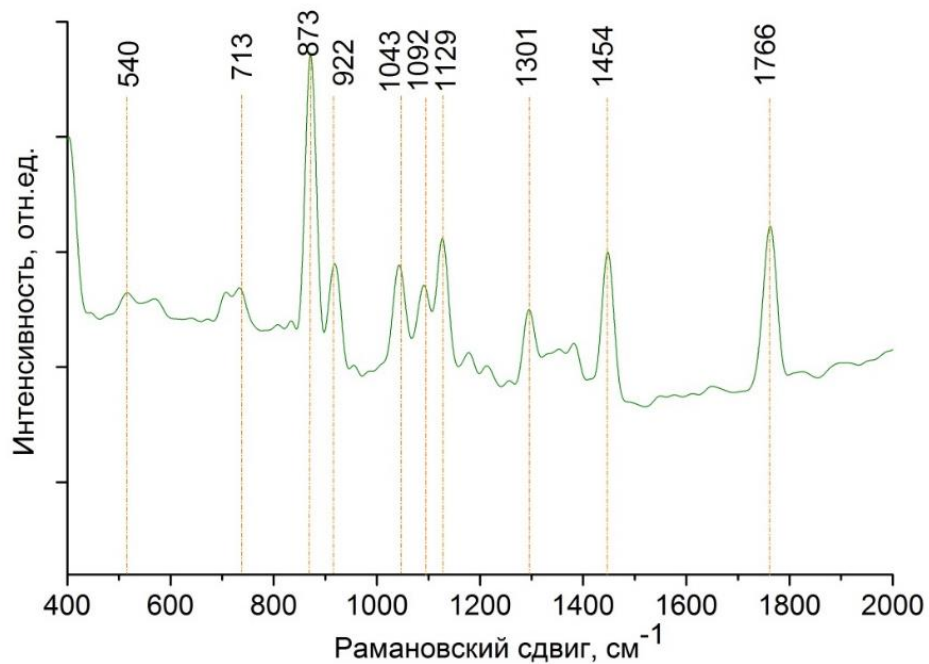


Рисунок 4.30 – Спектр комбинационного рассеяния плёнок ПМК после паровой стерилизации



Анализ шероховатости пленок ПМК после воздействия плазмы (время воздействия 30с) и паровой стерилизации показал, что среднеарифметическая шероховатость ( $R_a$ ) внутренней стороны материала составила  $0,06 \pm 0,04$  мкм, внешней –  $0,15 \pm 0,03$  мкм, что статистически не значимо по сравнению со стерилизованными пленками без модификации,  $p > 0,05$  (рис. 4.31).

Комбинированное воздействие стерилизации горячим паром под давлением и плазмы более 30 секунд привело к значительным дефектам с разрывами материала, в следствие чего образцы рассыпались на отдельные фрагменты, поэтому в дальнейшем их свойства не изучались.

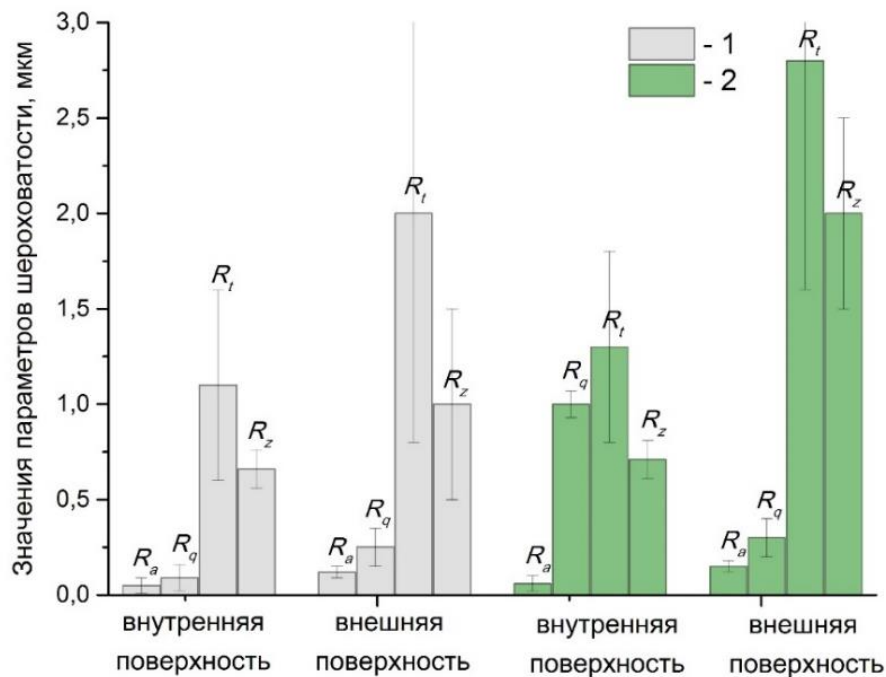


Рисунок 4.31 – Значения параметров шероховатости ( $R_a$ ,  $R_q$ ,  $R_t$ ,  $R_z$ ) немодифицированных (1) и модифицированных (2) в плазме (30с) пленок ПМК после паровой стерилизации

Комбинированное воздействие стерилизации горячим паром под давлением и плазмы более 30 секунд привело к значительным дефектам с разрывами материала, в следствие чего образцы рассыпались на отдельные фрагменты, поэтому в дальнейшем их свойства не изучались.



Так как пленка ПМК имела гидрофобные свойства (краевым углом смачивания  $\theta_w^\circ = 81,1^\circ \pm 1,3^\circ$ ) и была подвергнута модификации низкотемпературной плазмой атмосферного давления для улучшения его смачивания, то существует риск потери приобретённых свойств после стерилизации.

Измерения краевого угла смачивания материала после воздействия плазмы (30 секунд) и последующей стерилизации показало среднее значение:  $\theta_w^\circ = 65,4^\circ \pm 3^\circ$ ,  $\theta_N = 5,0^\circ \pm 2,3^\circ$ ,  $\theta_g^\circ = 60^\circ \pm 1,4^\circ$  (рис. 4.32).

Статистический анализ показал отсутствие значимой разницы углов смачивания между модифицированными в плазме и немодифицированными пленками после стерилизации,  $p > 0,05$  (рис. 4.32). Кроме того, анализ также показал отсутствие значимой разницы показателей смачивания между сторонами материала,  $p > 0,05$ .

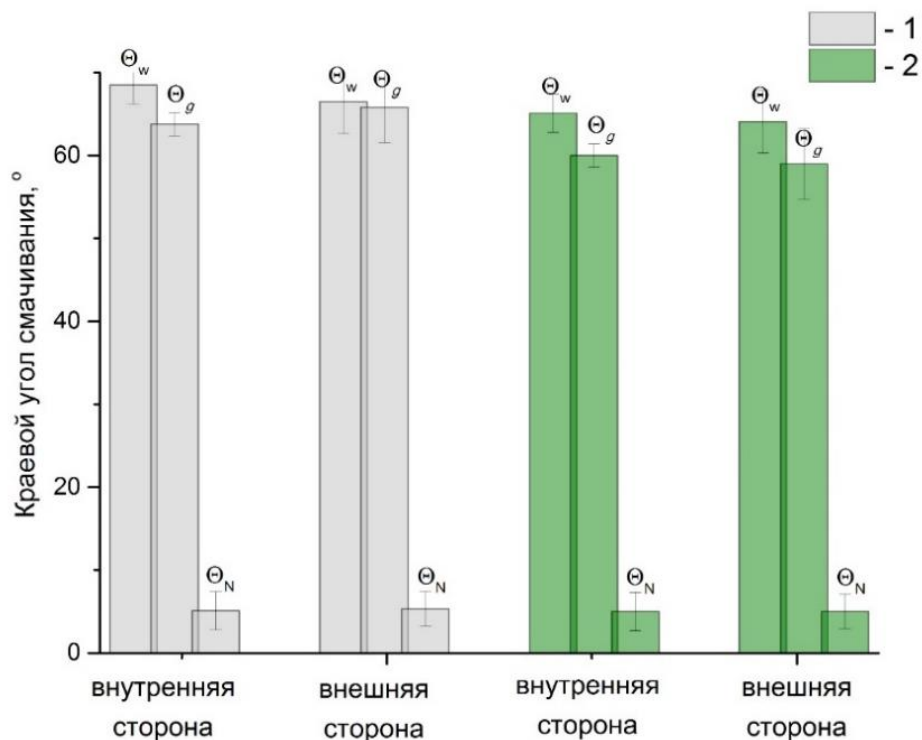


Рисунок 4.32 – Значения краевых углов ( $\theta_w^\circ, \theta_g^\circ, \theta_N^\circ$ ) немодифицированных (1) и модифицированных (2) в плазме (30с) пленок ПМК после паровой стерилизации

Статистический анализ также показал отсутствие значимой разницы поверхностной энергии между пленками, обработанных плазмой и без модификации, после паровой стерилизации, а также между сторонами материала,  $p > 0,05$  (рис. 4.33).

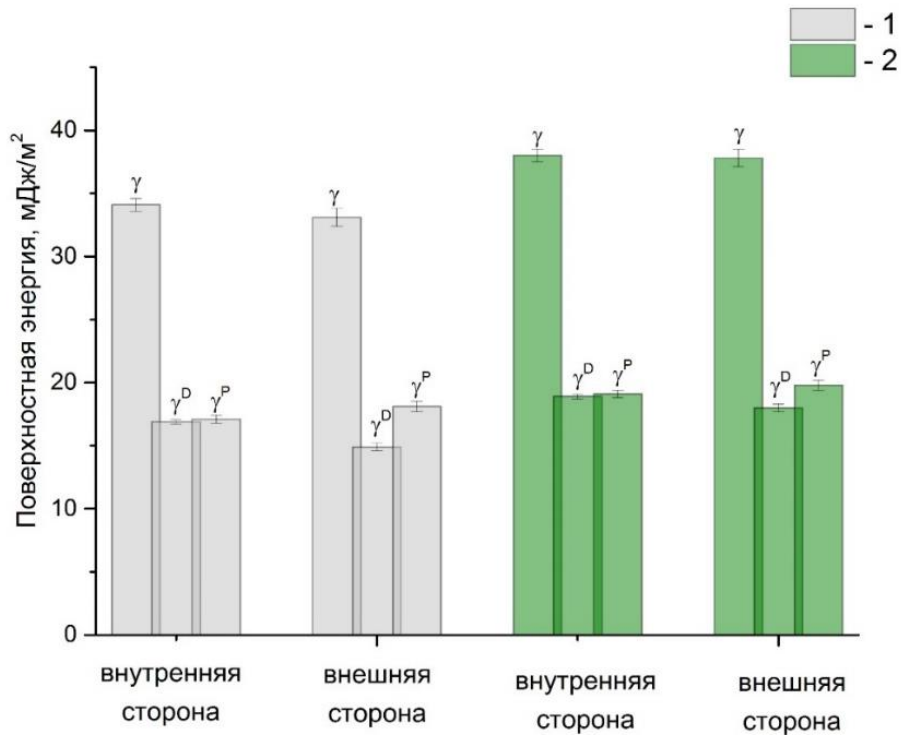


Рисунок 4.33 – Значения поверхностной энергии ( $\gamma$ ,  $\gamma^D$ ,  $\gamma^P$ ) немодифицированных (1) и модифицированных (2) в плазме (30с) пленок ПМК после паровой стерилизации

На ИК–спектрах модифицированных в плазме (время воздействия 30с) плёнок ПМК после паровой стерилизации, представленных рисунке 4.34, наблюдалась полоса  $3500 \text{ см}^{-1}$ , относящаяся к колебаниям  $\text{H}_2\text{O}$ , возможно адсорбированной на поверхности материала (рис. 4.34). Уширение полос  $2996 \text{ см}^{-1}$  и  $2944 \text{ см}^{-1}$  обусловлена симметричными и ассиметричными колебаниями  $\nu\text{CH}_3$ . Кроме того при анализе ИК-спектров наблюдалось перекрытие и уширение полос поглощения  $1132 \text{ см}^{-1}$ ,  $1110 \text{ см}^{-1}$ ,  $869 \text{ см}^{-1}$ ,  $756 \text{ см}^{-1}$ ,  $704 \text{ см}^{-1}$ , которые относятся к колебания сложным алифатическим полиэфиров  $\nu_s(\text{C}-\text{O}-\text{C})$ ,  $\nu(\text{C}-\text{COO})$  и  $\delta(\text{C}=\text{O})$ . Присутствие некоторого смещения полосы  $1768 \text{ см}^{-1}$  в область  $1793 \text{ см}^{-1}$ , относящееся к валентным колебаниям

карбонильной группы  $C = O$ , может быть обусловлено с изменениями кристалличности полимера в результате тепловой обработки [404, 405].

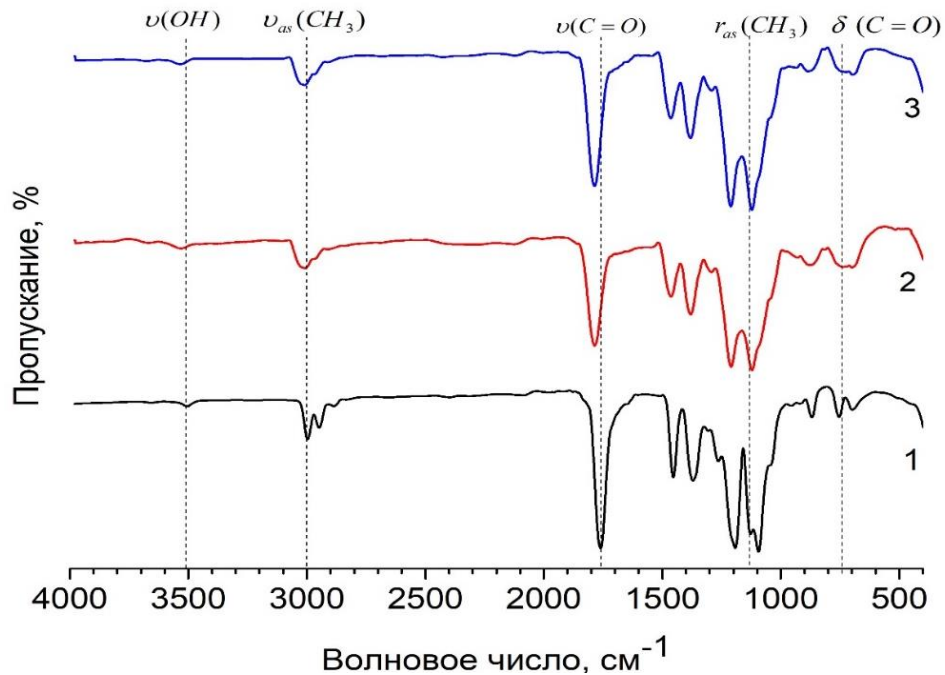


Рисунок 4.34 – ИК – спектр пропускания пленок ПМК: 1 – исходные пленки; 2 – пленки после паровой стерилизации 120°C; 3 – модифицированные в плазме (30 секунд) пленки после паровой стерилизации 120°C

Деконволюция спектральных линий по Гауссу в диапазоне (1700 – 1850)  $cm^{-1}$  (рисунок 4.35) показывает наличие дополнительных пиков при 1743  $cm^{-1}$ , 1756  $cm^{-1}$  и 1769  $cm^{-1}$  соответствующие модам А, В и  $E_1$ , а при совместной обработке плазмой и паром происходит сдвиг линии в область моды  $E_2$ .

В спектрах наблюдалось увеличение интенсивности пика деформационных колебаний  $\delta_2(CH)$  на 1293  $cm^{-1}$  плазменно-обработанных пленок ПМК после паровой стерилизации. Появившиеся нехарактеристические полосы умеренной интенсивности в области 1668 – 1549  $cm^{-1}$  соответствуют деформационным колебаниям  $\delta(NH)$  аминокетильной группы, а линии в области 900 – 803  $cm^{-1}$  – валентным колебаниям  $\nu(O - O)$ . Новый пик при 570  $cm^{-1}$  относится к деформационным колебаниям  $\delta_1(C - CH_3) + \delta(CSS)$ . Данные изменения можно объяснить изменением степени кристалличности,

что также подтверждает увеличение пика при  $873\text{ см}^{-1}$  относящейся к аморфной фазе ПМК [436, 437].

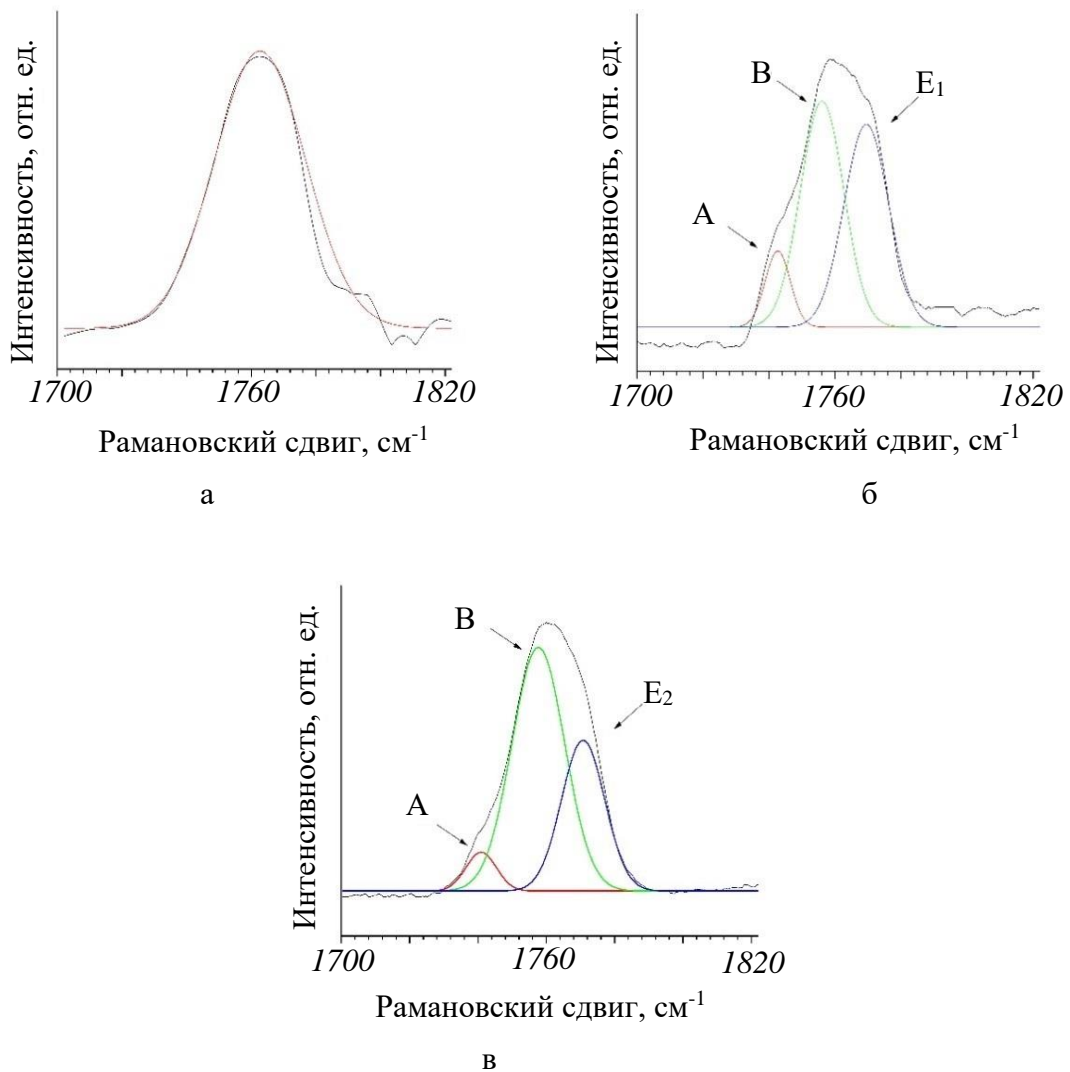


Рисунок 4.35 – Спектр комбинационного рассеяния ПМК в диапазоне  $(1700-1850)\text{ см}^{-1}$ : а – исходные пленки; б – пленки после паровой стерилизации  $120^{\circ}\text{C}$ ; в– модифицированные в плазме (30 секунд) пленки после паровой стерилизации  $120^{\circ}\text{C}$

#### 4.5 Изменения молекулярной массы плёнок полимолочной кислоты

При помощи эксклюзионной хроматографии были получены данные об изменении молекулярной массы материала, по которой можно будет судить о процессе разложения (гидролитической деструкции).

Сравнительный анализ молекулярных масс – среднечисловой ( $M_n$ ) и среднемассовой ( $M_w$ ) – исходного материала с пленками после модификации

плазмой выявил снижение данных показателей на 46% ( $M_n$ ) и 44% ( $M_w$ ) при плазменной обработке 30с, на 59% ( $M_n$ ) и 54% ( $M_w$ ) – при 60с; на 64% ( $M_n$ ) и 53% ( $M_w$ ) – при 90с (табл. 1). Кроме того,  $\gamma$ -облучение также способствует потере молекулярных масс исследуемого полимера на 64% ( $M_n$ ) и 61% ( $M_w$ ) (табл. 4.2). Однако комбинированного влияние плазмы и  $\gamma$ -иррадиации на изменение  $M_n$  и  $M_w$  привело к меньшему снижению молекулярной массы: 34% ( $M_n$ ) и 26% ( $M_w$ ) при времени обработки – 30с, 39% ( $M_n$ ) и 23% ( $M_w$ ) – 60с, 41% ( $M_n$ ) и 21% ( $M_w$ ) – 90с, что в среднем меньше показателя модифицированных образцов без стерилизации на 18,3% среднечисловой и на 27% среднемассовой массы.

На рисунке 4.36 представлены кривые молекулярно-массового распределения (ММР) пленок ПМК до и после модификации в плазме, свидетельствующие об унимодальное распределении.

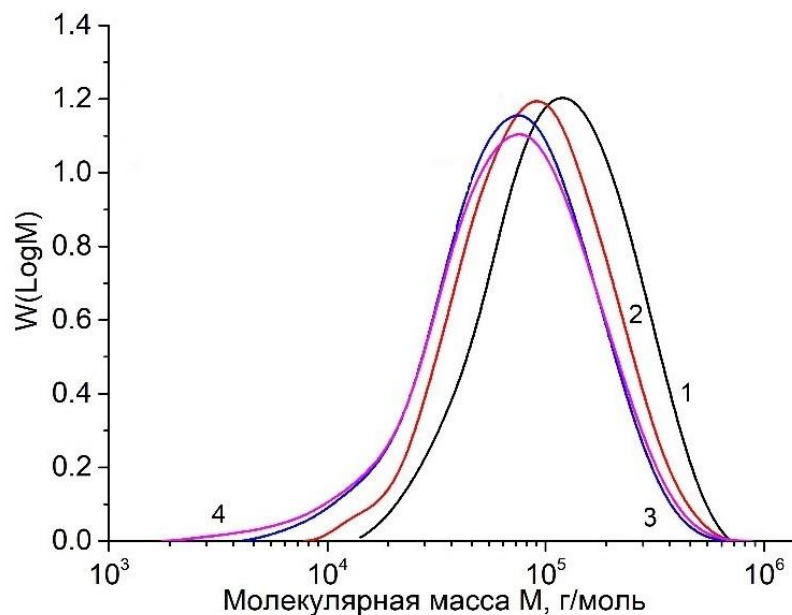


Рисунок 4.36 – Кривые молекулярно-массового распределения (ММР) плёнок ПМК до (1) и после модификации в плазме: 2 – время обработки плазмой 30с; 3 – время обработки плазмой 60с; 4 – время обработки плазмой 90с

Кроме того, данные рисунка 4.36 свидетельствуют о наличии одной фракции образцов до и после плазменной обработки и о полидисперсности

полимера  $M_w/M_n > 1$ . Исходные пленки ПМК имеют узкое ММР, среднечисловую массу  $M_n = 122500$  г/моль и среднемассовую  $M_w = 203500$  г/моль, а также низкий коэффициент полидисперсности  $M_w/M_n = 1,66$ . Образцы после модификации в плазме имели смещение ММР в сторону низких значений, что может быть связано с разрывом цепей полимера вследствие плазменной обработки.

Стерилизация  $\gamma$ -излучением как и плазменная обработка пленок ПМК смещает ММР в сторону низких значений (рис. 4.37). Подобные эффекты наблюдались в работе [438]. Однако, комбинированное воздействие плазмы и  $\gamma$ -стерилизации уширяет кривую распределения и смещает ее в сторону исходного положения пленок ПМК. Как показывают литературные [438] данные, подобный эффект связан с увеличением полидисперсности полимеров – с присутствием макромолекул в широком диапазоне значений молекулярной массы.

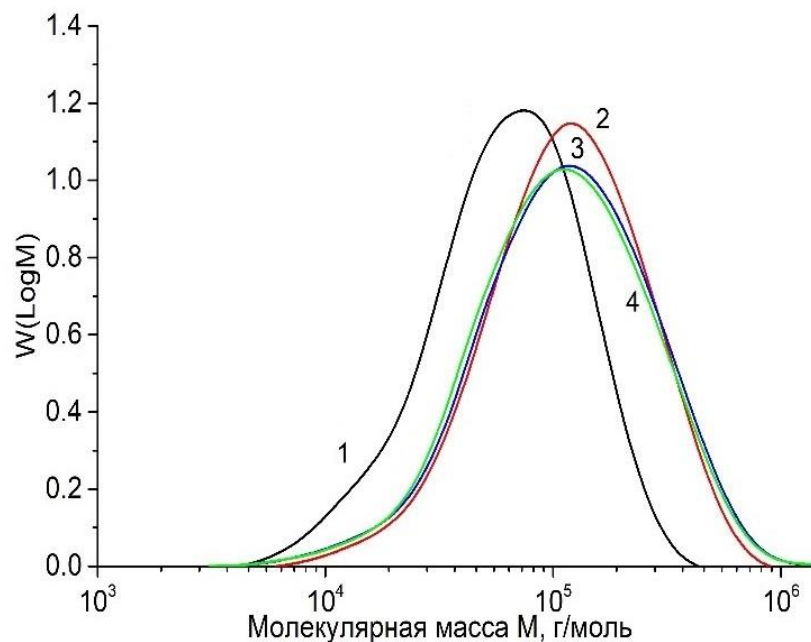


Рисунок 4.37 – Кривые молекулярно-массового распределения (ММР) немодифицированных плёнок ПМК после  $\gamma$ -излучения (1), а также модифицированных (2 – время обработки плазмой 30с; 3 – 60с; 4 – 90с) после  $\gamma$ -излучения

Сравнительный анализ молекулярных масс – среднечисловой ( $M_n$ ) и среднемассовой ( $M_w$ ) – исходного материала с пленками, находившимися в фосфатно-солевом буферном растворе при рН, близком к нейтральной среде ( $pH=7,76\pm 0,1$ ), в течении 24 часов выявил уменьшение молекулярной массы полимера (табл. 4.2) на 46,6% ( $M_w$ ).

Таблица 4.2– Молекулярно-массовые характеристики плёнок ПМК спустя 24ч

Образцы	$M_n$ , г/моль	$M_w$ , г/моль	$M_w/M_n$ , г/моль	Потери $M_w$ (%)	$M_n$ , г/моль	$M_w$ , г/моль	$M_w/M_n$ , г/моль	Потер и $M_w$ (%)
Время выдержки в растворе, ч	0 ч				24 ч			
Исходные	1,225 × 10 <sup>5</sup>	2,035 × 10 <sup>5</sup>	1,66	-	5,627 × 10 <sup>4</sup>	1,087 × 10 <sup>5</sup>	1,93	46,6
Плазма 30 сек	6,640 × 10 <sup>4</sup>	11,35 × 10 <sup>4</sup>	1,71	44,2	5,283 × 10 <sup>4</sup>	1,194 × 10 <sup>5</sup>	2,26	+5,4
Плазма 60 сек	4,993 × 10 <sup>4</sup>	9,334 × 10 <sup>4</sup>	1,87	54,1	5,239 × 10 <sup>4</sup>	1,113 × 10 <sup>5</sup>	2,12	+19,2
Плазма 90 сек	4,449 × 10 <sup>4</sup>	9,526 × 10 <sup>4</sup>	2,14	53,2	5,187 × 10 <sup>4</sup>	1,014 × 10 <sup>5</sup>	1,95	+6,44
γ- излучение	4,411 × 10 <sup>4</sup>	7,970 × 10 <sup>4</sup>	1,81	60,1	5,661 × 10 <sup>4</sup>	1,114 × 10 <sup>5</sup>	1,97	+39,8
γ- излучение + плазма 30 сек	8,040 × 10 <sup>4</sup>	1,502 × 10 <sup>5</sup>	1,87	26,2	5,836 × 10 <sup>4</sup>	1,081 × 10 <sup>5</sup>	1,85	28
γ- излучение + плазма 60 сек	7,417 × 10 <sup>4</sup>	1,563 × 10 <sup>5</sup>	2,11	23,7	5,308 × 10 <sup>4</sup>	1,129 × 10 <sup>5</sup>	2,13	28
γ- излучение + плазма 90 сек	7,209 × 10 <sup>4</sup>	1,593 × 10 <sup>5</sup>	2,21	21	5,052 × 10 <sup>4</sup>	1,092 × 10 <sup>5</sup>	2,16	31

Однако, анализ результатов выявил увеличение массы пленки после плазменной модификации по сравнению с исходным материалом,

выдержанном в буфере 24 часа (табл. 4.2). Так как деструкция низкомолекулярных фракций протекает быстрее, из полимера удаляются низкомолекулярные фракции, вследствие чего среднюю молекулярную массу определяют оставшиеся высокомолекулярные компоненты, что и обуславливает ее увеличение.

Согласно данным ММР пленок ПМК при их экспозиции в фосфатно-солевом буферном растворе в течении 168 часов (7 суток) при температуре 70°C кривые молекулярно-массового распределения образцов приобрели выраженный бимодальный характер с плечами, находящимися в низкомолекулярном хвосте хроматограммы (рис. 4.38, 4.39).

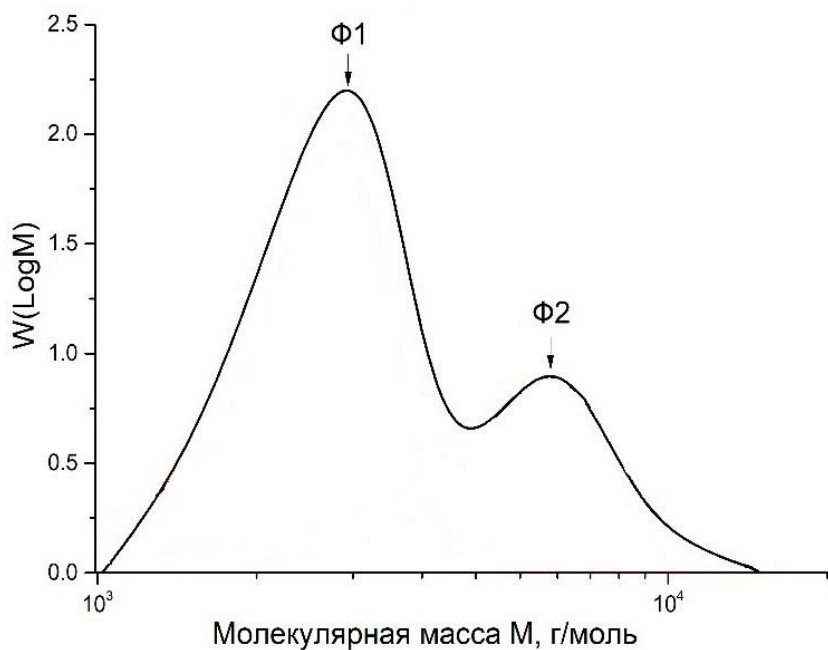


Рисунок 4.38 – Кривые молекулярно-массового распределения (ММР) плёнок ПМК на 7 день после погружения их в фосфатно-солевой буферный раствор ( $pH=7,76\pm 0,10$ )



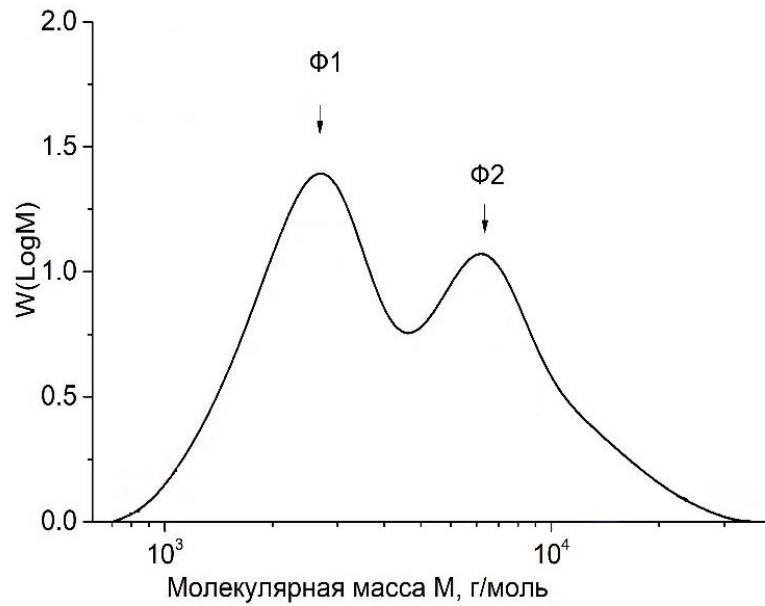


Рисунок 4.39 – Кривые молекулярно-массового распределения (ММР) плёнок ПМК после  $\gamma$ -стерилизации на 7 день после погружения их в фосфатно-солевой буферный раствор ( $\text{pH}=7,76\pm 0,10$ )

Причем бимодальность графиков наблюдалось у пленок ПМК после модификации в плазме, стерилизации и комбинированного воздействия плазмы и гаммы на образцы (рис. 4.40, 4.41).

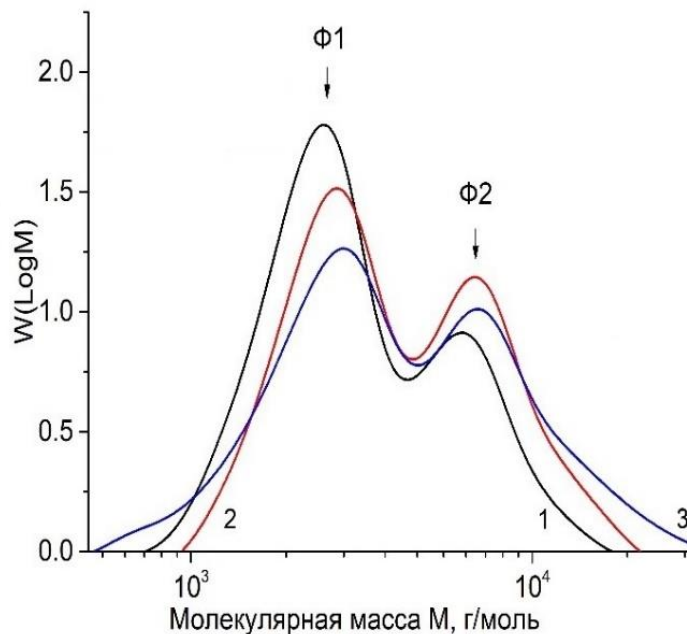


Рисунок 4.40 – Кривые молекулярно-массового распределения (ММР) плёнок ПМК после модификации в плазме на 7 день после погружения их в фосфатно-солевой буферный раствор ( $\text{pH}=7,76\pm 0,10$ ): 1 – время обработки плазмой 30 с; 2– время обработки плазмой 60 с; 3 – время обработки плазмой 90 с

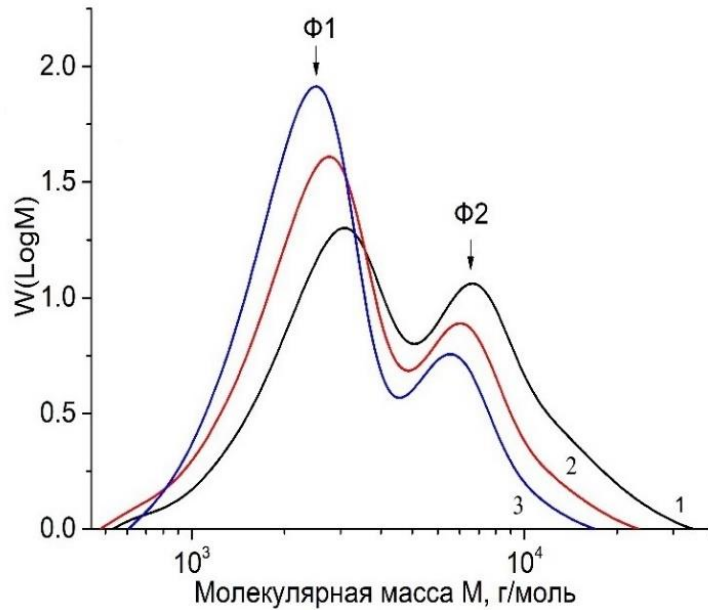


Рисунок 4.41 – Кривые молекулярно-массового распределения (ММР) модифицированных в плазме плёнок ПМК после  $\gamma$ -стерилизации на 7 день после погружения их в фосфатно-солевой буферный раствор ( $\text{pH}=7,76\pm 0,10$ ): 1 – время обработки плазмой 30с; 2– время обработки плазмой 60 с; 3 – время обработки плазмой 90с

Спустя 168 часов (7 суток) экспозиции пленок ПМК в фосфатно-солевом буферном растворе обнаружены значительные изменения молекулярной массы ( $M_n$  и  $M_w$ ) (табл. 4.3). Так,  $M_w$  (фаза 1) материала уменьшилась на 96,7% по сравнению с исходным значением до погружения в буфер и на 93,8% по сравнению с образцом, выдержанном в растворе 24 часа (табл. 4.3),  $p>0,05$ .

Схожие данные были получены у пленок ПМК после плазменной модификации:  $M_w$  (фаза 1) в среднем (в зависимости от времени обработки плазмой) уменьшилась на 92,8% по сравнению с значением до погружения в буфер и на 93% по сравнению с образцом, выдержанном в растворе 24 часа (табл. 4.3),  $p>0,05$ .

Снижение  $M_w$  модифицированных и простерилизованных пленок ПМК спустя 168 часов экспозиции в фосфатно-солевом буферном растворе в среднем (в зависимости от времени обработки плазмой) составляет 94,5% по сравнению с значением до погружения в буфер и на 92,4% по сравнению с образцом, выдержанном в растворе 24 часа (табл. 4.2),  $p>0,05$ .

Таблица 4.3 – Молекулярно-массовые характеристики плёнок ПМК спустя 168ч (7 суток)

Образцы	$M_n$ , г/моль	$M_w$ , г/моль	$M_w/M_n$ , г/моль	$M_n$ , г/моль	$M_w$ , г/моль	$M_w/M_n$ , г/моль
Время выдержки в растворе, ч	Фаза 1			Фаза 2		
Исходные	6,534 × 10 <sup>3</sup>	6,702 × 10 <sup>3</sup>	1,026	2,206× 10 <sup>3</sup>	2,41× 10 <sup>3</sup>	1,092
Плазма 30 сек	6,701 × 10 <sup>3</sup>	6,949 × 10 <sup>3</sup>	1,037	2,058 × 10 <sup>3</sup>	2,24 × 10 <sup>3</sup>	1,088
Плазма 60 сек	7,461 × 10 <sup>3</sup>	7,963 × 10 <sup>3</sup>	1,067	2,238 × 10 <sup>3</sup>	2,422 × 10 <sup>3</sup>	1,002
Плазма 90 сек	7,659 × 10 <sup>3</sup>	8,208 × 10 <sup>3</sup>	1,072	2,292 × 10 <sup>3</sup>	2,492 × 10 <sup>3</sup>	1,087
γ- излучение	7,204 × 10 <sup>3</sup>	7,721 × 10 <sup>3</sup>	1,072	2,113 × 10 <sup>3</sup>	2,291 × 10 <sup>3</sup>	1,084
γ- излучение + плазма 30 сек	7,711 × 10 <sup>3</sup>	8,239 × 10 <sup>3</sup>	1,068	2,362 × 10 <sup>3</sup>	2,562 × 10 <sup>3</sup>	1,085
γ- излучение + плазма 60 сек	6,825 × 10 <sup>3</sup>	7,071 × 10 <sup>3</sup>	1,036	2,058 × 10 <sup>3</sup>	2,293 × 10 <sup>3</sup>	1,114
γ- излучение + плазма 90 сек	6,332 × 10 <sup>3</sup>	6,539 × 10 <sup>3</sup>	1,033	1,775 × 10 <sup>3</sup>	2,042 × 10 <sup>3</sup>	1,15

Эффект снижения молекулярной массы материала связан с расщеплением длинных цепей полимолочной кислоты в результате гидролиза и образования более коротких ее цепей. Плазменная модификация и стерилизация пленок снижает скорость их деградации, что может быть объяснено кристаллизацией полимера вследствие влияния различных обработок.

Согласно литературным данным, гидролиз полукристаллических полиэфиров происходил в две стадии: (I) атака менее уплотненных аморфных областей, где диффузия гидrolитической среды происходит легче и быстрее, и (II) атака на кристаллические области, обычно гидрофобные и

непроницаемые для диффузии [439]. Кристаллическая фракция полимера затрудняет проникновение гидролитической среды в материал, что уменьшает набухание и разрыв полимерных цепей.

Таким образом деградация пленок ПМК, возникающая за счет разрывов сложноэфирных связей основной цепи, зависит от вида обработки поверхности материала. Комбинированное воздействие плазмы и стерилизации незначительно уменьшает скорость растворения полимера в связи с кристаллизацией его структуры, что затрудняет проникновение гидролитической среды в материал и уменьшает набухание и разрыв полимерных цепей.

#### **4.6 Изменение массы плёнок полимолочной кислоты в результате деградации**

Помимо молекулярной массы образцов в результате деградации материала была оценена потеря массы самих пленок для оценки растворения полимера в фосфатно-солевом буферном растворе.

На рисунке 4.42 приведена относительная потеря массы плёнок на основе ПМК до и после обработки плазмой спустя 24 часа после погружения их в фосфатно-солевой буферный раствор. Согласно полученным данным спустя сутки снижение веса материала варьировалось от 1% до 3% в зависимости от времени обработки плазмой, что свидетельствовало о начале процесса гидролитической деструкции поверхности полимера.

Потеря массы пленки после  $\gamma$ -стерилизации спустя 24 часа погружения в фосфатно-солевой буферный раствор составила 1,9% (рис. 4.42).

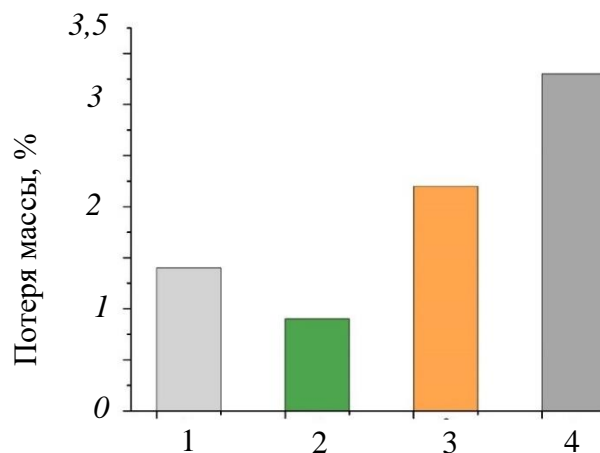


Рисунок 4.42 – Потеря массы плёнок ПМК спустя 24 часа после погружения их в фосфатно-солевой буферный раствор: 1 – исходная; 2 – модифицированные в плазме (время обработки 30с) пленка; 3 модифицированные в плазме (60с) пленка; 4 – модифицированные в плазме (90с) пленка

Интересен факт, что стерилизация модифицированных в плазме образцов незначительно замедляет процесс деградации материала: потеря массы составила в среднем 1,5% (рис. 4.43).

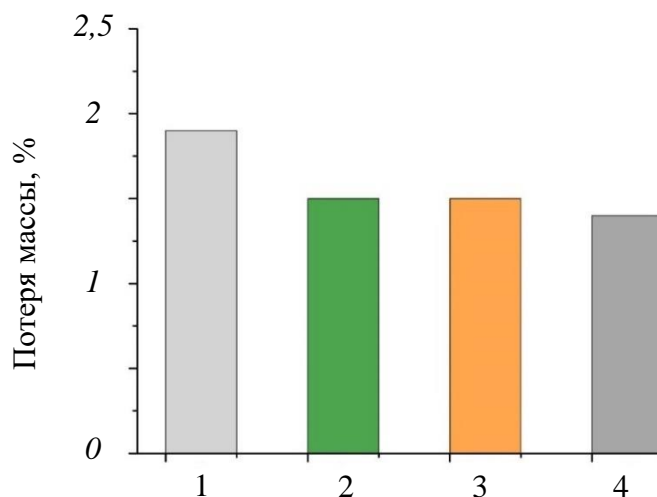


Рисунок 4.43 – Потеря массы плёнок ПМК спустя 24 часа после погружения их в фосфатно-солевой буферный раствор: 1 – немодифицированная пленка ПМК после  $\gamma$ -стерилизации; 2 – модифицированные в плазме (время обработки 30с) пленка после  $\gamma$ -стерилизации; 3 модифицированные в плазме (60с) пленка после  $\gamma$ -стерилизации; 4 – модифицированные в плазме (90с) пленка после  $\gamma$ -стерилизации

Согласно современным представлениям сроки растворения деградируемого материала меньше у аморфного, с низкой степенью кристалличности [440]. Так как плазменное воздействие в комбинации с  $\gamma$ -иррадиацией кристаллизуют полимер, время деградации пленки ПМК увеличиваются.

Значительная потеря массы пленок наблюдалось спустя 168 часов выдерживания образцов в фосфатно-солевом буферном растворе. Так, снижение веса исходного материала увеличилось до 35,3%, пленок после модификации в плазме от 30% до 34%.

Потеря массы пленки после  $\gamma$ -стерилизации спустя 168 часов погружения в фосфатно-солевой буферный раствор составила 45,4%. Сохраняется тенденция снижения скорости деградации полимера после комбинированного воздействия плазмы и  $\gamma$ -иррадиации: потеря массы составила в среднем 27,5%.

Известно, что скорость гидролиза зависит от ряда факторов, таких как степень гидрофильности полимера, его молекулярная масса и кристалличность. Скорость разложения меньше для материалов с более низкой молекулярной массой, большей гидрофильностью и большим содержанием аморфной части [440]. Полученные результаты соотносятся с работами мировых ученых [439, 440].

#### **4.7 Кератоимплантат из полимолочной кислоты**

Разработка кератоимплантата из полимолочной кислоты включает в себя не только создание пленки полилактида нужной толщины и формирования из полимерной матрицы трековой мембраны, которая была получена путем облучения пленки полимолочной кислоты тяжелыми ионами ксенона и последующего щелочного травления. Главная цепь макромолекулы ПМК содержит сложноэфирную связь, и следует ожидать, что для формирования пористой структуры в облученных ионами пленках можно использовать реакцию щелочного гидролиза, как в случае с ПЭТФ. Вместе с

тем известно, что оптимальные условия травления треков (концентрация щелочи, температура) зависят от вида полимера, и могут различаться даже для полимеров, относящихся к одному и тому же классу, в связи с этим, условия травления облученных пленок полимолочной кислоты подбирались эмпирически, с варьированием концентрации, температуры травителя, а также времени травления. Кроме того травлению подвергались исходные, необлученные, пленки из ПМК и облученные тяжелыми ионами.

Тестовое травление необлученных пленок из ПМК проводилось в 0,1М NaOH при температуре травления 18°C. Согласно полученным результатам заметного изменения массы и толщины плёнок при данной концентрации раствора не наблюдалось: потеря массы образцов составила около 3% при времени травления 1 час (рис. 4.44). При температуре 54°C потеря массы пленки составила 8% (рис. 4.45). В связи с этим, было принято решение увеличить концентрацию раствора NaOH до 1,0М и 2,0М.

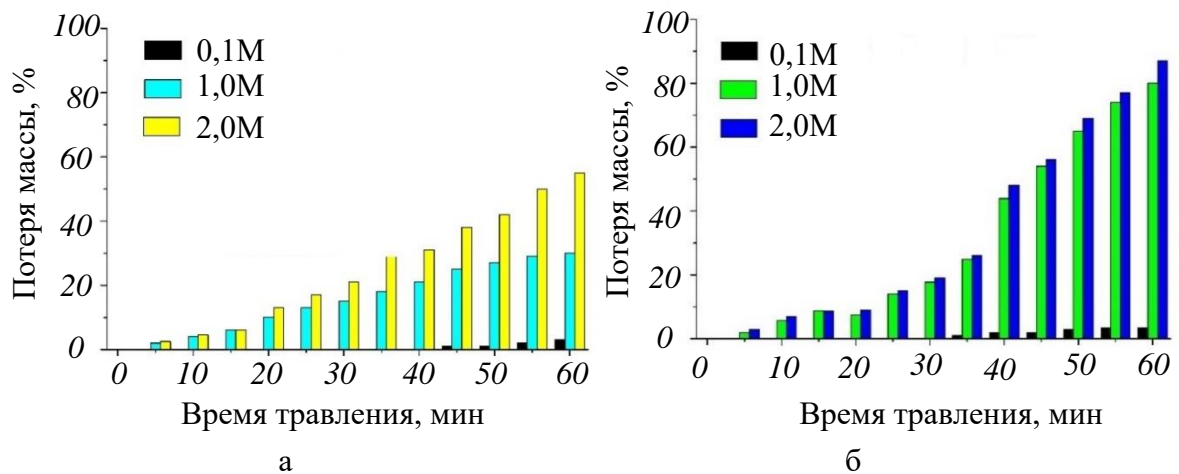


Рисунок 4.44 – Зависимость потери массы от времени травления исходных плёнок ПМК при температурах: а) 18°C; б) 34°C

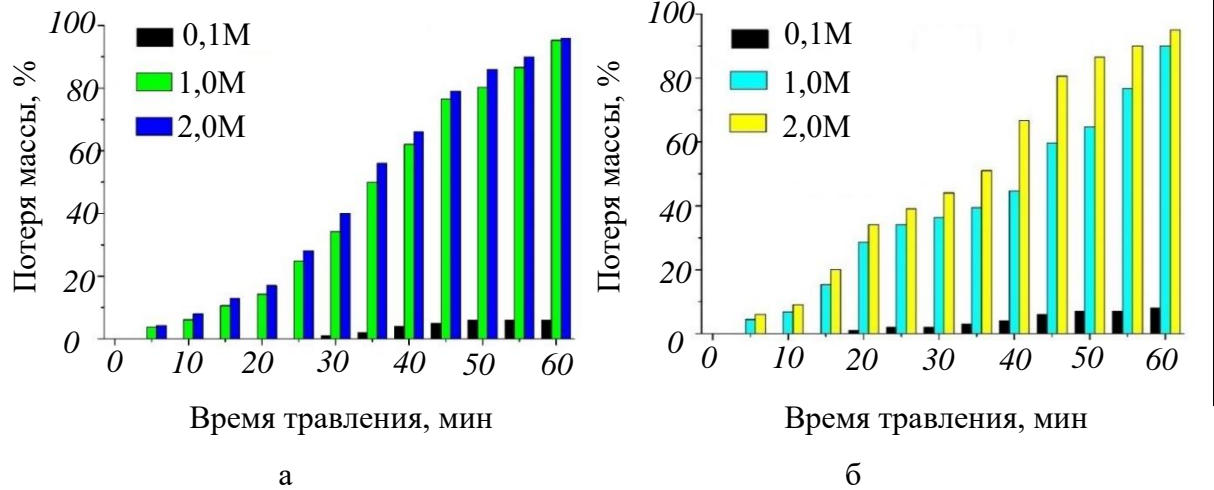


Рисунок 4.45 – Зависимость потери массы от времени травления исходных плёнок ПМК при температурах: а) 44°C; б) 54°C

Увеличение концентрации раствора NaOH до 2,0М повышало потерю массы плёнок ПМК в среднем на 12 – 13 % по сравнению с концентрацией 1,0М. Коэффициент детерминации  $R^2$  находился в пределах  $0,98 \div 0,99$ .

На рисунках 4.46, 4.47 представлены зависимости потери массы пленок из ПМК от времени травления при различных температурах в растворе 1,0М NaOH, где видна корреляция потеря массы материала от нагрева.

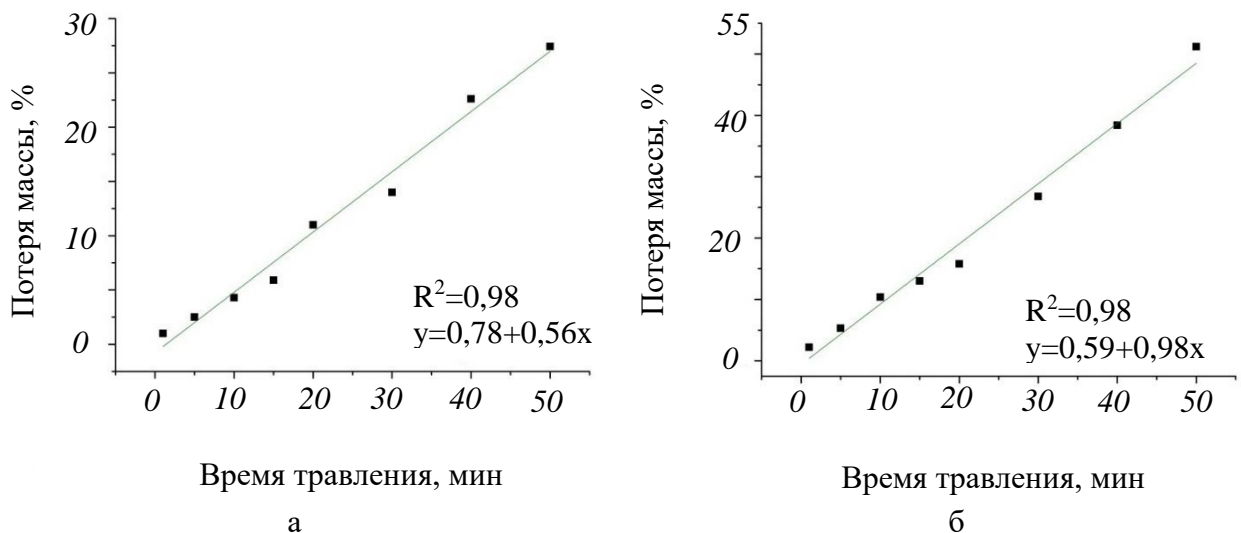


Рисунок 4.46 – Зависимость потери массы пленок ПМК от времени травления при температурах 18°C (а), 34°C (б) в 1,0М NaOH



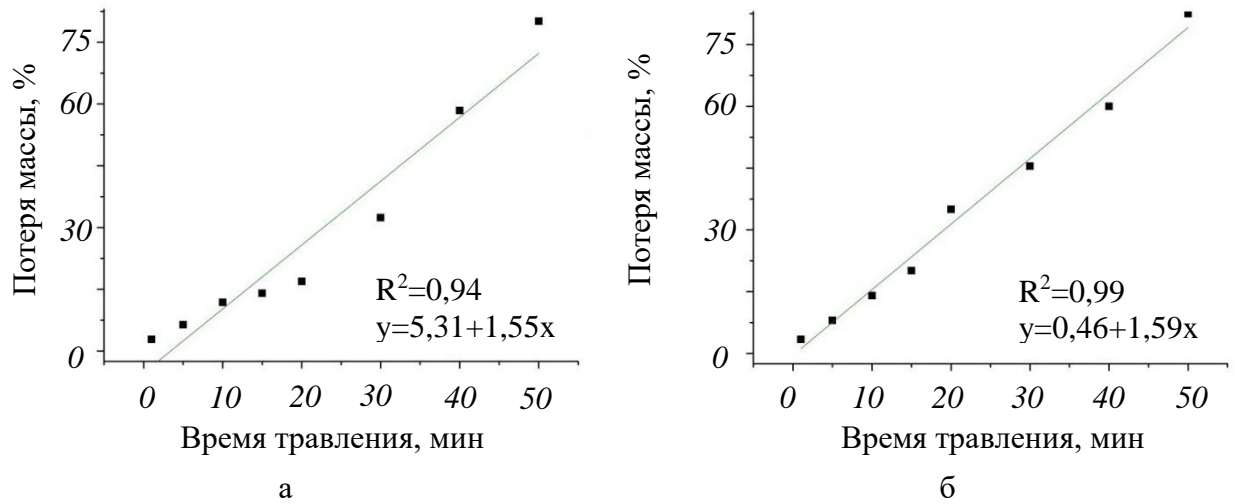


Рисунок 4.47 – Зависимость потери массы пленок ПМК от времени травления при температурах 44°C (а), 54°C (б) в 1,0М NaOH

Нагрев 1,0М NaOH раствора до 54°C значительно способствует потере массы пленок – до 85%, в то время как раствор температурой 18°C снижает массу материала до 30% при максимальной выдержке (50 мин). Следует отметить, что увеличение температуры раствора NaOH выше температуры стеклования полимера (55°C–65°C), а именно до 70 °C, привело к сильной деформации и скручиванию образцов. На основании вышесказанного было принято решение увеличить концентрацию раствора, что может сократить время травления на несколько порядков.

Кроме потери массы материала в работе была определена объёмная скорость травления  $V_b$  плёнок ПМК в диапазоне от 5 до 60 минут с шагом в 5 минут в растворе NaOH различных концентраций (0,1М, 1,0М и 2,0М) (рис. 4.48, 4.49). Для расчёта скорости травления в объеме плёнки использовалось соотношение [422]:

$$V_b = \frac{\Delta m}{2S \cdot \rho \cdot t} \quad (4.1)$$

где  $\Delta m$  – изменение массы плёнки ПМК до и после травления (г),  $S$  – площадь образца (см<sup>2</sup>),  $\rho$  – плотность плёнки (г/см<sup>3</sup>) и  $t$  – время травления (мин).

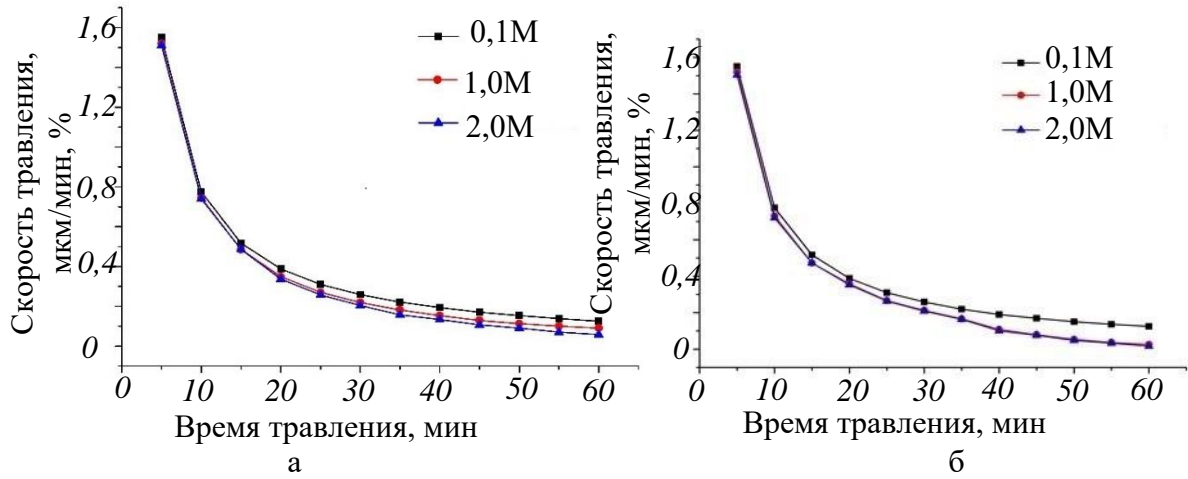


Рисунок 4.48 – Зависимость объемной скорости травления  $V_b$  плёнки ПМК от времени при концентрации 0,1М, 1,0М и 2,0М и температуры травления 18°C (а) и 34°C (б)

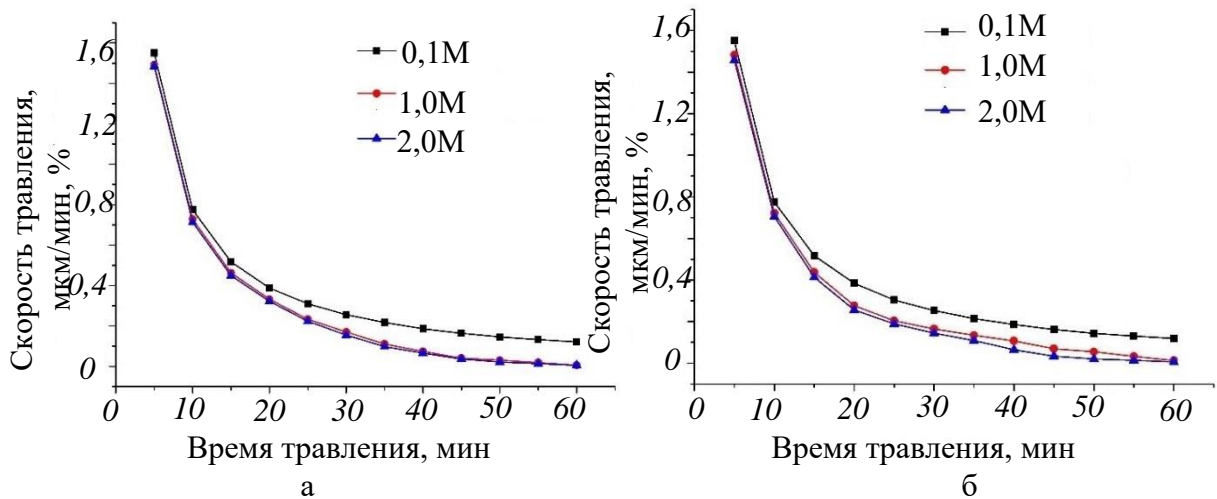


Рисунок 4.49 – Зависимость объемной скорости травления  $V_b$  плёнки ПМК от времени при концентрации 0,1М, 1,0М и 2,0М и температуры травления 44°C (а) и 54°C (б)

На основании полученных данных были определены оптимальные параметры для травления облученных ионами Хе плёнок ПМК, позволяющие минимально деструктировать «матрицу» будущих ТМ.

Наиболее оптимальным являлась температура 44°C, концентрация 1,0М. Травление при заданных условиях не вызывало разрушения и деформацию пленки и формировало входные и выходные отверстия пор, согласно данным микроскопии. На рисунке 4.50 представлены изображения внешних сторон

полученной мембраны ПМК после травления облучённых плёнок ионами  $^{132}\text{Xe}^{+26}$  при температуре  $44^\circ\text{C}$  (рис. 4.50).

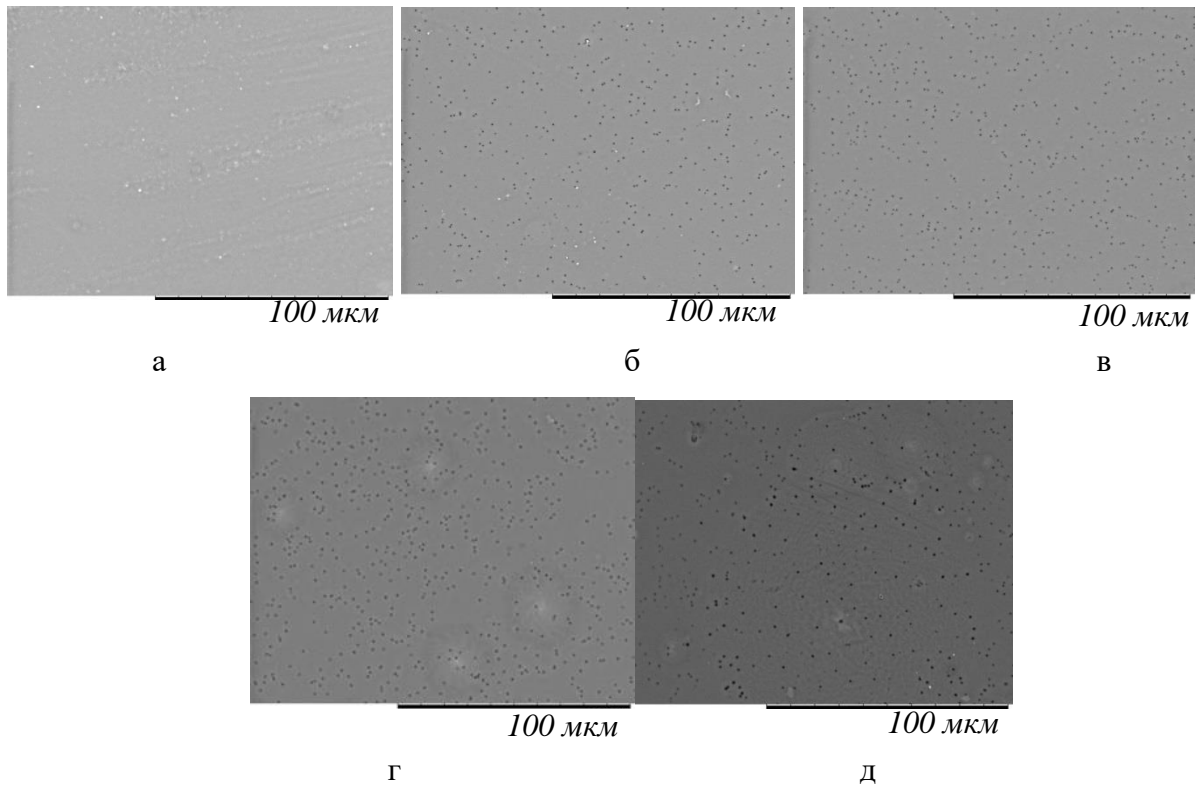


Рисунок 4.50 – Мембраны на основе ПМК, полученные путем травления в 1,0М NaOH при температуре  $44^\circ\text{C}$  в течении: а) 5 мин; б) 10 мин; в) 15 мин; г) 20 мин; д) 30 мин

Увеличение времени травления ведет к заметному протравливанию пор (рис. 4.47). На рисунке 4.51 представлена микрофотография полученной мембраны из ПМК при травлении в 1,0М NaOH при температуре  $44^\circ\text{C}$  в течении 15 мин.

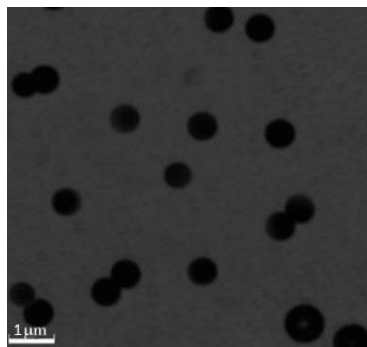


Рисунок 4.51 – РЭМ – изображения полученной мембраны из ПМК после травления в 1,0М NaOH при температуре  $44^\circ\text{C}$  в течении 15 мин

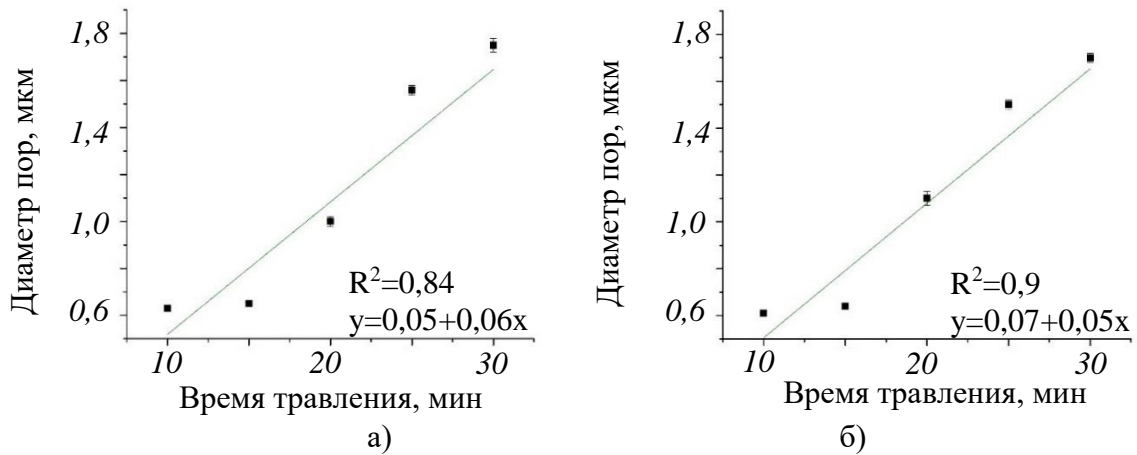


Рисунок 4.52 – Зависимость среднего диаметра пор ТМ на основе ПМК от времени травления при температуре 44°C: а) внешняя сторона; б) внутренняя сторона

Средний размер пор полученной мембраны на основе ПМК от времени травления при температуре 44°C варьировался от  $(0,58\pm 0,02)$  мкм до  $(1,5\pm 0,02)$  мкм. При травлении при 34°C диаметр пор составлял от  $(0,20\pm 0,01)$  мкм до  $(0,50\pm 0,01)$  мкм. Средний диаметр пор после травления при температуре 54°C наблюдался от  $(0,40\pm 0,02)$  мкм до  $(1,80\pm 0,02)$  мкм (табл. 4.4, рис. 4.52).

Таблица 4.4 – Средний диаметр пор по методу «точка пузырька» ТМ, полученных травлением облученных плёнок ПМК в 1,0М растворе NaOH

Время травления, мин	Диаметр пор, мкм		
	34°C	44°C	54°C
5	ниже предела обнаружения	ниже предела обнаружения	0,48
10	ниже предела обнаружения	0,63	1,10
15	0,26	0,65	1,80
20	0,38	1,00	1,89
25	0,4±0,01	1,56	образец разрушился
30	0,57	1,75	образец разрушился

Стоит отметить, что травление при температуре 54°C более 20 минут в растворе приводило к заметной деформации пленок, потери их прочности и последующему разрушению.

Полученные значения (табл. 4.4) коррелируют с диаметрами пор, определенными по РЭМ – изображениям, а также подтверждают наличие сквозных пор и целостность ТМ.

Средняя плотность пор (число пор на единицу площади мембраны) трековых мембран на основе ПМК составило  $(3,2 \pm 0,4) \times 10^6$  пор/см<sup>2</sup>.

Таким образом, оптимальным режимом травления для получения трековых мембран из облучённых <sup>132</sup>Xe<sup>+26</sup> пленок ПМК является травление треков в 1,0М растворе NaOH при температуре 44°C. При температуре травителя свыше 44°C отмечается ухудшение структурных характеристик мембран.

Немаловажным параметром, влияющим на транспортные характеристики ТМ, является форма пор во всём объеме, для исследования которой необходимо получить недеформированный торцевой скол. Согласно литературным источникам хрупкое разрушение ТМ возможно при температуре жидкого азота, при условии, что пористость мембраны  $\geq 10\%$  [442]. Однако, протравленная облученная пленка ПМК после погружения в жидкий азот независимо от длительности выдержки оставалась пластичной и расколу не подлежала. Охрупчивание ПМК при помощи мягкого фотоокисления [443] также не дало эффекта. Поэтому полученную ТМ охрупчивали гидролитически в паровом автоматическом стерилизаторе ГПа-10 ПЗ в течение 20 мин при давлении 0,2 МПа и температуре 130°C – 132°C, охлаждали при температуре (-195,75 °C) жидкого азота в течение 15 мин и раскалывали. На рисунке 4.53–4.55 представлены микрофотографии поперечных сколов ТМ на основе ПМК, полученных при температуре травления 44С и различного времени (20, 25 и 30 минут). Продольный разрез поры приближен к цилиндрической, однако стоит отметить, что местами форма больше напоминает «песочные часы», что особенно заметно при

травлении 30 минут (рис. 4.53, 4.54, 4.55). Известно, что процесс образования сквозного канала в материале описывается моделью, включающую два параметра: скорость травления вдоль трека ( $V_T$ ) и скорость травления неповрежденного материала ( $V_B$ ) [291, 444]. При соотношении скоростей травления  $V_T/V_B$  равным 30 каналы пор имеют сужение в толще мембраны, формируя геометрию сквозного канала, напоминающего песочные часы. Для получения цилиндрического отверстия необходимо, чтобы  $V_T/V_B$  была порядка  $10^3$ .

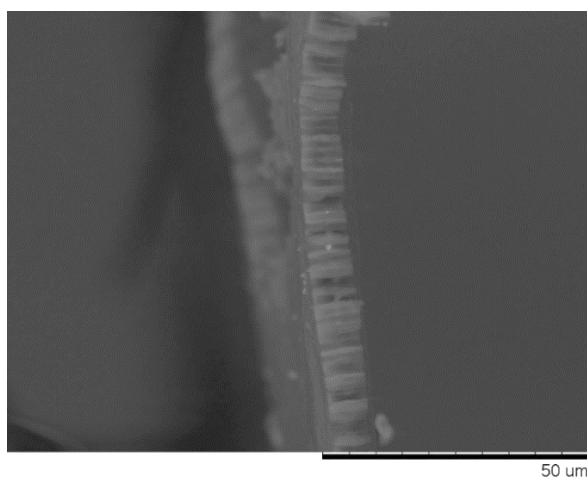


Рисунок 4.53 – РЭМ – изображение скола ТМ на основе ПМК при температуре травления 44°C и времени – 15 минут

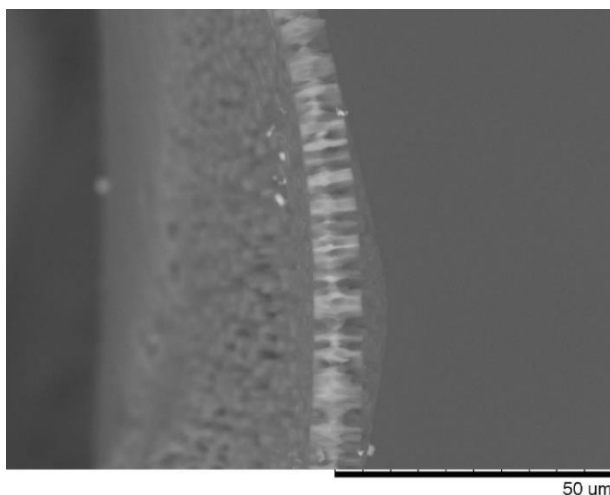


Рисунок 4.54 – РЭМ – изображение скола ТМ на основе ПМК при температуре травления 44°C и времени – 25 минут

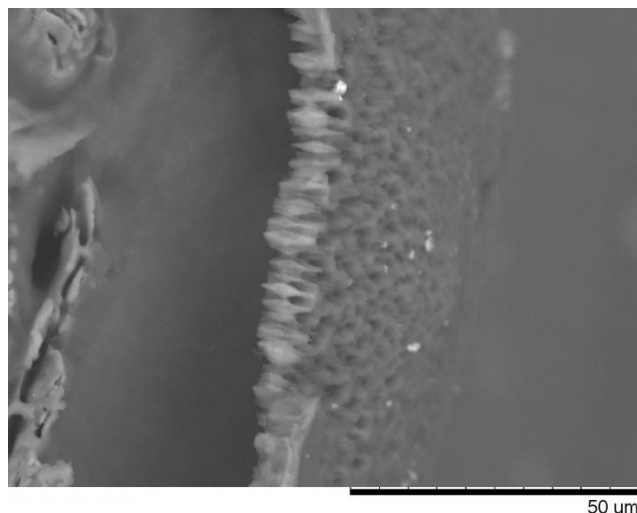


Рисунок 4.55 – РЭМ – изображение скола ТМ на основе ПМК при температуре травления 44°C и времени – 30 минут

Кроме того, при времени травления 30 минут «цилиндрическая» геометрия пор несколько деформировалась (рис. 4.55).

Анализ шероховатости мембран из ПМК после травления при температуре 44°C и времени 10 минут показал, что среднеарифметическая шероховатость ( $R_a$ ) внутренней поверхности материала без пор составила  $6,0 \pm 0,3$  нм, внешней –  $12,6 \pm 0,3$  нм,  $p > 0,05$  (табл. 4.5). Интересен следующий факт: с увеличением времени травления с 10 минут до 15 минут параметр  $R_a$  растет с 6,0 нм до 9,3 нм (внутренняя сторона) и с 12,6 нм до 18,2 нм, что соответствует увеличению на 35,5% и 30,8%.

Однако, начиная с 20 минут и до 30 минут данный показатель падает до 4,1 нм (внутренняя сторона) и 4,5 нм (внешняя сторона), что соответствует уменьшению на 55,9% и 75,3% по сравнению данными 15 минут и на 31,6% и 64,3% по сравнению данными 10 минут, делая стороны одинаково «сглаженными» (подтверждается данными АСМ),  $p < 0,05$  (табл. 4.5). Данный факт возможно связать с формированием сильно протравленной поверхности материала в результате продолжительного нахождения пленки в травителе.

Таблица 4.5 – Средние параметры шероховатости поверхности ТМ на основе ПМК при температуре травления 44°C

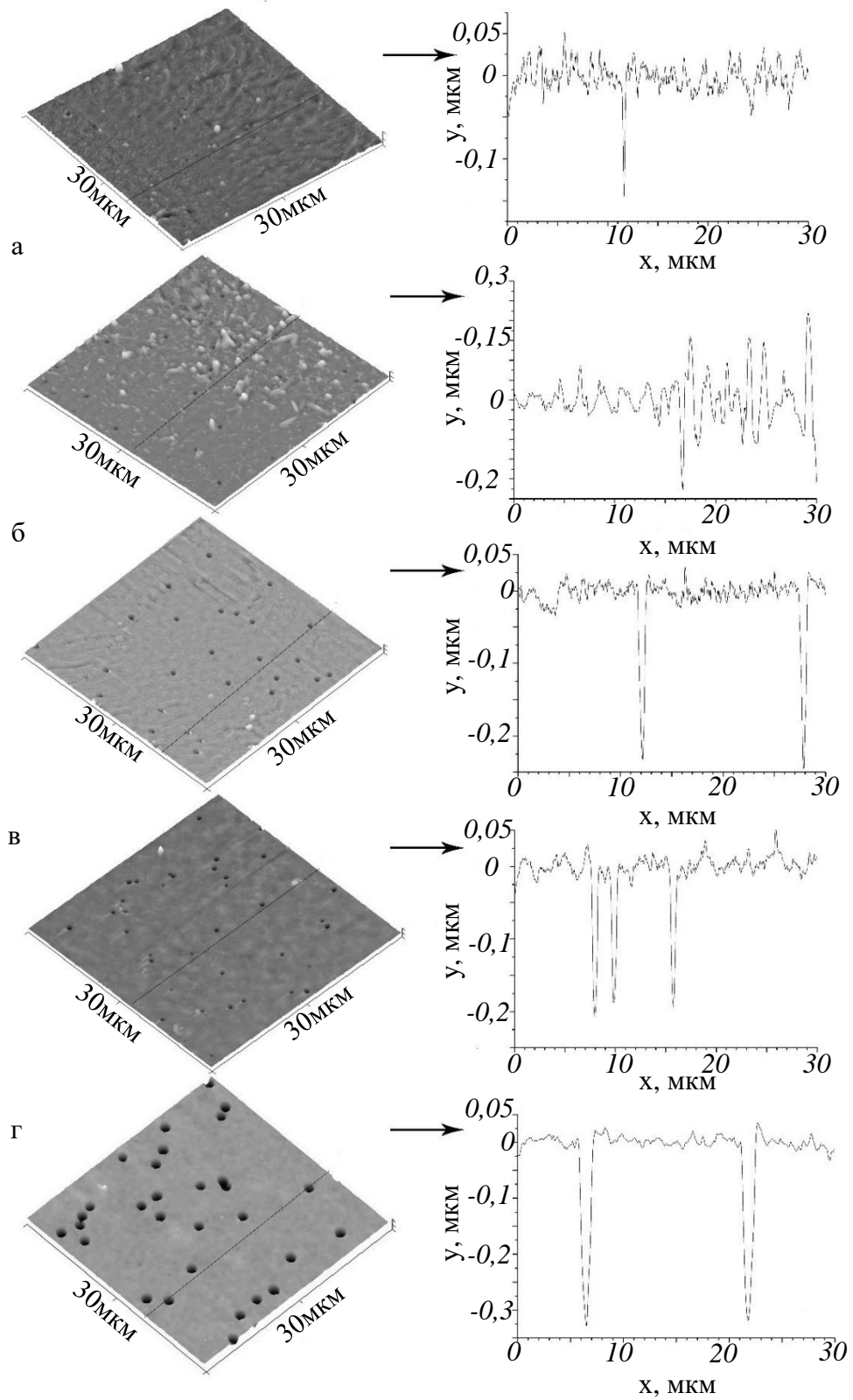
Время травления, минуты	Стороны	Средняя шероховатость, ( $R_a$ ): нм		Средне квадратичная шероховатость, ( $R_q$ ): нм	Максимальная высота шероховатости, ( $R_t$ ): нм
10 минут	внутр	6,0±0,3	*p<0,001	8,0	60
	внеш	12,6±0,3		16,3	108
15 минут	внутр	9,3±0,3	*p<0,001	11,5	66
	внеш	18,2±0,6		25	183
20 минут	внутр	8,7±0,2	*p<0,001	11,1	67
	внеш	7,5±0,5		9,9	75
25 минут	внутр	5,5±0,4	*p<0,001	7,0	43
	внеш	5,6±0,5		7,3	54,2
30 минут	внутр	4,1±0,2	*p<0,001	5,4	39
	внеш	4,5±0,3		6,0	44

Примечание: \*p<0,01 – уровень статистической значимости различий внутренней и внешней сторон. Внеш – внешняя сторона; внутр – внутренняя сторона материала.

Стороны полученной мембраны статистически отличаются между собой только при травлении материала 10 и 15 минут. Начиная с 20 минуты, различий в параметрах шероховатости внешней и внутренней сторон нет,  $p>0,05$ .

На рисунке 4.5б приведены микрофотографии и профили поверхностей мембран из ПМК после травления при температуре 44°C в течении 10, 15, 20, 25 и 30 минут. Как было отмечено ранее, травление больше 20 минут способствует сглаживанию поверхности и уменьшению значений параметров шероховатости.





д

Рисунок 4.56 – Трехмерные изображения и профили поверхностей ТМ на основе ПМК при температуре травления 44°C и времени: а – 10 минут; б – 15 минут; в – 20 минут; г – 25 минут; д – 30 минут

Измерения краевого угла смачивания полученной мембраны из ПМК показало, среднее значение облученного материала при температуре травления  $44^{\circ}\text{C}$  и времени 10 минут составило:  $\theta_w^{\circ} = 75,8^{\circ} \pm 3,7^{\circ}$ ,  $\theta_N = 5,2^{\circ} \pm 1,9^{\circ}$ ,  $\theta_g^{\circ} = 65,9^{\circ} \pm 2,8^{\circ}$ ,  $p > 0,05$  при сравнении с исходными пленками из ПМК (рис. 4.57). Статистический анализ показал отсутствие значимой разницы углов смачивания между мембранами, полученных при экспозиции в травителе 10, 15, 20, 25 и 30 минут ( $p > 0,05$ ) (рис. 4.57). Кроме того, анализ также показал отсутствие значимой разницы показателей смачивания между сторонами материала,  $p > 0,05$ .

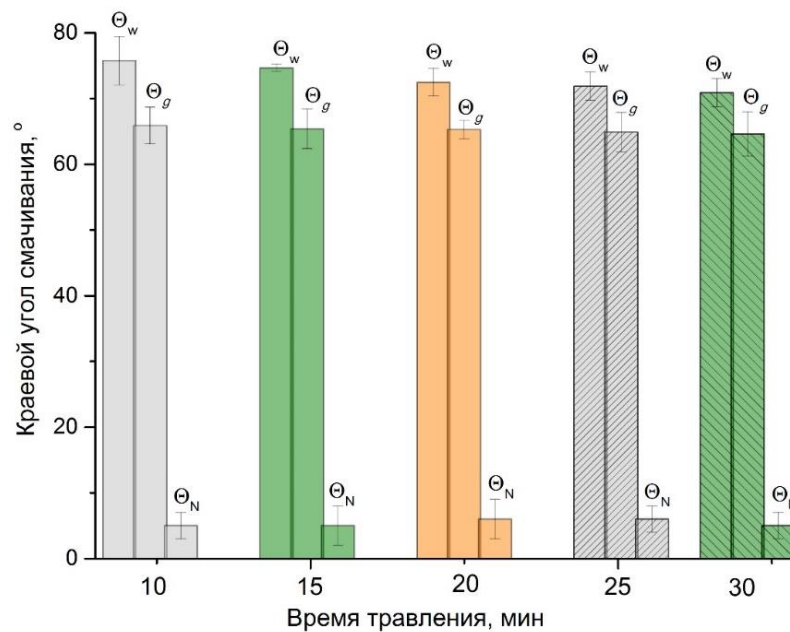


Рисунок 4.57 – Значения краевых углов ( $\theta_w^{\circ}$ ,  $\theta_g^{\circ}$ ,  $\theta_N^{\circ}$ ) смачивания трековых мембран из ПМК, полученных после травления в 1,0М NaOH при температуре травления  $44^{\circ}\text{C}$ , в зависимости от времени травления

Расчет средней свободной энергии трековых мембран из ПМК, полученных после травления в растворе 1,0М NaOH температурой  $44^{\circ}\text{C}$  и с экспозицией в травителе 10 минут, показал значение полной энергии  $\gamma = 31,12 \pm 0,61$  мДж/м<sup>2</sup>. Анализ показал отсутствие значимой разницы

поверхностной энергии между мембранами, полученных при экспозиции в травителе 10, 15, 20, 25 и 30 минут,  $p > 0,05$  (рис. 4.58).

Расчет средней полярности  $p$  трековых мембран из ПМК, полученных после травления в растворе 1,0М NaOH температурой 44°C и с экспозицией в травителе 10 минут, показал среднее значение  $p = 0,4$ .

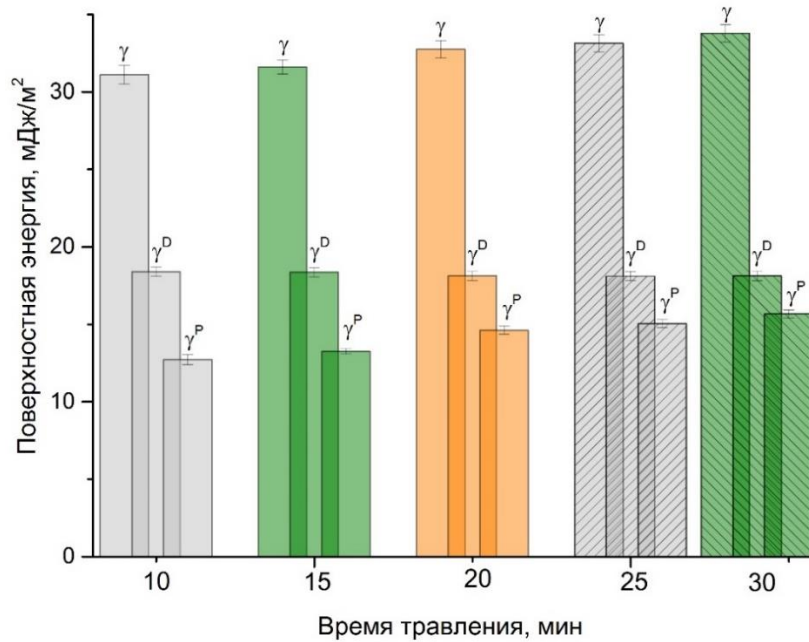


Рисунок 4.58 – Значения поверхностной энергии ( $\gamma$ ,  $\gamma^D$ ,  $\gamma^P$ ) трековых мембран из ПМК, полученных после травления в 1,0М NaOH при температуре травления 44°C, в зависимости от времени травления

На рисунке 4.59, видно, что в спектрах ТМ, полученных травлением облученных плёнок ПМК при температуре 44°C присутствуют все характерные полосы поглощения для необлученного исходного материала: 1756  $\text{cm}^{-1}$   $\nu(\text{C}=\text{O})$ , 1454  $\text{cm}^{-1}$   $\delta_{\text{as}}(\text{CH}_3)$ , 1369  $\text{cm}^{-1}$   $\delta(\text{CH}) + \delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)$ , 1182  $\text{cm}^{-1}$   $\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{O}-\text{C})$ , 1090  $\text{cm}^{-1}$   $\nu_{\text{s}}(\text{C}-\text{O}-\text{C})$ , 1039  $\text{cm}^{-1}$   $\nu(\text{C}-\text{CH}_3)$ , 870  $\text{cm}^{-1}$   $\nu(\text{C}-\text{COO})$ , 695  $\text{cm}^{-1}$   $\gamma(\text{C}=\text{O})$ . При этом с увеличением времени травления полоса поглощения, характерная для валентных колебаний карбонильной группы  $\text{C}=\text{O}$ , смещалась в область 1745  $\text{cm}^{-1}$ . При травлении в течение 10 минут наблюдалось уширение характерных полос 2996  $\text{cm}^{-1}$  и 2944  $\text{cm}^{-1}$ , обусловленных симметричными и асимметричными колебаниями  $\nu(\text{CH}_3)$ , а также уменьшалась интенсивность

полосы при  $1269\text{ см}^{-1}$ , относящейся к колебаниям  $\delta(\text{CH}) + \nu(\text{C} - \text{O} - \text{C})$ . На спектрах увеличивается интенсивность полос поглощения при  $870\text{ см}^{-1}$ ,  $760\text{ см}^{-1}$ ,  $690\text{ см}^{-1}$  характерных для  $\nu(\text{C} - \text{COO})$ ,  $\delta(\text{C} = \text{O})$  и  $\gamma(\text{C} = \text{O})$  колебаний, это может быть обусловлено расщеплением сложного эфира и образованием групп  $-\text{OH}$  и  $-\text{COOH}$  на поверхности полимеров. При этом, полученные результаты показывают, что облучение тяжелыми ионами  $^{132}\text{Xe}^{+26}$  и гидролиз, вызванный щелочным травлением, не оказывают существенного воздействия на объемные характеристики полимеров.

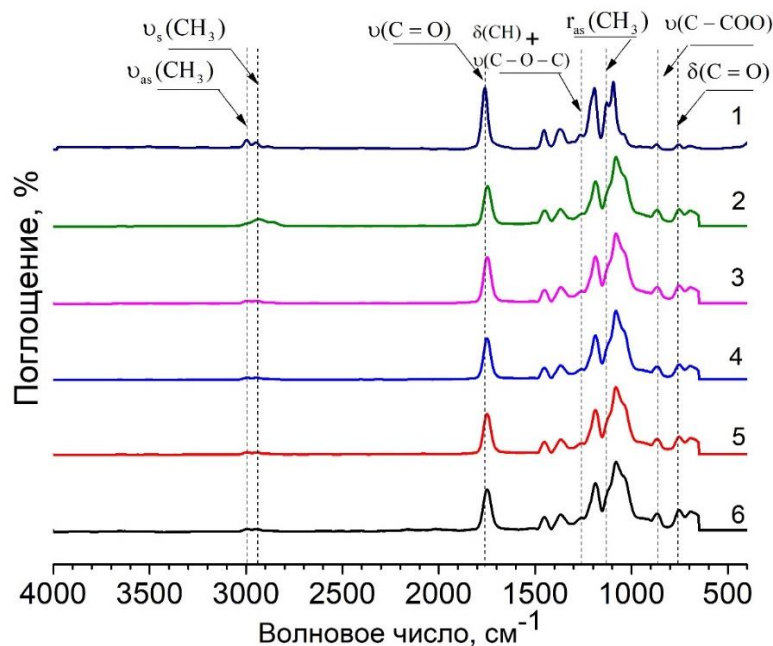


Рисунок 4.59 – ИК– спектр пропускания пленок (1) и ТМ из ПМК, полученных после травления в 1,0М NaOH при температуре травления  $44^\circ\text{C}$ , в зависимости от времени травления: 2 – 10 минут; 3 – 15 минут; 4 – 20 минут; 5 – 25 минут; 6 – 30 минут, где s – симметричные, as – асимметричные, r – вращательные,  $\nu$ -валентные,  $\delta$ -деформационные,  $\gamma$ -скелетные колебания

На рисунке 4.60 представлены нормализованные на максимум интенсивности полосы  $873\text{ см}^{-1}$  спектры комбинационного рассеяния света (Рамановские спектры) исходных пленок и мембран из ПМК, полученных после травления в 1,0М NaOH при температуре травления  $44^\circ\text{C}$ , где присутствует весь набор линий при  $305\text{ см}^{-1}$ ,  $403\text{ см}^{-1}$ ,  $736\text{ см}^{-1}$ ,  $873\text{ см}^{-1}$ ,  $1042$

$\text{cm}^{-1}$ ,  $1092 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1124 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1179 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1293 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1381 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1452 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1763 \text{ cm}^{-1}$ , характерных для исходной плёнки ПМК.

Анализ спектров показал, что с увеличением времени травления облучённых ПМК наблюдалось слабое смещение и уменьшение интенсивности линии валентных колебаний  $\nu(\text{C} = \text{O})$  при  $1763 \text{ cm}^{-1}$ , соответствующей активной моде В до моды  $E_2$  при  $1773 \text{ cm}^{-1}$  [445]. В спектрах мембран с диаметром пор  $1,11 \text{ мкм}$  (травление – 25 минут) и  $1,5 \text{ мкм}$  (травление – 30 минут) присутствовало смещение линии валентного колебания  $\nu(\text{C} - \text{COO})$  от  $873 \text{ cm}^{-1}$  до  $881 \text{ cm}^{-1}$ . Отмечено, что на спектрах отсутствует линия, соответствующая колебаниям  $\nu(\text{C} - \text{COO})$  при  $923 \text{ cm}^{-1}$ , и наблюдается уширение и сдвиг линий при  $238 \text{ cm}^{-1}$ ,  $382 \text{ cm}^{-1}$ , соответствующих крутильным  $\tau\text{CC}$  и деформационным колебаниям  $\delta\text{CCO}$ . Подобны изменения могут свидетельствовать об изменении степени кристалличности фаз полимера [437].

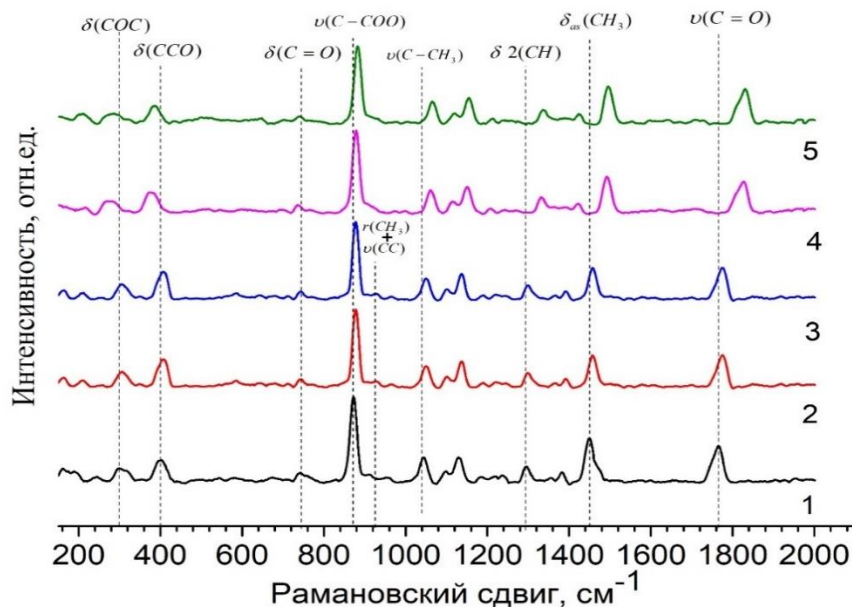


Рисунок 4.60 – Нормированные на максимум интенсивности спектры комбинационного рассеяния ТМ из ПМК, полученных после травления в  $1,0\text{M NaOH}$  при температуре травления  $44^\circ\text{C}$ , в зависимости от времени травления: 1 – 10 минут; 2 – 15 минут; 3 – 20 минут; 4 – 25 минут; 5 – 30 минут

Как было отмечено ранее, обработка поверхности материала низкотемпературной плазмой атмосферного давления способствует гидрофилизации поверхности пленок ПМК.

Исследование влияния низкотемпературной плазмы атмосферного давления на поверхностные и физико-химические характеристики ТМ представлено на примере мембраны, полученной травлением в 1,0М растворе NaOH при температуре 44°C в течении 15 минут. Кроме того, учитывая результаты плазменной модификации пленки ПМК, был выбран один режим воздействия – 30с. Данное решение было обосновано минимальностью деструктивного воздействия плазмы и достижение необходимой гидрофильности материала в данном временном промежутке.

Согласно полученным данным по модификации ТМ из ПМК при времени воздействия плазмой 30с шероховатость мембраны составила:  $R_a$  внутренней стороны 9,4нм, внешней – 18,1нм;  $R_q$  внутренней стороны 10,8нм, внешней – 26,6нм;  $R_t$  внутренней стороны 6,8нм, внешней – 19,1нм, что статистически не отличалось от мембран без плазменной стерилизации,  $p > 0,05$ .

Анализ смачивания показал, что воздействие плазмы на ТМ из ПМК снизило краевой угол исходных мембран в 1,5 раза (по воде), составив  $50,3 \pm 3,7^\circ$ . Подобный эффект был получен и у пленок ПМК: плазма уменьшила значение данного показателя в 1,4 раза (на 27,3%) и приблизила свойства материала к гидрофильным. Анализ показал отсутствие значимой разницы значений смачивания между сторонами ТМ из ПМК,  $p > 0,05$ .

Как и в случае с пленками ПМК, плазменная модификация увеличила СЭП мембран в 1,7 раза, составив 52,9мДж/м<sup>2</sup>. Наблюдаемые изменения энергии произошли главным образом за счет увеличения полярной составляющей. Полярность ТМ из ПМК после модификации составила 0,34. Статистический анализ показал отсутствие значимой разницы поверхностной энергии между сторонами мембраны,  $p > 0,05$ .

В серии экспериментов по стерилизации полученных мембран было установлено, что стерилизация  $\gamma$ -облучением не изменяет значений угла и энергии поверхности, сохраняя полученные в ходе модификации в плазме гидрофильные свойства поверхности ТМ из ПМК. Стерилизация горячим паром под давлением разрушает ТМ из ПМК.

#### 4.8 Оптические характеристики кератоимплантата из полимолочной кислоты

Учитывая тот факт, что предназначение пленок из ПМК – роговичные имплантаты, то хорошие их оптические свойства являются одним из ключевых моментов в разработке офтальмологических изделий. В связи с чем, были проведены исследования спектров пропускания в области видимого излучения (400 – 700)нм.

Согласно анализу спектров, коэффициент пропускания исходных пленок ПМК в области видимого излучения лежит в пределах 90-93% (рис. 4.61), что характеризует материал как изделие с высокой пропускной способностью. Прозрачность пленки составила  $2,21 \pm 0,01$ .

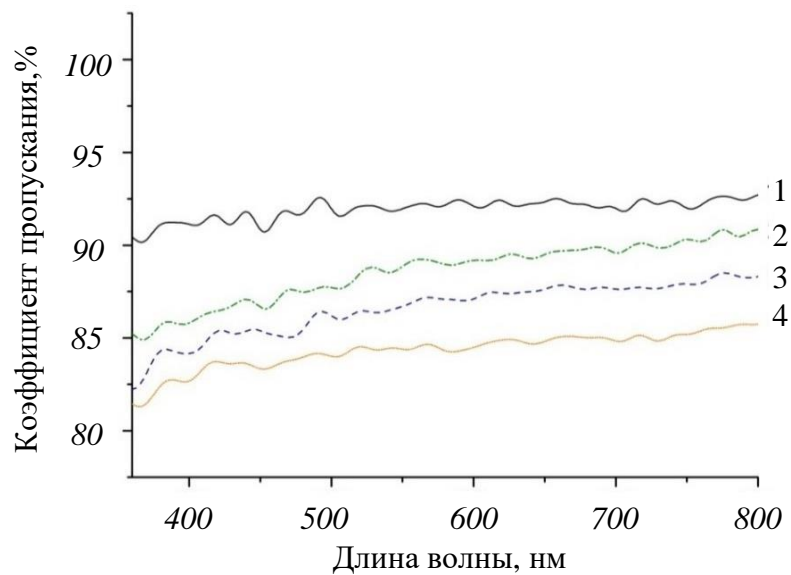


Рисунок 4.61 – Спектр пропускания плёнки ПМК до и после плазменной обработки: 1 – исходная пленка ПМК; 2 – пленка ПМК после модификации (30с); 3 – пленка ПМК после модификации (60с); 4 – пленка ПМК после модификации (90с)

Модификация плазмой снижает значения коэффициента пропускания на 5 – 8%. Причем с увеличением времени обработки плазмой снижается пропускная способность пленок ПМК. Однако прозрачность образцов после плазменной обработки незначительно увеличилась до  $2,24 \pm 0,01$  при времени модификации 90с (рис. 4.62).

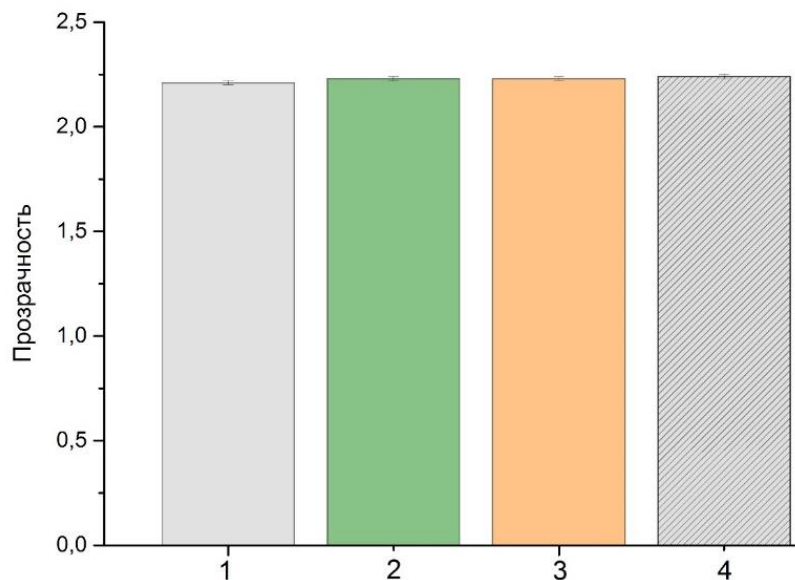


Рисунок 4.62 – Прозрачность плёнки ПМК до и после плазменной обработки: 1 – исходная пленка ПМК; 2 – пленка ПМК после плазменной модификации при времени воздействия 30с; 3 – пленка ПМК после плазменной модификации при времени воздействия 60с; 4 – пленка ПМК после плазменной модификации при времени воздействия 90с

Схожий эффект снижения коэффициента пропускания на 5% был отмечен у пленок ПМК после  $\gamma$ -стерилизации (рис. 4.63). Значительное влияние на пропускную способность материала имела паровая стерилизация: коэффициент снизился более, чем на 23%, составляя значения в диапазоне 66% – 85% в области видимого излучения. Прозрачность пленки после  $\gamma$ -стерилизации составила  $2,24 \pm 0,03$ , после стерилизации паром –  $2,3 \pm 0,05$ .

Комбинированное влияние плазмы и  $\gamma$ -излучения не оказало существенного влияния на пропускную способность пленки из ПМК, снизив коэффициент пропускания на 3% – 5% от значения исходного материала (рис. 4.64).



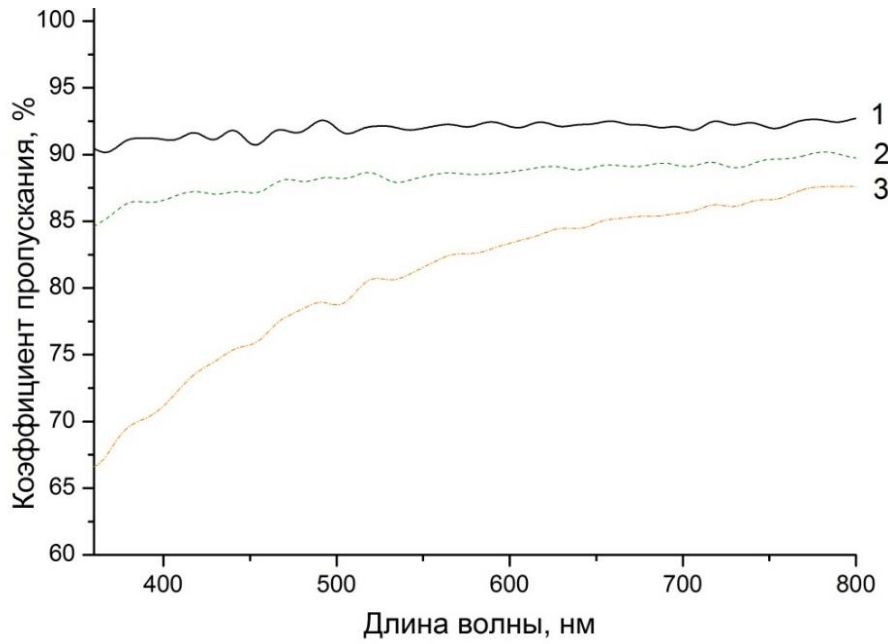


Рисунок 4.63 – Спектр пропускания плёнки ПМК до и после стерилизации: 1 – исходная пленка ПМК; 2 – пленка ПМК после  $\gamma$ -стерилизации; 3 – пленка ПМК после паровой стерилизации

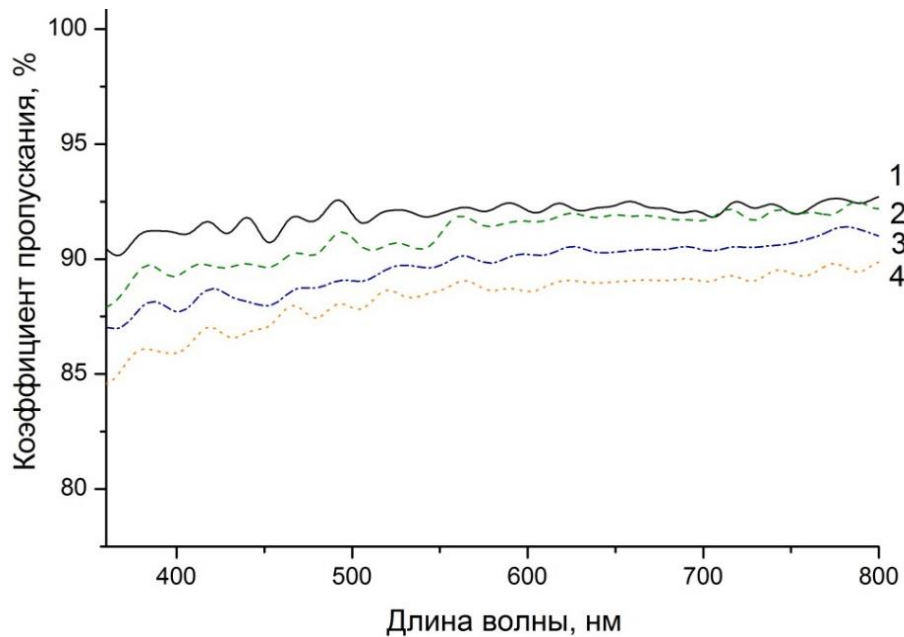


Рисунок 4.64 – Спектр пропускания модифицированных в плазме плёнки из ПМК до и после  $\gamma$ -стерилизации: 1 – исходная пленка ПМК; 2 – модифицированная в плазме (время обработки – 30с) пленка ПМК после  $\gamma$ -стерилизации; 3 – модифицированная в плазме (время обработки – 60с) пленка ПМК после  $\gamma$ -стерилизации; 4 – модифицированная в плазме (время обработки – 90с) пленка ПМК после  $\gamma$ -стерилизации

Прозрачность пленки ПМК после плазменной обработки и последующей стерилизации незначительно увеличилась до  $2,25 \pm 0,02$  при времени модификации 90с (рис. 4.65).

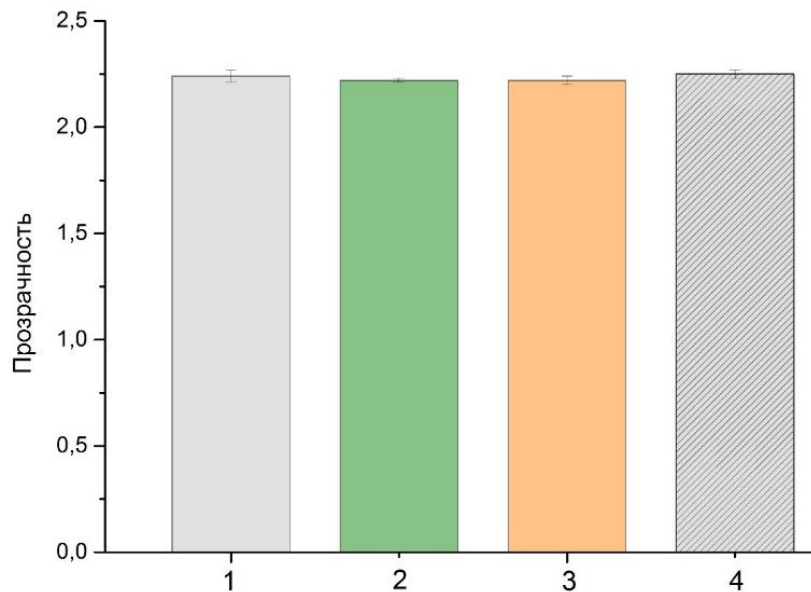


Рисунок 4.65 – Прозрачность стерилизованной  $\gamma$ -излучением плёнки ПМК до и после плазменной обработки: 1 – пленка ПМК без модификации; 2 – пленка ПМК после плазменной модификации при времени воздействия 30с; 3 – пленка ПМК после плазменной модификации при времени воздействия 60с; 4 – пленка ПМК после плазменной модификации при времени воздействия 90с

Стерилизация паром, как и в случае с исходными пленками, существенно влияет на пропускную способность модифицированного в плазме материала, снизив коэффициент пропускания на 33% – 57% от значения исходного материала. Особенно выражено снижение коэффициента при комбинированной обработке пленок ПМК плазмой с экспозицией 90 с и последующей паровой стерилизацией, находясь в пределах 33% – 62% видимого диапазона (рис. 4.66).

Заметное снижение коэффициента пропускания пленок ПМК после паровой стерилизации связано с деформациями и местами разрушением материала. Появление указанных артефактов способствует рассеянию света и, как следствие, снижение пропускающей способности пленок.

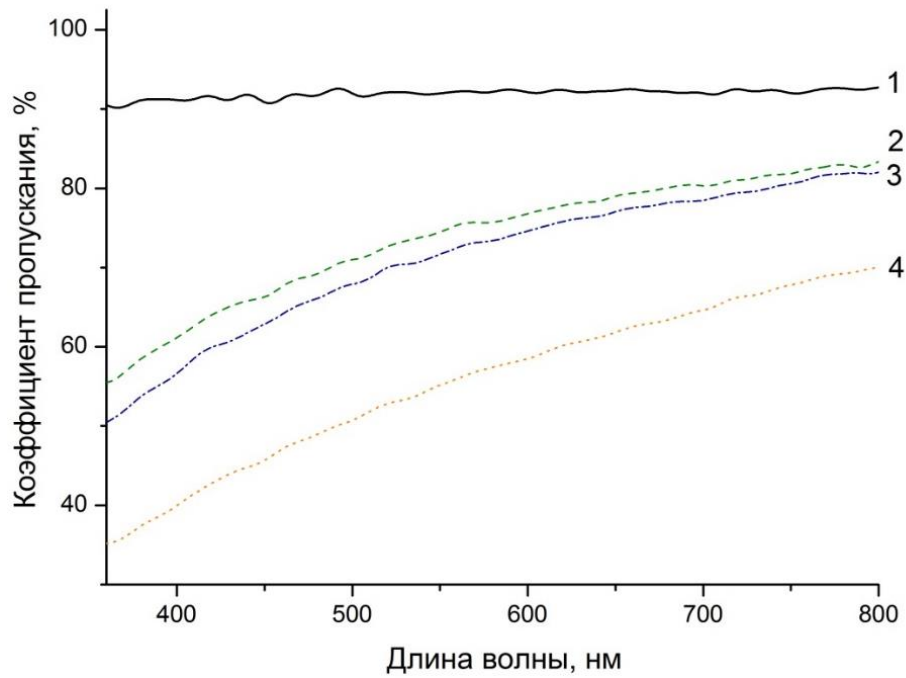


Рисунок 4.66 – Спектр пропускания модифицированных в плазме плёнки из ПМК до и после паровой стерилизации: 1 – исходная пленка ПМК; 2 – модифицированная в плазме (время обработки – 30с) пленка ПМК после паровой стерилизации; 3 – модифицированная в плазме (время обработки – 60с) пленка ПМК после паровой стерилизации; 4 – модифицированная в плазме (время обработки – 90с) пленка ПМК после паровой стерилизации

Согласно анализу спектров, коэффициент пропускания мембран из ПМК в области видимого излучения лежит в пределах 95% – 98% (рис. 4.67), что характеризует материал как изделие с высокой пропускной способностью. Прозрачность пленки составила  $2,2 \pm 0,02$ . Однако замечена выраженная интерференция материала в области видимого излучения, что вероятно связано с неоднородностью ТМ из ПМК в виде пор.

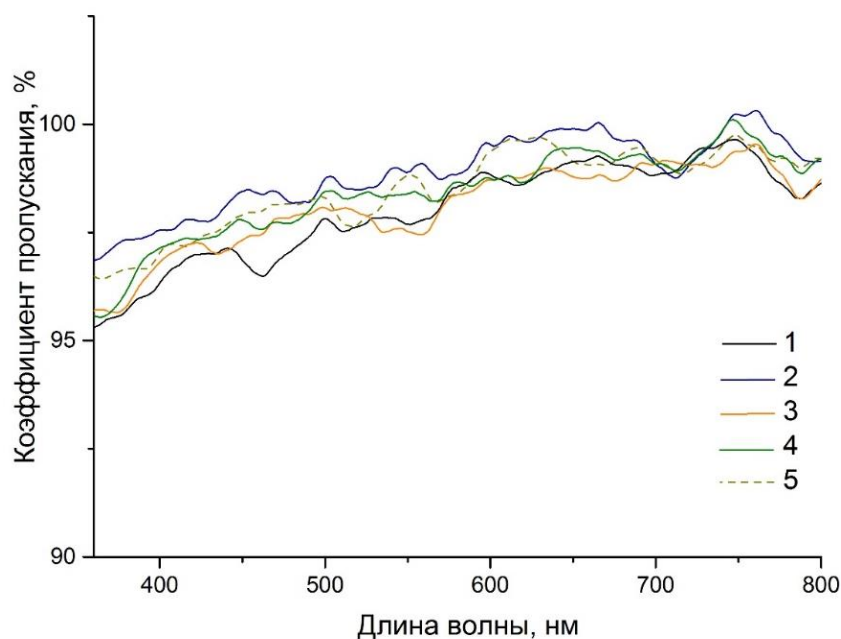


Рисунок 4.67 – Спектр пропускания трековых мембран из ПМК, полученных после травления в 1,0М NaOH при температуре травления 44°C, в зависимости от времени травления: 1 – 10 минут; 2 – 15 минут; 3 – 20 минут; 4 – 25 минут; 5 – 30 минут

Стоит отметить отсутствие значимой разницы в спектрах, а также в значении прозрачности трековых мембран из ПМК, полученных после травления в 1,0М NaOH при температуре травления 44°C, в зависимости от времени травления.

Исследование влияния низкотемпературной плазмы атмосферного давления на оптические свойства ТМ представлено на примере мембраны, полученной травлением в 1,0М растворе NaOH при температуре 44°C в течении 15 минут. Кроме того, учитывая результаты плазменной модификации пленки ПМК, был выбран один режим воздействия – 30с.

Согласно анализу спектров, коэффициент пропускания мембран из ПМК после плазменного воздействия в области видимого излучения лежит в пределах 93% – 96% (рис. 4.68), что на 2% меньше ТМ без модификации. Прозрачность пленки составила  $2,3 \pm 0,03$ . Сохранялась выраженная интерференция материала в области видимого излучения, что вероятно связано с неоднородностью ТМ из ПМК в виде пор.

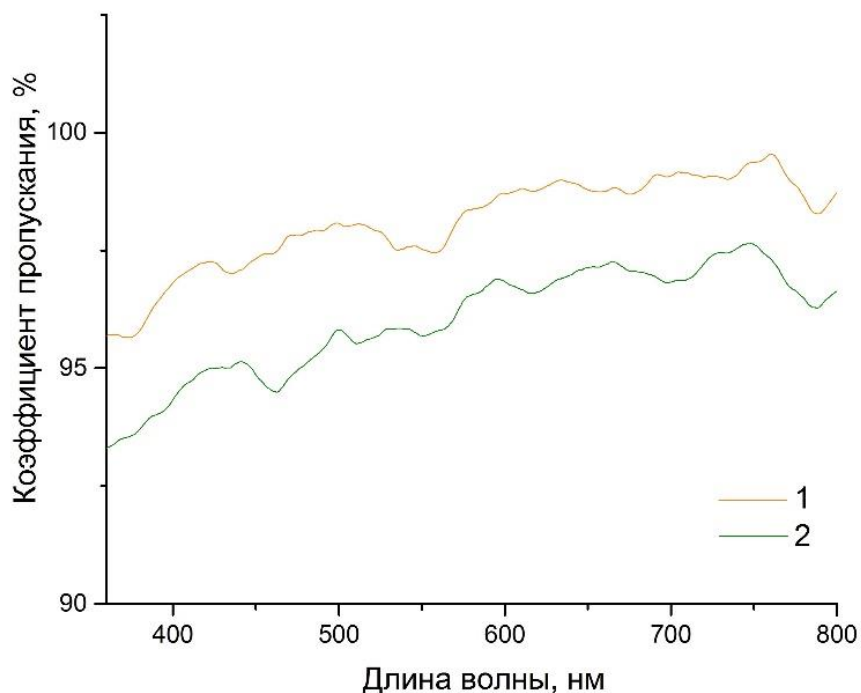


Рисунок 4.68 – Спектр пропускания плазменно–обработанных трековых мембран из ПМК, полученных после травления в 1,0М NaOH при температуре травления 44°С в течении 15 минут: 1 – ТМ из ПМК без модификации поверхности; 2 – ТМ из ПМК после плазменного воздействия

#### 4.9 Механические свойства и степень кристалличности

Как было отмечено ранее, исследование механических характеристик необходимо для определения рисков повреждения и разрывов полимеров в процессе их имплантации.

Анализ модуля Юнга показал, что пленки ПМК имеют модуль Юнга равный  $1520 \pm 370$  МПа. Модификация пленок плазмой линейно увеличивает модуль на 21,2% (рис. 4.69).

Значительно изменяет данный показатель  $\gamma$ -стерилизация: модуль Юнга возрастает на 34,7% плазмой модифицированных пленок ПМК. Однако, статистически значимых различий между исходным материалом и ПМК после  $\gamma$ -стерилизации не выявлено,  $p > 0,05$ .

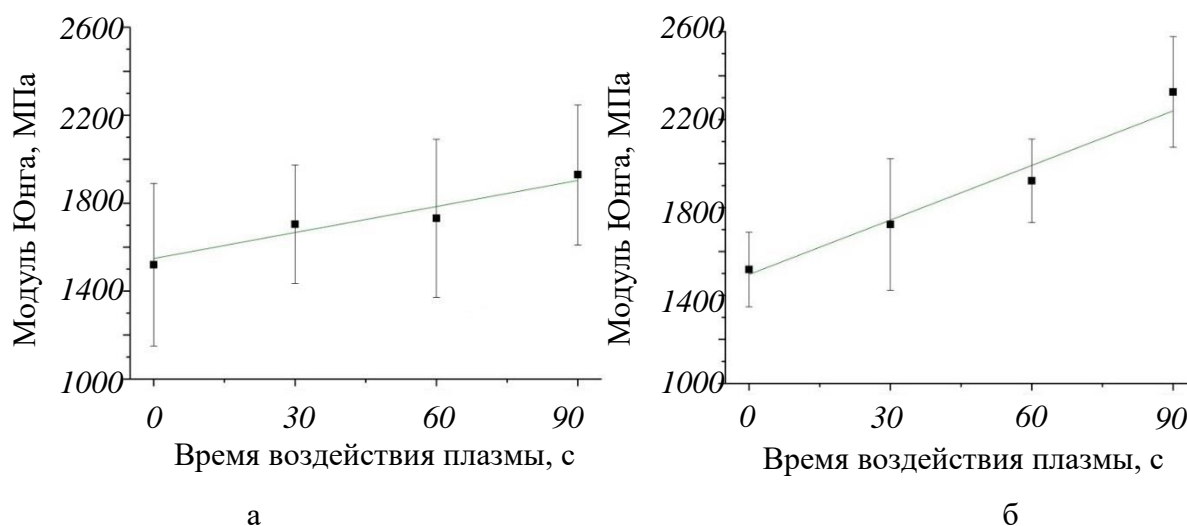


Рисунок 4.69 – Зависимость модуля Юнга от времени воздействия плазмы: а – исходные плёнки; б – пленки после  $\gamma$ -излучения

Анализ показателей напряжения при растяжении показал, что пленки из ПМК имеют значения данного показателя равного  $20,9 \pm 4,5$  МПа. Модификация пленок плазмой линейно увеличивает напряжение при растяжении на 31,5% (рис. 4.70). Значительно изменяет данный показатель  $\gamma$ -стерилизация: данный показатель возрастает на 40,3% плазмой модифицированных пленок ПМК. Однако, статистически значимых различий между исходным материалом и ПМК после  $\gamma$ -стерилизации не выявлено,  $p > 0,05$ .

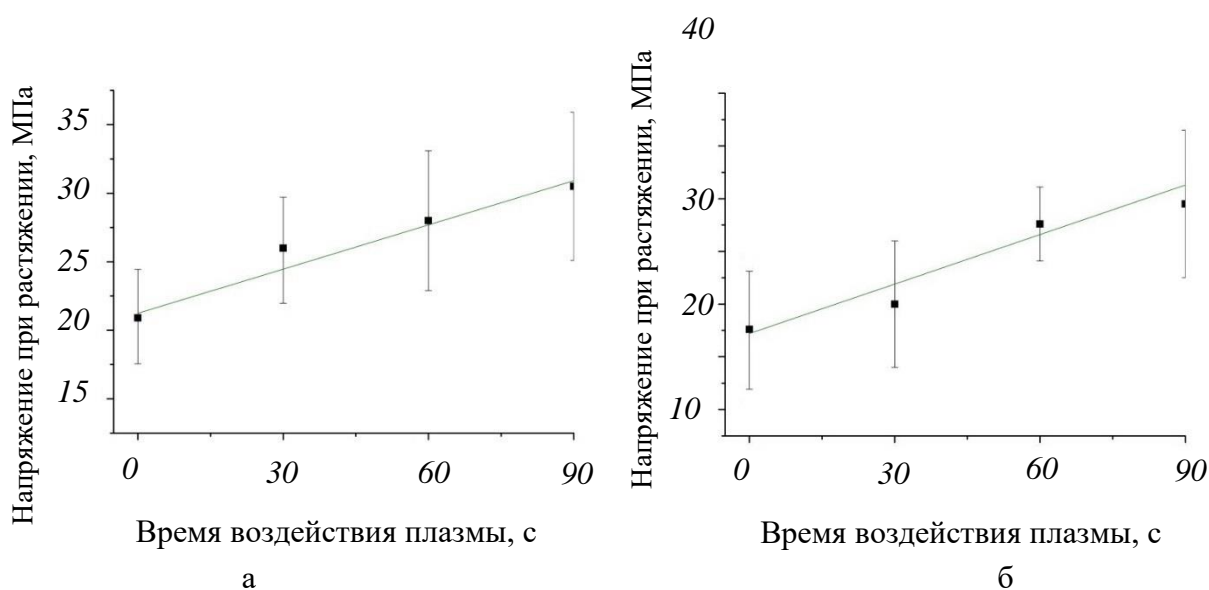


Рисунок 4.70 – Зависимость напряжения при растяжении от времени воздействия плазмы: а – исходные плёнки; б – пленки после  $\gamma$ -облучения

Анализ удлинения при растяжении показал, что статистически значимых различий между исходным материалом и ПМК после модификации плазмой не выявлено,  $p > 0,05$ . Корреляционно-регрессионный анализ показал коэффициент детерминации  $R^2 = -0,197$ , что свидетельствовало об отсутствии зависимости между исходными пленками ПМК и после плазменной обработки поверхности (рис. 4.71). Кроме того,  $\gamma$ -стерилизации существенно не изменяет данный показатель пленок после воздействия плазмы,  $p > 0,05$ .

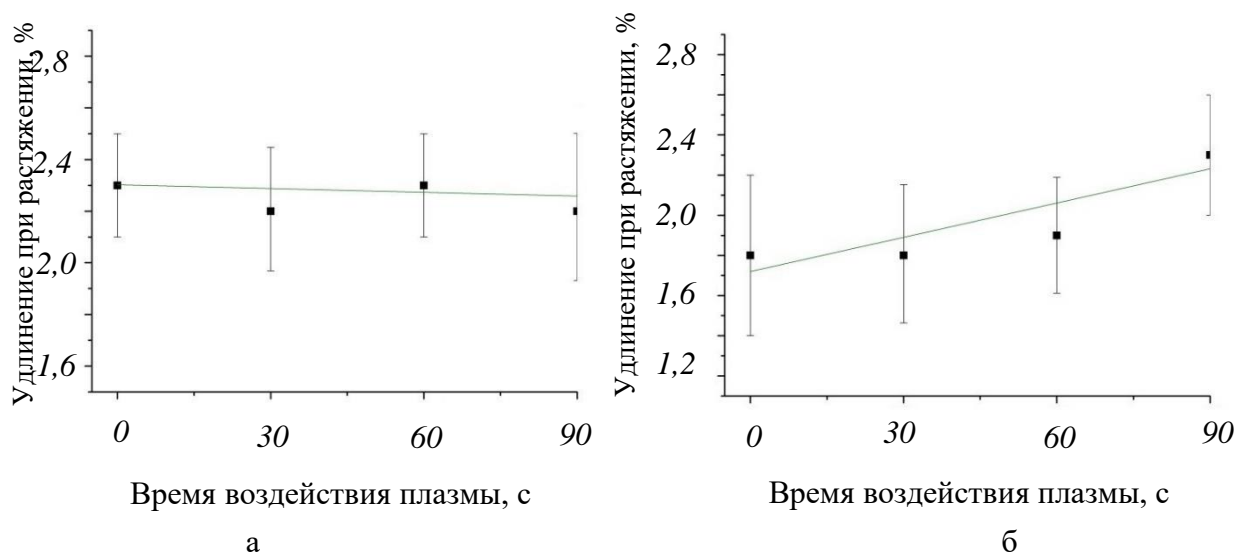


Рисунок 4.71 – Зависимость удлинения при растяжении от времени воздействия плазмы: а – исходные плёнки; б – пленки после  $\gamma$ -излучения

В связи с негативным влиянием паровой стерилизации на морфологию поверхности пленок ПМК в виде деформации и разрушения материала, провести механические испытания материала после данного способа стерилизации не удалось: охрупченный материал ломался от малейших манипуляций с ним.

Для лучшего понимания механизма влияния различных обработок на механические свойства пленок ПМК необходимо оценить степень кристалличности материала.

На термограмме пленки ПМК (рис. 4.72) отмечен слабый эндотермический эффект с 3% потери массы при 36°C и при 171°C,

соответствующий температуре плавления полимера. Площадь под кривой пиком плавления определяет энтальпию плавления, позволяющая рассчитать степень кристалличности полимера ( $I_{ст.кр.}$ ).

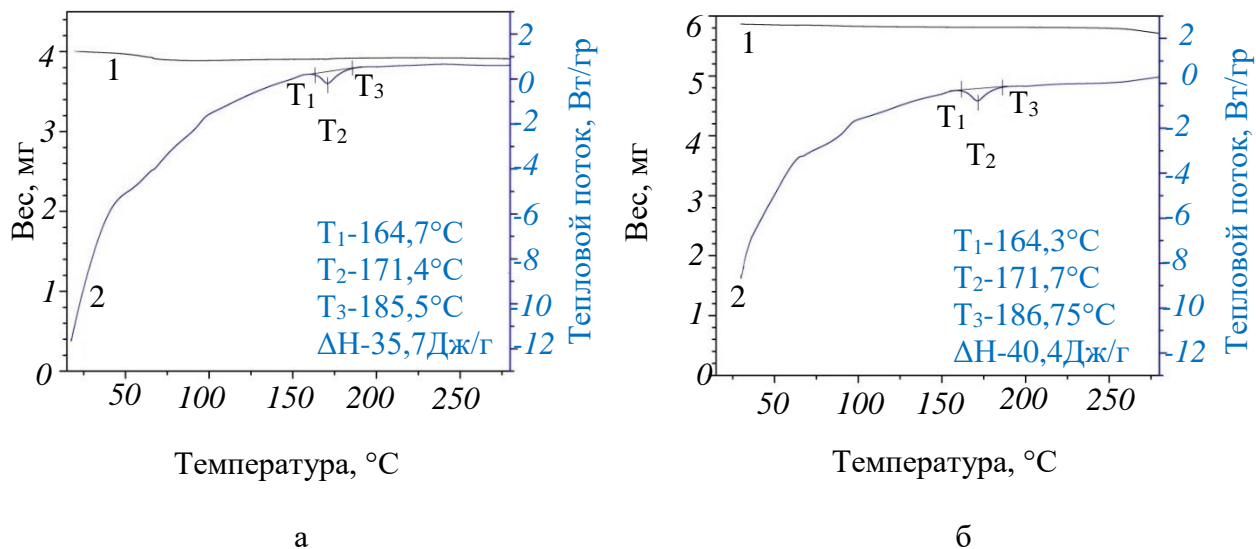


Рисунок 4.72 – Термограммы плёнки ПМК (а) и пленки после паровой стерилизации (б), где  $T_1$  – температура начала плавления,  $T_2$  – температура максимума,  $T_3$  – температура окончания пика (°C), энтальпия плавления  $\Delta H_m$  (Дж/г)

Расчеты показали, что степень кристалличности пленок ПМК составило 38,4% (рис. 4.73). Несмотря на предположения, паровая стерилизация не только не повышает кристалличность ПМК, а даже уменьшает ее значение, составляя 32,63%.

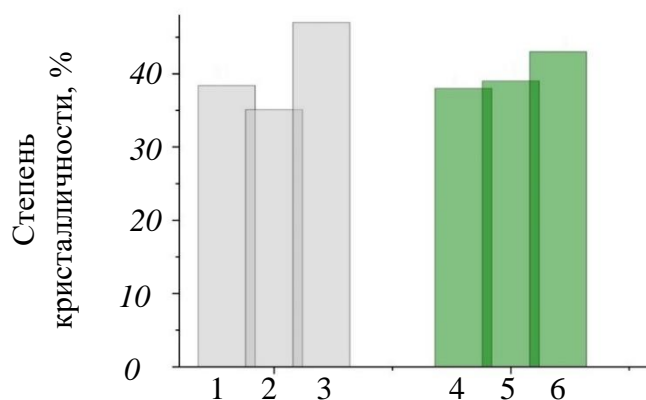


Рисунок 4.73 – Степень кристалличности пленок ПМК: 1 – исходные; 2 – после паровой стерилизации; 3 – после  $\gamma$ -излучения; 4, 5, 6 – после обработки плазмой при времени обработки 30с, 60с, 90с соответственно



Стерилизация  $\gamma$ -излучением в отличие от паровой увеличивает кристалличность на 8% исходной пленки ПМК (рис. 4.73).

На термограммах пленок ПМК (рис. 4.74, 4.75) после плазменной модификации можно заметить небольшое изменение интенсивности пика плавления, что соответствует увеличению кристалличности плёнки (2% – 5%) соответственно (рис. 4.74).

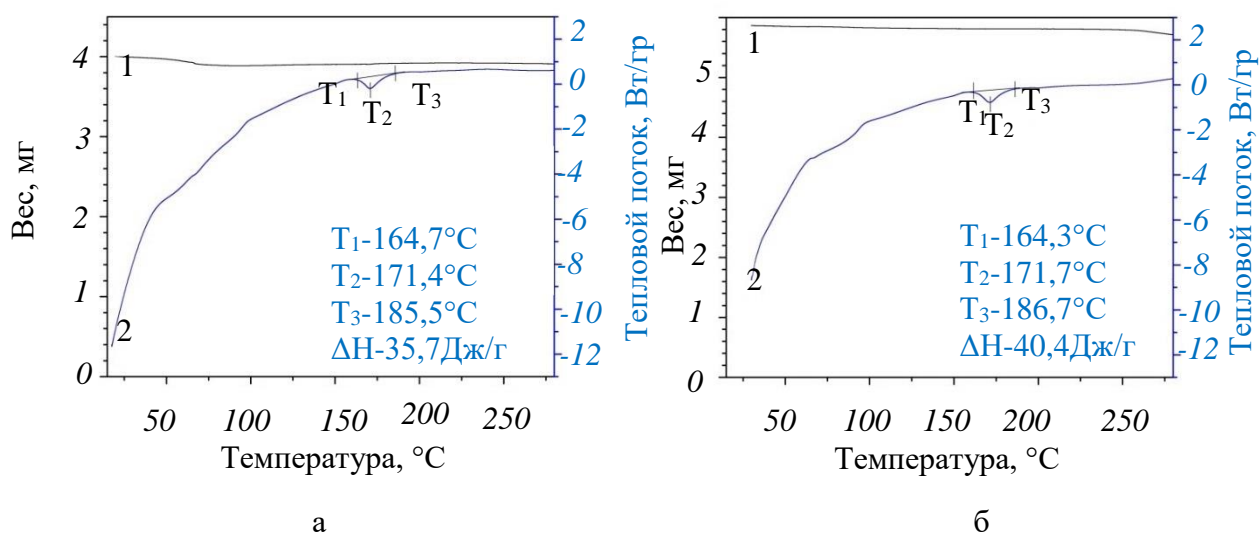


Рисунок 4.74 – Термограммы плёнки ПМК (а) и пленок после плазменной модификации при времени воздействия 30с (б), где T<sub>1</sub> – температура начала плавления, T<sub>2</sub> – температура максимума, T<sub>3</sub> – температура окончания пика (°C), энтальпия плавления ΔH<sub>м</sub> (Дж/г)

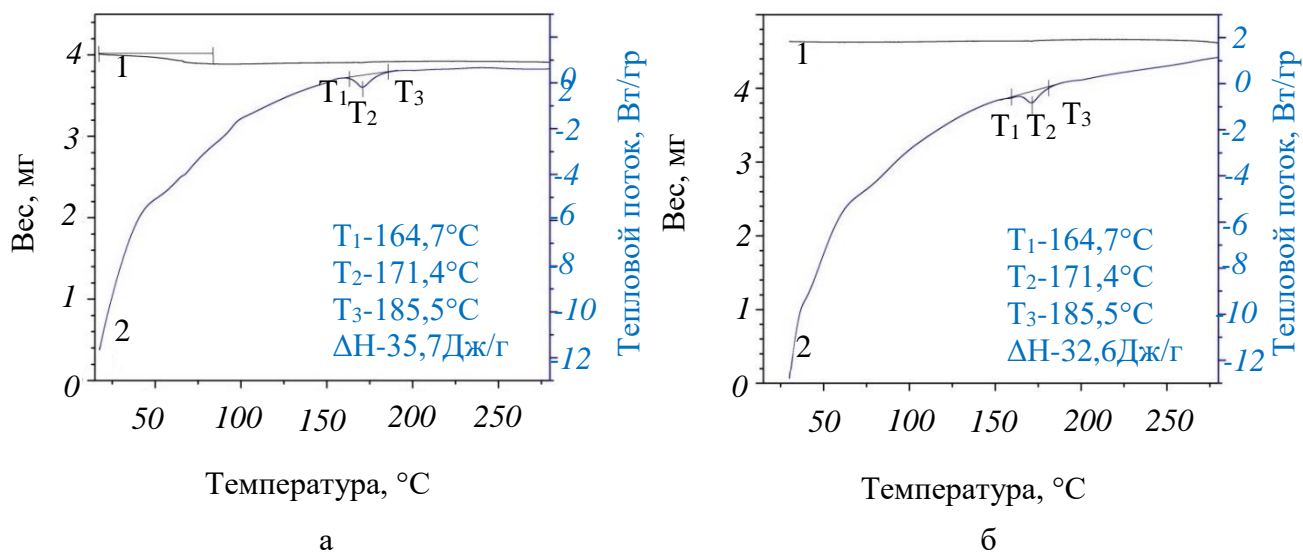


Рисунок 4.75 – Термограммы пленок после плазменной модификации при времени воздействия 60с (а), 90с (б), где T<sub>1</sub> – температура начала плавления, T<sub>2</sub> – температура максимума, T<sub>3</sub> – температура окончания пика (°C), энтальпия плавления ΔH<sub>м</sub> (Дж/г)

Интересно влияние на степень кристалличности пленок из ПМК комбинированных обработок. Расчёт данного показателя показал, что  $\gamma$ -излучение не вносит существенного вклада в изменение кристалличности модифицированного в плазме полимера, значения которой варьируются в пределах 37% – 41,9% (табл. 4.6), что статистически не значимо по сравнению в модифицированными образцами без стерилизации. Паровая стерилизация снижает значения кристалличности полимера после плазмы на 6% – 10% (табл. 4.6).

Таблица 4.6 – Степень кристалличности полимерных плёнок из ПМК после различных видов обработок

Образцы	Энтальпия плавления, $\Delta H_m$ (Дж/г)	Энтальпия кристаллической ПМК, $\Delta H_f$ Дж/г	Процент кристалличности, $X_c$ (%)
Пл30_Гамма	34,39	93	36,98
Пл60_Гамма	36,18	93	38,9
Пл90_Гамма	38,97	93	41,9
Пл30_Пар	30,08	93	32,34
Пл60_Пар	30,59	93	32,89
Пл90_Пар	29,95	93	32,2

Примечания: Пл30, 60, 90 – после модификации плазмой при времени обработок 30с, 60с, 90с; Гамма – после  $\gamma$ -излучения; Пар – после паровой стерилизации.

Известно, что кристалличность увеличивает значения модуля Юнга и прочности полимеров. Так, например, в работе Н. Tsuji и Y. Ikada приводится зависимость модуля Юнга от степени кристалличности пленок полимолочной кислоты различного производства и молекулярного веса. Согласно работе [446] кристалличность увеличивается в результате разрыва цепей полимера, что влечет за собой увеличение модуля Юнга.

На термограммах трековых мембран из ПМК (рис. 4.76), полученных после травления в 1,0М NaOH при температуре травления 44°C, замечен рост

интенсивности пика плавления, что соответствует увеличению кристалличности ТМ (рис. 4.76).

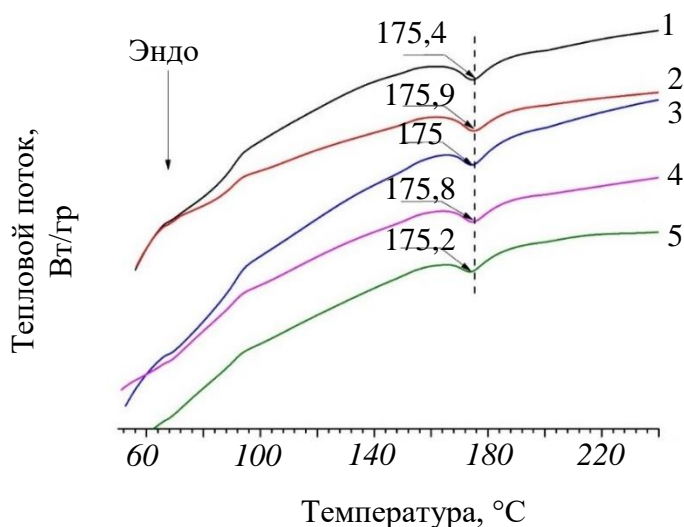


Рисунок 4.76 – Термограммы ТМ из ПМК, полученных после травления в 1,0М NaOH при температуре травления 44°C, в зависимости от времени травления: 1 – 10 минут; 2 – 15 минут; 3 – 20 минут; 4 – 25 минут; 5 – 30 минут

Расчет степени кристалличности трековых мембран из ПМК показал, что процесс создания мембраны (облучение материала и последующее его травление) способствует увеличению кристалличности полимера на 13% при экспозиции пленки в травителе 10 минут (рис. 4.77). С увеличением времени травления степень кристалличности падает на 12%, что фактически не отличается от значений исходного необлученного материала.

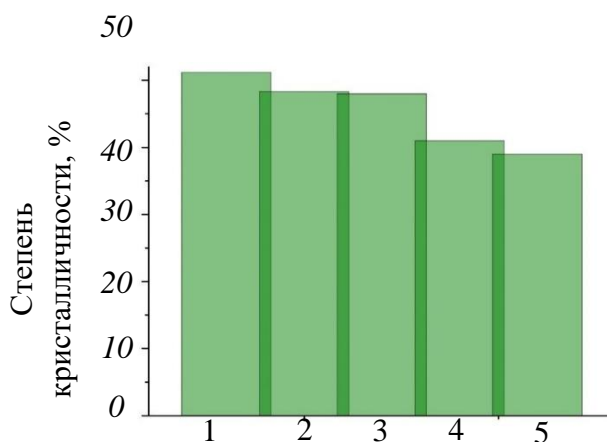


Рисунок 4.77 – Зависимость степени кристалличности ТМ из ПМК, полученных после травления в 1,0М NaOH при температуре травления 44°C, в зависимости от времени травления: 1 – 10 минут; 2 – 15 минут; 3 – 20 минут; 4 – 25 минут; 5 – 30 минут

#### 4.10 Результаты наблюдения микробицидной эффективности воздействия низкотемпературной плазмы

В результате оценки бактерицидного действия низкотемпературной плазмы атмосферного давления было выявлено помутнение сред группы образцов без стерилизации плазмой в первые сутки инкубации (табл. 4.7), как и в случае с мембранами из ПЭТФ (глава III).

Таблица 4.7 – Результаты контроля стерильности трековых мембран из полимолочной кислоты методом прямого посева

Испытуемые образцы	Посев на питательную среду	
	Тиогликолевая среда	Бульон Сабуро
Обработка плазмой 30с	–	–
Обработка плазмой 60с	–	–
Обработка плазмой 90с	–	–
Без плазменного воздействия	+	+

Среды с мембранами из полимолочной кислоты после воздействия плазмы оставались прозрачными на протяжении всего эксперимента (табл. 4.7).

Таким образом, полученные результаты по оценке бактерицидного действия низкотемпературной плазмы атмосферного давления трековых мембран из ПЭТФ и полимолочной кислоты позволяют сделать вывод, что данный тип плазмы обладает стерилизующей способностью уже на 30 секундах и может применяться в качестве стерилизующего агента.

#### 4.11 Требования к параметрам кератоимплантата из полимолочной кислоты для лечения буллёзной кератопатии

Кератоимплантат из полимолочной кислоты может быть получен путем облучения пленки полимолочной кислоты толщиной (15–25)мкм пучком тяжелых ионов Хе с энергией 160 МэВ, травлению в водном 1,0М растворе NaOH при температуре 44°C в течении 15 минут и последующей модификации

поверхностей изделия низкотемпературной плазмой в течении 30с. При заданных условиях получения кератоимплантат отвечает необходимыми для использования в кератопластике в лечении буллёзной кератопатии требованиям: средним диаметром пор 0,4–1,5 мкм; средней плотностью пор  $(3,2 \pm 0,4) \cdot 10^6$  пор/см<sup>2</sup>; геометрией пор – цилиндрической; краевым углом смачивания 35°–55°; поверхностной энергией 25–55 мДж/м<sup>2</sup>; коэффициентом пропускания не ниже 85%.

Стерилизация разработанного изделия из полимолочной кислоты возможно проводить путем  $\gamma$ -иррадиация <sup>60</sup>Со в стерилизующих дозах согласно ГОСТ Р ИСО 11137-2000, а также стерилизующим агентом ионизированной плазменной средой на установке низкотемпературной плазмы путем обработки продолжительностью 30 секунд каждой стороны имплантата в асептических условиях в соответствии с МУ 287–113, ГОСТ ИСО 11737–2–2011, ГОСТ ИСО 11737–1–2012, ГОСТ Р ИСО 14937–2012, ГОСТ Р ИСО 14630–2011, после чего кератоимплантат может храниться в специальных пакетах для стерилизации в течение 21 дня до момента использования. Возможна стерилизация газовым методом – этилен оксидом в соответствии с ГОСТ ISO 11135-2017.

Условия хранения готового изделия: в упаковке при температуре от +5 до +40°С, влажности не выше 80%, вдали от источников тепла, в месте, защищенном от влаги и прямых солнечных лучей.

#### **Выводы по главе IV**

1. Оптимальным выбором для создания мембраны как будущего роговичного имплантата является пленка из ПМК, вылитая из раствора 10 г, так как отвечает нужным требованиям: толщиной  $20 \pm 1,5$  мкм, рельефной поверхностью, более выраженной с внешней стороны. Однако, пленка из ПМК с присущей ей гидрофобностью (краевым углом смачивания =  $81,1^\circ \pm 1,3^\circ$ )

менее благоприятна для адгезии и пролиферации клеток, в связи чем необходима модификации поверхности материала.

2. Модификация полученных пленок ПМК в низкотемпературной плазме атмосферного давления снижает краевой угол смачивания материала в 1,4 раза, увеличивает значение свободной энергии поверхности в 1,8 раз, образует на поверхности деструктивные области в виде многочисленных хаотично распределенных мелких неровностей конусообразной формы высотой ~50 нм.

3. Стерилизация  $\gamma$ -облучением не изменяет значений краевого угла смачивания и свободной энергии поверхности, сохраняя полученные в ходе модификации в плазме гидрофильные свойства поверхности пленок ПМК.

4. Стерилизация горячим паром под давлением имеет негативное влияние на морфологию поверхности пленок ПМК, деформируя и местами разрушая материал, что, в свою очередь сказывается на увеличении параметров шероховатости и не может случить методом выбора стерилизации тонких пленок рассматриваемого полимера.

5. Оптимальным режимом травления для получения трековых мембран из облучённых  $^{132}\text{Xe}^{+26}$  пленок ПМК является травление треков в 1,0М растворе NaOH при температуре 44°C. При температуре травителя свыше 44°C отмечается ухудшение структурных характеристик мембран.

6. Процесс создания мембраны (облучение пленки ПМК и последующее ее травление) способствует увеличению кристалличности полимера на 13% при экспозиции пленки в травителе 10 минут. С увеличением времени травления степень кристалличности падает.

7. Коэффициент пропускания мембран из ПМК в области видимого излучения лежит в пределах 95% – 98%, что характеризует материал как изделие с высокой пропускной способностью. Выраженная интерференция материала связана с её неоднородностью, выраженной наличием пор.

8. Низкотемпературная плазма атмосферного давления обладает стерилизующей способностью уже на 30 секундах и может применяться в качестве стерилизующего агента для трековых мембран из ПМК.

## ГЛАВА V МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ РАЗРАБОТАННЫХ КЕРАТОИМПЛАНТАТОВ В ЛЕЧЕНИИ БУЛЛЕЗНОЙ КЕРАТОПАТИИ

### 5.1 Цитотоксичность кератоимплантатов из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты

Жизнеспособность клеток, культивируемых с модифицированными в плазме и не модифицированными трековыми мембранами из ПЭТФ, составила 94,98% и 95,25% соответственно (табл. 5.1). Жизнеспособность клеток, культивируемых с модифицированными в плазме и не модифицированными трековыми мембранами из ПМК, составила 94,73% и 94,83% соответственно (табл. 5.1).

Таблица 5.1 – Влияние трековых мембран из ПЭТФ и ПМК, модифицированных и не модифицированных в плазме, на жизнеспособность мононуклеаров крови с применением метода МТТ–теста

Исследуемые образцы	n	Жизнеспособность клеток, <i>Me</i> , %	H	p
Контроль реактива	5	95,03	0,246	0,884
Трековая мембрана из ПЭТФ	5	94,98		
Трековая мембрана из ПЭТФ после модификации в плазме	5	95,25		
Трековая мембрана из ПМК	5	94,73		
Трековая мембрана из ПМК после модификации в плазме	5	94,83		

Примечание: Данные представлены в виде медианы (*Me*), характеризующей центральную тенденцию. Данные представлены в % от *Me* контроля; n – количество измерений, H – значение критерия Крускала-Уолиса, p – уровень статистической значимости различий по сравнению с контролем.

В контрольной группе образцов жизнеспособность клеток была 95,03%.

Результаты проточной цитофлуометрии (рис. 5.1 – 5.5) коррелируют с данными, полученными путем МТТ-теста (табл. 5.1).

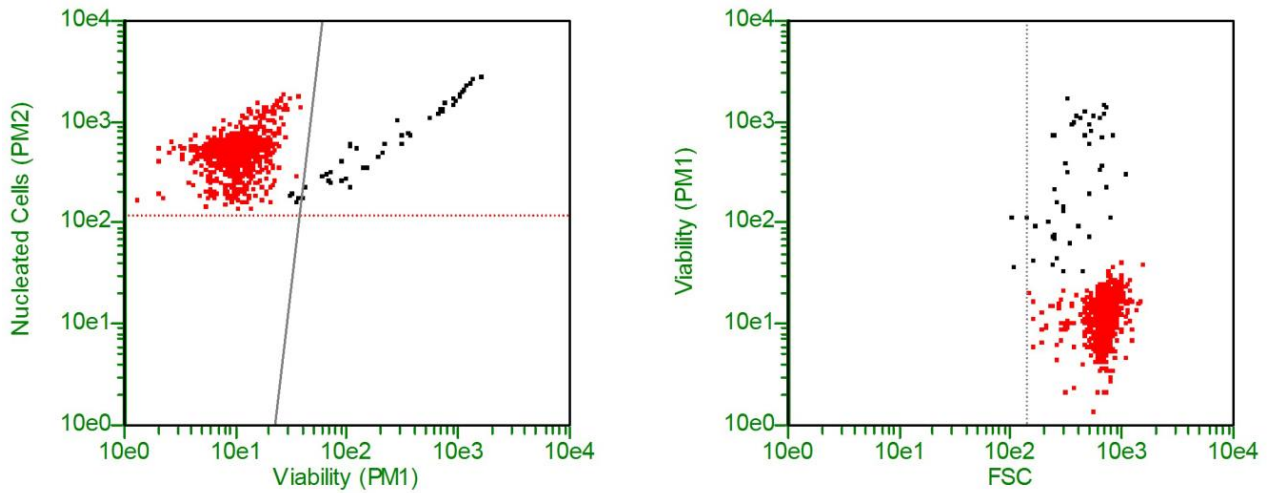


Рисунок 5.1 – Количество жизнеспособных и погибших клеток *in vitro* контрольной группы

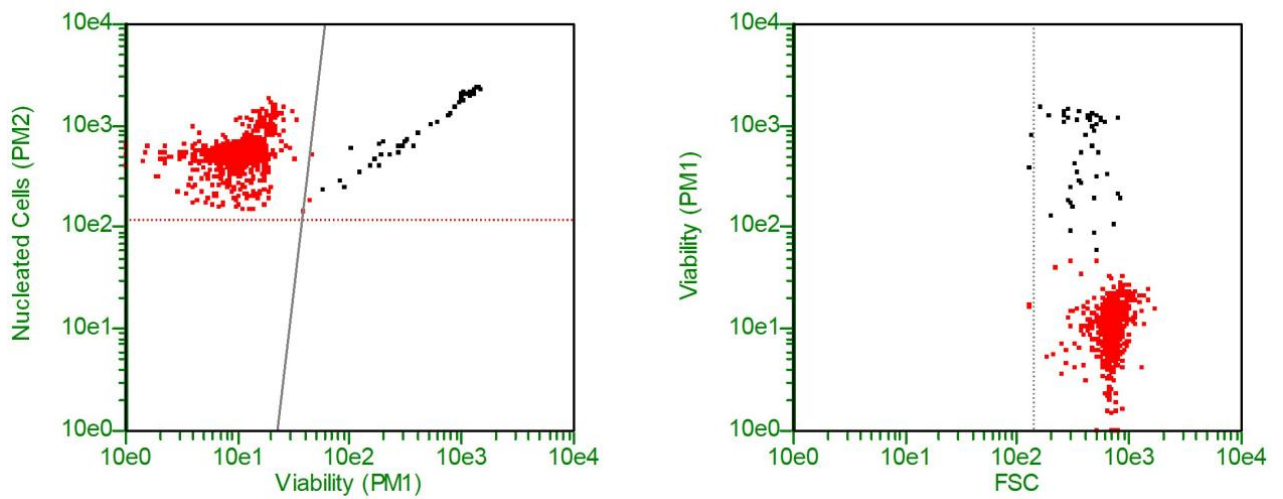


Рисунок 5.2 – Количество жизнеспособных и погибших клеток *in vitro*, культивируемых с не модифицированными трековыми мембранами из ПЭТФ



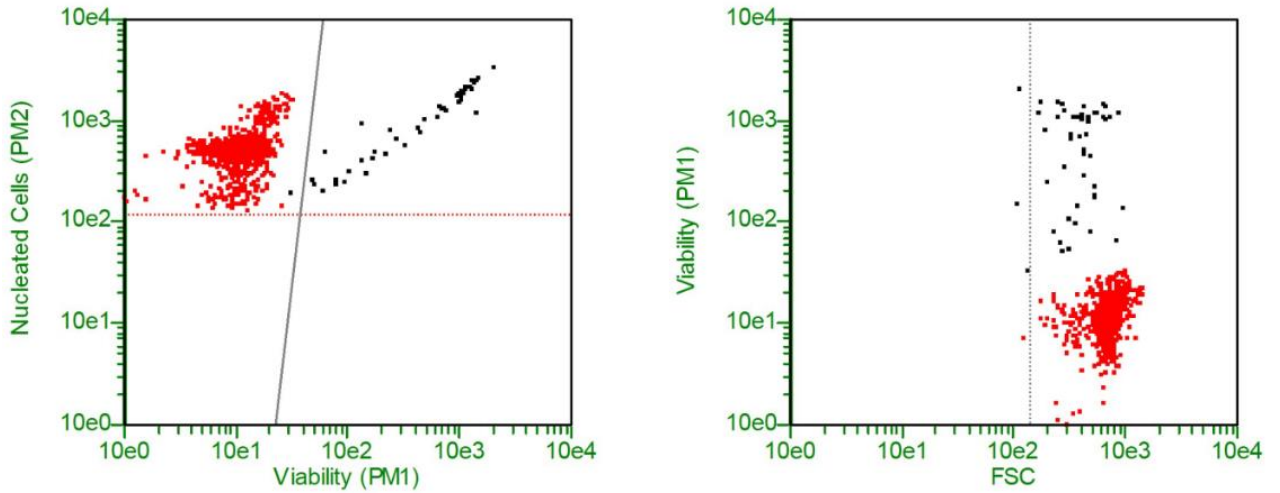


Рисунок 5.3 – Количество жизнеспособных и погибших клеток *in vitro*, культивируемых с модифицированными трековыми мембранами из ПЭТФ

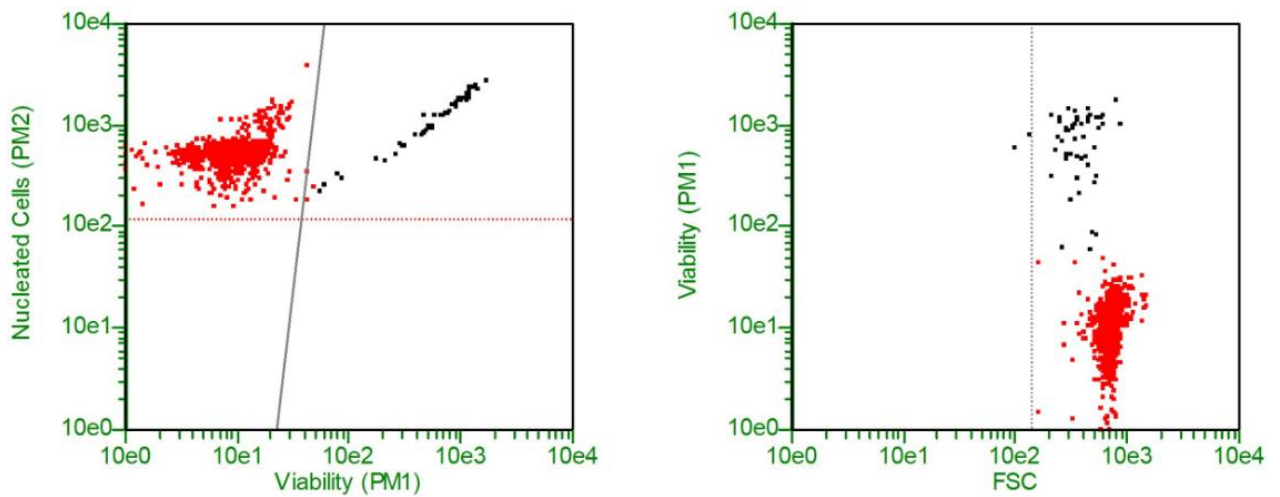


Рисунок 5.4 – Количество жизнеспособных и погибших клеток *in vitro*, культивируемых с не модифицированными трековыми мембранами из ПМК

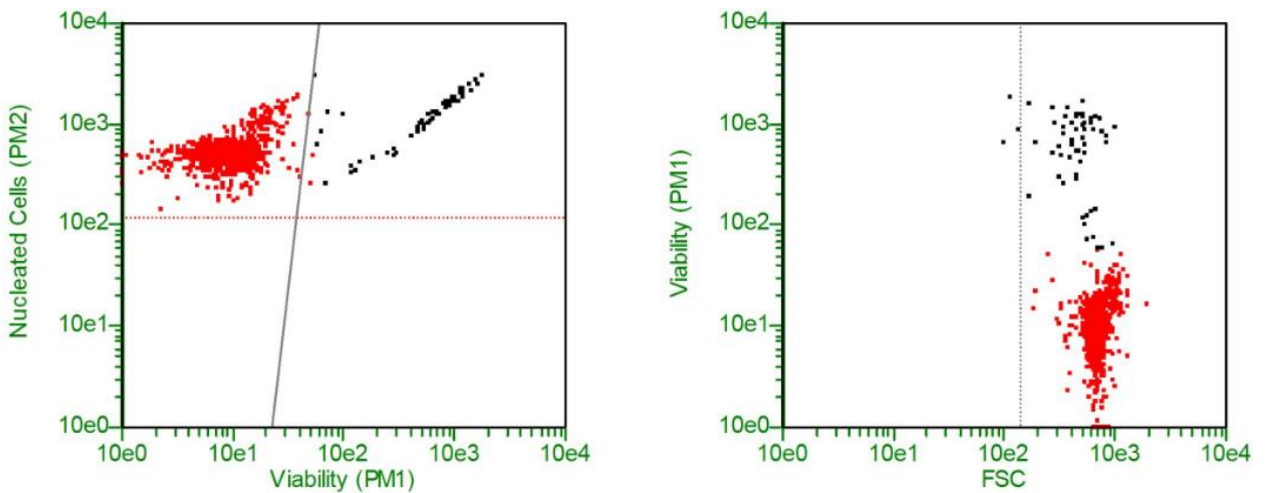


Рисунок 5.5 – Количество жизнеспособных и погибших клеток *in vitro*, культивируемых с модифицированными трековыми мембранами из ПМК

Результаты проведенного испытания на цитотоксичность трековых мембран из ПЭТФ и ПМК до и после модификации в плазме свидетельствуют об отсутствии цитотоксического действия мембран на культуру моноклеарных клеток.

## 5.2 Результаты *in vitro* реакции стромальных клеток на кератоимплантаты из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты

Проблемой полимерных медицинских изделий является усиление фиброгенеза, приводящее к формированию соединительно-тканной капсулы вокруг имплантатов и, как следствие, к неумеху использования данного материала для офтальмологических приложений.

Результаты *in vitro* реакции стромальных клеток на трековые мембраны из ПЭТФ и ПМК показали слабую экспрессию виментина (внутриклеточного маркера фибробластов) в единичных пренатальных стромальных клетках (ПСК) (рис. 5.6, рис. 5.7).

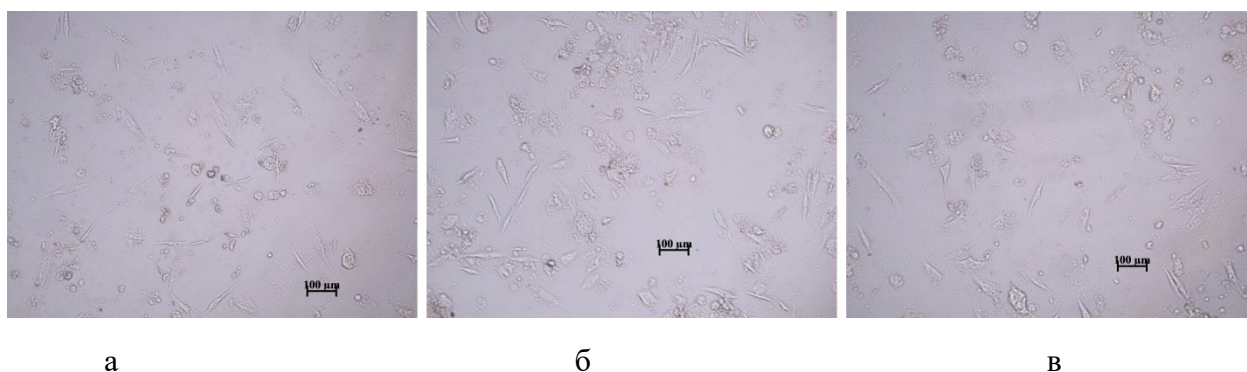


Рисунок 5.6 – Состояние 3–суточной культуры фибробластоподобных ПСК в условиях сокультивирования с тестируемыми материалами: а) контроль роста клеток; б) трековая мембрана из ПЭТФ; в) трековая мембрана из ПЭТФ после модификации в плазме.

Окраска на виментин

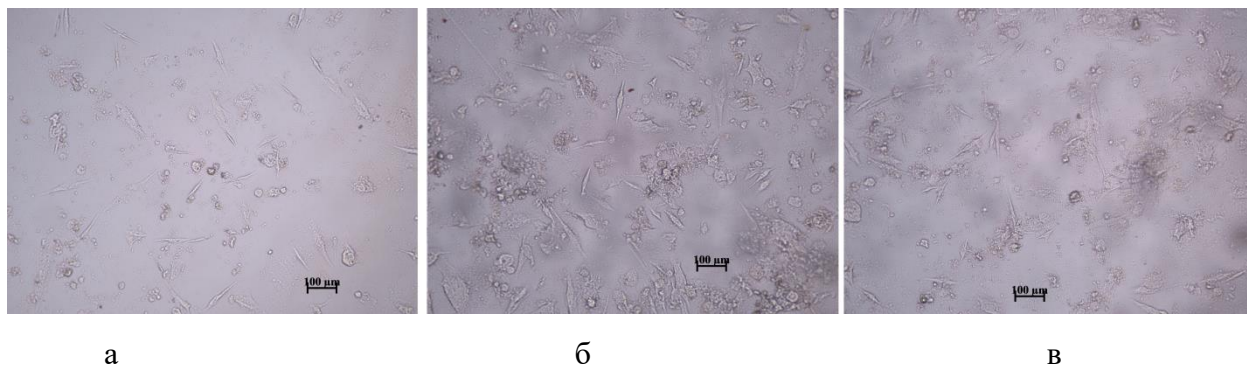


Рисунок 5.7 – Состояние 3–суточной культуры фибробластоподобных ПСК в условиях сокультивирования с тестируемыми материалами: а) контроль роста клеток; б) трековая мембрана из ПМК; в) трековая мембрана из ПМК после модификации в плазме. Окраска на виментин

Этот факт указывает на отсутствие стимулирующего влияния на дифференцировку и созревание стволовых клеток, относящихся к пулу мезенхимальных стромальных клеток (МСК), в фибробласты, и на минимальный риск развития фиброваскулярной пролиферативной реакции.

Сорбция различных ионов, в особенности кальция, на поверхности имплантатов для тканей роговицы является нежелательным явлением [447], так как она может приводить к нарушению оптических характеристик глаза. Изменение уровней кальция, неорганического фосфора и активности щелочной фосфатазы в биологических средах *in vitro* рассматривается в качестве маркеров остеогенных потенциалов фибробластоподобных клеток [448, 449, 450].

Согласно полученным данным (рис. 5.8 – 5.12), стерилизация мембран  $\gamma$ -лучами не сопровождается изменением их сорбционных свойств в культуральной среде, насыщенной биологически активными ионами, по сравнению с контрольной культурой. Модификация мембран в плазме способствует снижению на 6% в сравнении с группой без модификации в плазме,  $p < 0,05$ , концентрации фосфатных групп в супернатантах, что, возможно, связано с повышенным отложением анионов неорганического фосфора на материале, увеличением заряда полимера и его гидрофильности после плазменной обработки.

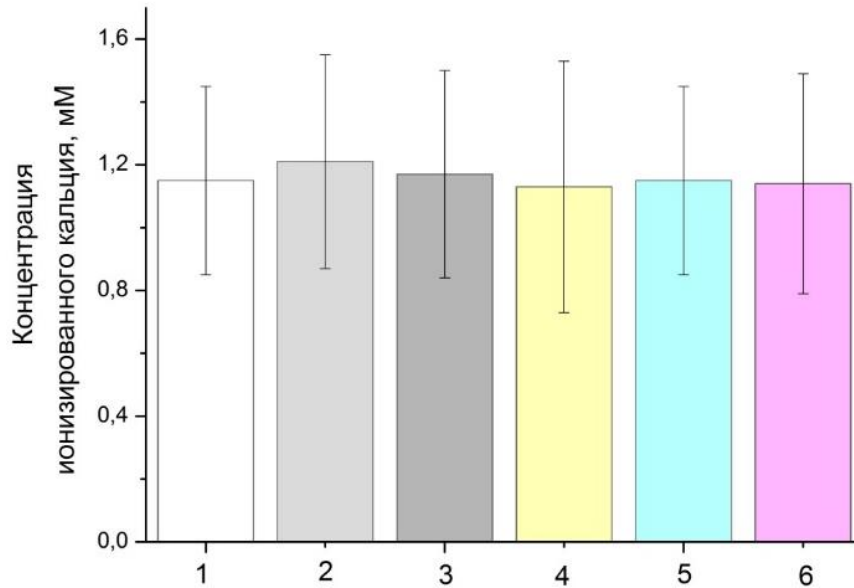


Рисунок 5.8 – Концентрация (мМ) ионизированного кальция в супернатантах 3-суточной культуры ПСК при прямом контакте с мембранами после различной обработки их поверхности. 1 – полная культуральная среда; 2 – контроль роста клеток; 3 – ТМ из ПЭТФ в контакте с клетками; 4 – ТМ из ПЭТФ после модификации в плазме в контакте с клетками; 5 – ТМ из ПМК в контакте с клетками; 6 – ТМ из ПМК после модификации в плазме в контакте с клетками

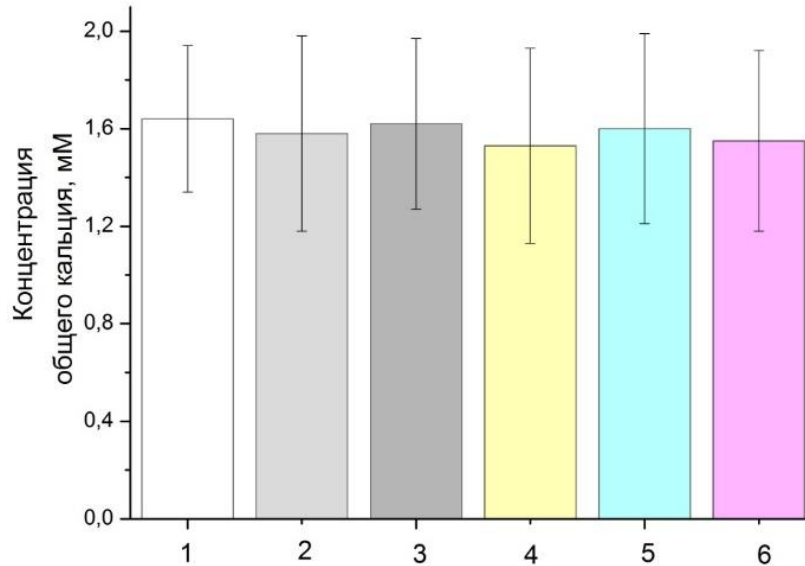


Рисунок 5.9 – Концентрация (мМ) общего кальция в супернатантах 3-суточной культуры ПСК при прямом контакте с мембранами после различной обработки их поверхности. 1 – полная культуральная среда; 2 – контроль роста клеток; 3 – ТМ из ПЭТФ в контакте с клетками; 4 – ТМ из ПЭТФ после модификации в плазме в контакте с клетками; 5 – ТМ из ПМК в контакте с клетками; 6 – ТМ из ПМК после модификации в плазме в контакте с клетками

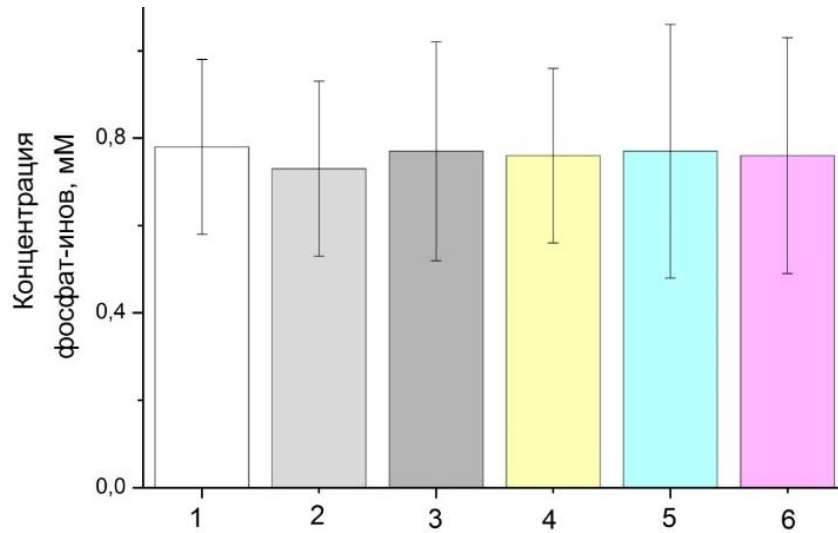


Рисунок 5.10 – Концентрация (мМ) фосфат-ионов в супернатантах 3-суточной культуры ПСК при прямом контакте с мембранами после различной обработки их поверхности. 1 – полная культуральная среда; 2 – контроль роста клеток; 3 – ТМ из ПЭТФ в контакте с клетками; 4 – ТМ из ПЭТФ после модификации в плазме в контакте с клетками; 5 – ТМ из ПМК в контакте с клетками; 6 – ТМ из ПМК после модификации в плазме в контакте с клетками

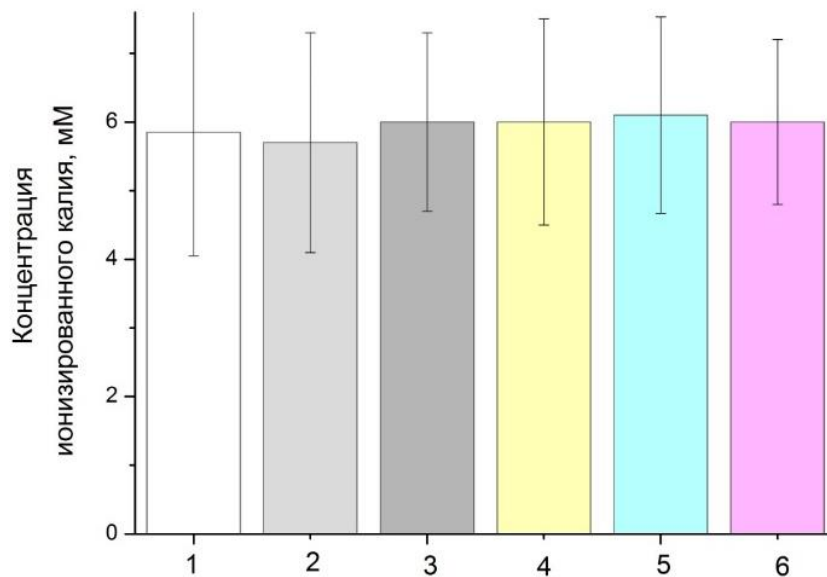


Рисунок 5.11 – Концентрация (мМ) ионизированного калия в супернатантах 3-суточной культуры ПСК при прямом контакте с мембранами после различной обработки их поверхности. 1 – полная культуральная среда; 2 – контроль роста клеток; 3 – ТМ из ПЭТФ в контакте с клетками; 4 – ТМ из ПЭТФ после модификации в плазме в контакте с клетками; 5 – ТМ из ПМК в контакте с клетками; 6 – ТМ из ПМК после модификации в плазме в контакте с клетками

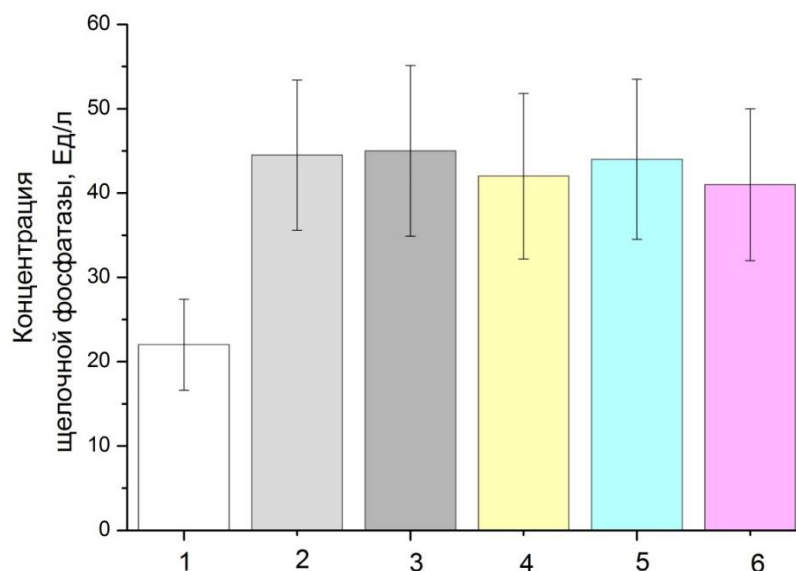


Рисунок 5.12 – Концентрация (Ед/л) щелочной фосфатазы в супернатантах 3-суточной культуры ПСК при прямом контакте с мембранами после различной обработки их поверхности. 1 – полная культуральная среда; 2 – контроль роста клеток; 3 – ТМ из ПЭТФ в контакте с клетками; 4 – ТМ из ПЭТФ после модификации в плазме в контакте с клетками; 5 – ТМ из ПМК в контакте с клетками; 6 – ТМ из ПМК после модификации в плазме в контакте с клетками

Результаты *in vitro* реакции культуры фибробластоподобных клеток на клеточно–молекулярную биосовместимость трековых мембран из ПЭТФ и ПМК свидетельствуют об их относительной биоинертности в отношении стромальных клеток человека.

Таким образом, в результате проведенного цитологического испытания на биосовместимость и цитотоксичность трековых мембран из ПЭТФ и ПМК до и после пламенного воздействия установлено, что мембраны не оказывают цитотоксического действия на изолированные клетки костного мозга и морфологию монослойных культур мезенхимальных стволовых клеток.

### 5.3 Особенности патогенеза экспериментально индуцированной буллёзной кератопатии

В ходе изучения динамики течения буллёзной кератопатии, индуцированной путем механического повреждения и удаления ее эндотелиального слоя, первые, по данным наружного осмотра, признаки дистрофии роговой оболочки, проявляющиеся в виде светобоязни, слезотечения, расширения сосудов конъюнктивы глазного яблока и диффузного отека роговицы (рис. 5.13), обнаруживались у всех экспериментальных животных уже через 2 недели после воспроизведения модели заболевания.

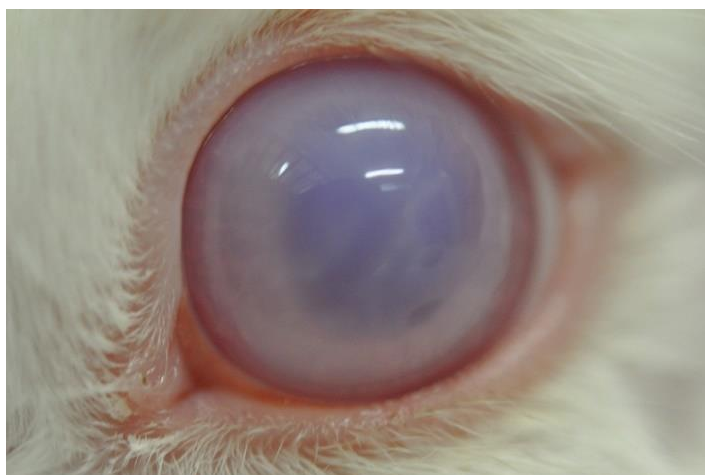


Рисунок 5.13 – Диффузный отек роговицы экспериментального животного через 2 недели после развития буллёзной кератопатии

Согласно результатам ОКТ роговицы, у всех экспериментальных животных после моделирования заболевания отмечались увеличение за счет отека толщины роговой оболочки в 2 раза по сравнению с нормальным показателем (норма – 350мкм, рис. 5.14), составляя в среднем 744мкм (рис. 5.15), и скопление жидкости между передним эпителием и Боуменовой мембраной с формированием пузырей (булл) на поверхности роговой оболочки (рис. 5.16).



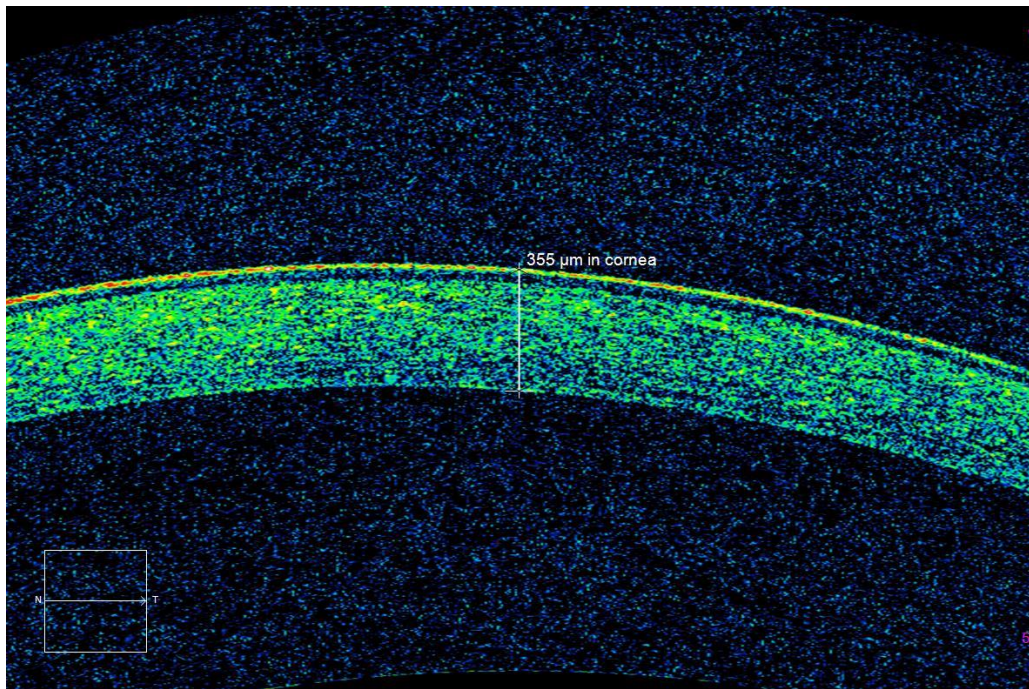


Рисунок 5.14 – ОКТ-томограмма нормальной толщиной роговицы экспериментального животного интактной группы

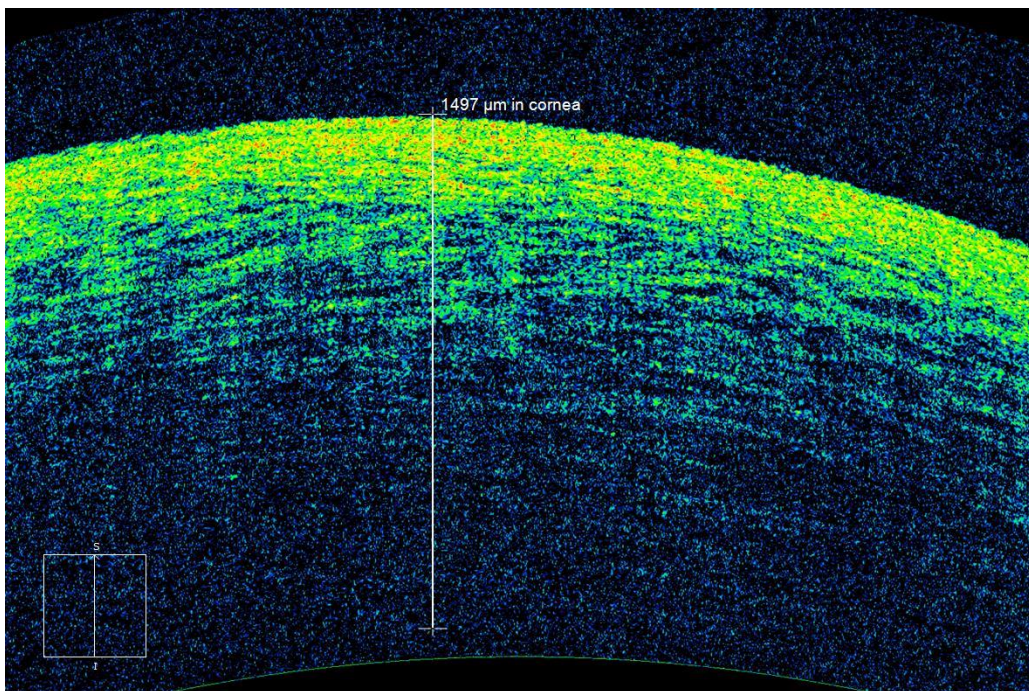


Рисунок 5.15 – ОКТ-томограмма роговицы увеличенной толщины за счет диффузного отека переднего эпителия и стромы у экспериментального животного через 2 недели после развития индуцированной буллезной кератопатии



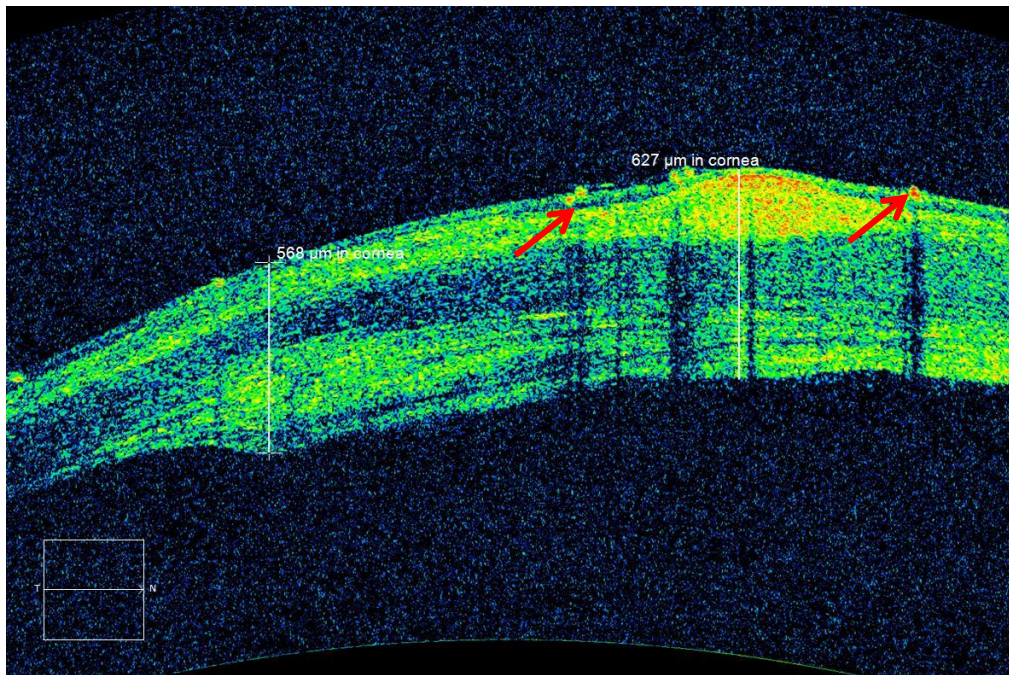


Рисунок 5.16 – ОКТ-томограмма роговицы с формированием булл (указаны стрелками) на поверхности роговой оболочки у экспериментального животного через 2 недели после развития индуцированной буллёзной кератопатии

По данным световой микроскопии у животных с индуцированной буллёзной кератопатией во всех слоях роговицы обнаруживались изменения, характерные для данного заболевания. Так, например, в переднем эпителии выявлялись признаки баллонной дистрофии (рис. 5.17). Количество дистрофически измененных эпителиоцитов составляло 21,1 (20–22,2) клеток в поле зрения. Толщина переднего эпителия находилась в пределах 48,3 (44,8–51,8) мкм, что превышало нормальный показатель в 1,7 раза. Боуменова мембрана была неравномерно утолщена. Собственное вещество роговицы было представлено гидратированными коллагеновыми волокнами, между которыми обнаруживались тканевые пространства-щели (удельный объем – 32,7 (29,8–35,6)%), что свидетельствовало о наличии отека в строме роговой оболочки (рис. 5.18). Задняя пограничная мембрана была неравномерно утолщена, эндотелий отсутствовал на всем протяжении.

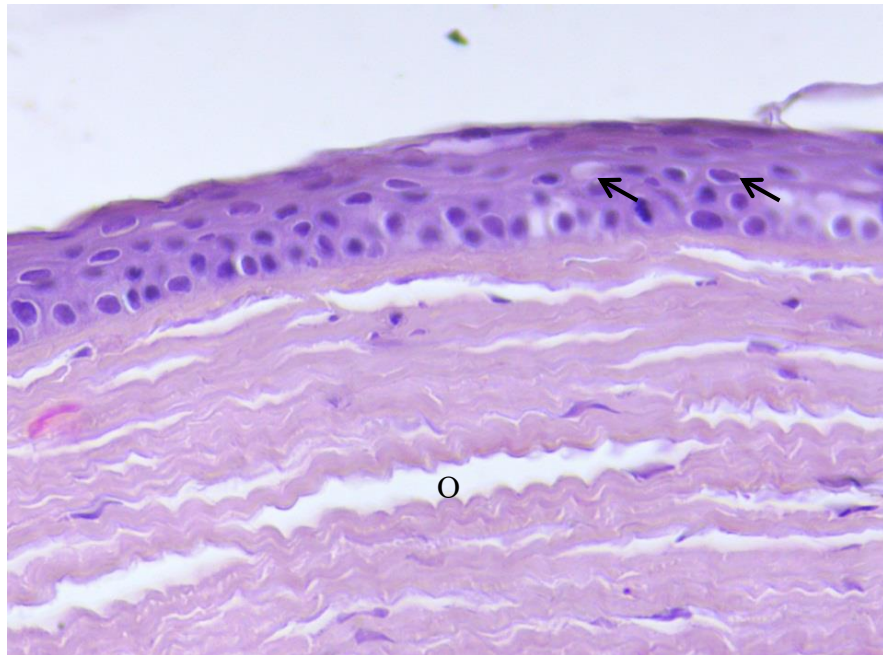


Рисунок 5.17 – Отек (O) собственного вещества и эпителиоциты с признаками баллонной дистрофии (стрелки) роговицы экспериментального животного через 2 недели после развития индуцированной буллезной кератопатии. Окраска гематоксилином и эозином, x200

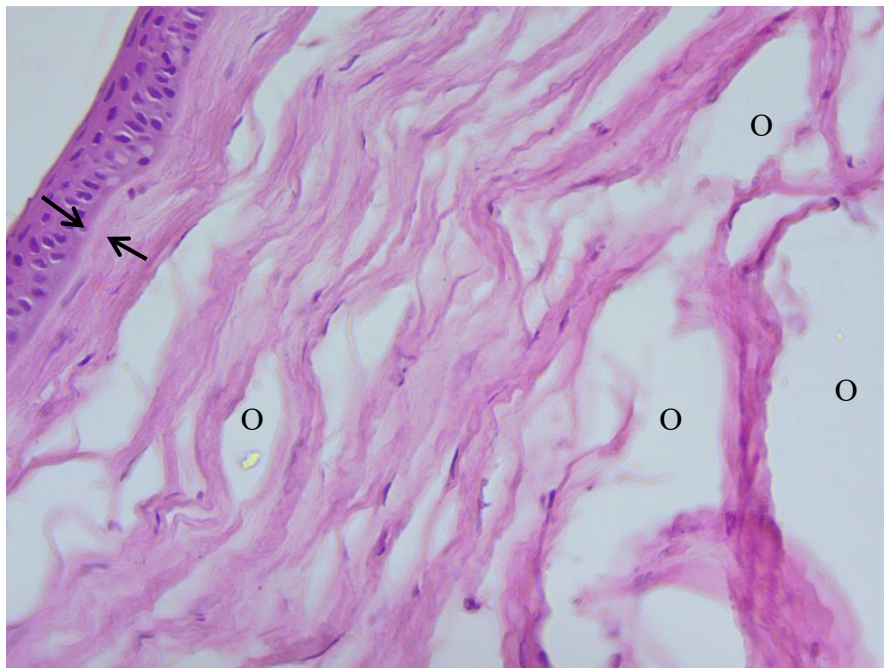


Рисунок 5.18 – Отек (O) собственного вещества, утолщение Боуеновой мембраны (стрелки) роговицы экспериментального животного через 2 недели после развития индуцированной буллезной кератопатии. Окраска гематоксилином и эозином, x200

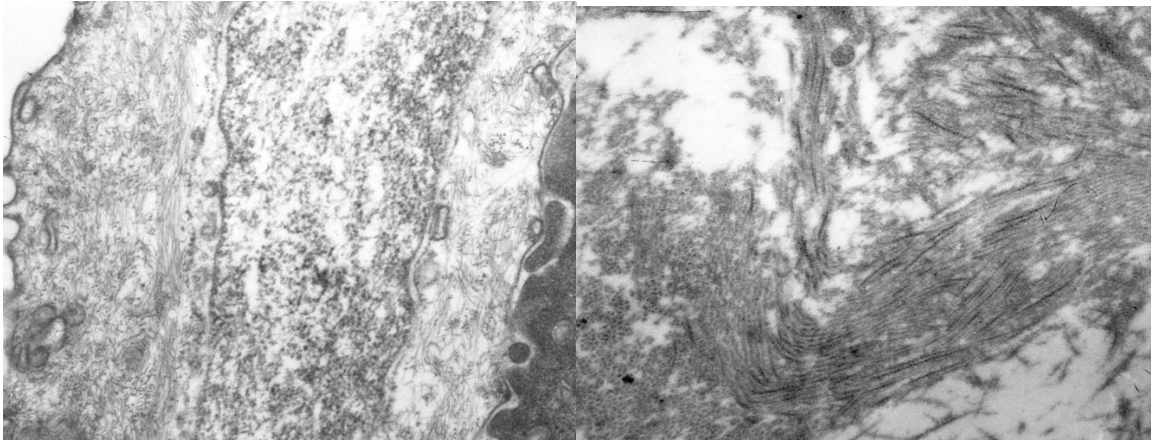
Необходимо отметить, что сроки развития признаков экспериментально индуцированной буллезной кератопатией были

сопоставимы с таковыми при течении данного заболевания роговой оболочки в клинической практике [431]. Это, в свою очередь, свидетельствует об адекватности выбранной модели заболевания.

У интактных глаз, по данным световой микроскопии, передний эпителий роговой оболочки был представлен 4–5 слоями плоских клеток, и его толщина составляла в среднем 29,1 (26,2–32) мкм. Боуменова мембрана дифференцировалась на всем протяжении и имела нормальное строение. Собственное вещество роговой оболочки содержало компактно расположенные коллагеновые волокна с нормальными тинкториальными свойствами. Задняя пограничная мембрана хорошо визуализировалась на всем протяжении и была гомогенна. Эндотелий был представлен одним слоем клеток.

Согласно результатам электронно-микроскопического исследования у животных с индуцированной буллезной кератопатией наблюдались изменения клеток эпителия (рис. 5.19а). Эндоплазматическая сеть (ЭПС), расположенная вокруг ядра эпителиоцитов, была с расширенными просветами полостей. В цитозоле наблюдались множественные фаголизосомы и аутофагосомы. Местами кристы митохондрий были фрагментированы. В ядре преобладал эухроматин, ядрышко не визуализировалось.

Вокруг фибробластов определялось межклеточное вещество, коллагеновые фибриллы в котором были слабоупорядочены (рис. 5.19б). Коллагеновые волокна имели повышено извитой ход.



а

б

Рисунок 5.19 – ПЭМ микрофотографии эпителиоцитов (а), пучков коллагеновых волокон (б) с повышено извитым ходом и щелями между ними роговицы экспериментального животного после развития индуцированной буллёзной кератопатии. Увеличение  $\times 4000$  (а) и  $\times 5800$  (б)

ЭПС фибробластов была с расширенными просветами полостей (рис. 5.20). В цитозоле встречались фаголизосомы. Кристы митохондрий визуализировались фрагментировано. Ядро крупное, неправильной формы с преобладанием эухроматина, ядрышко не визуализировалось.

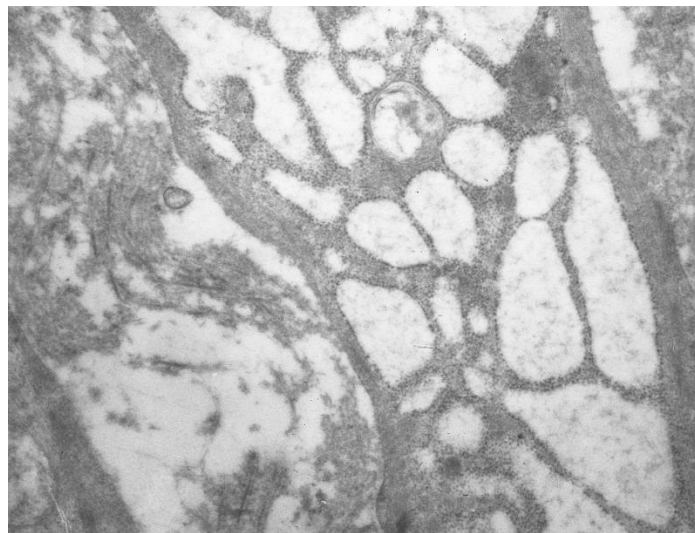
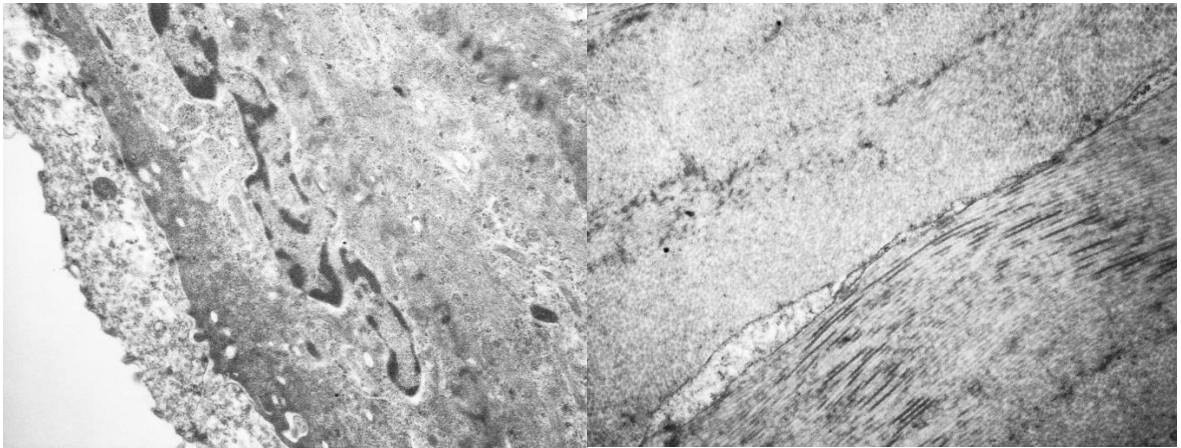


Рисунок 5.20 – ПЭМ микрофотография фибробласта с расширенными просветами полостей ЭПС роговицы экспериментального животного после развития индуцированной буллёзной кератопатии. Увеличение  $\times 5800$



У интактных глаз эпителиоциты имели крупное ядро и ядрышко с выраженными гранулярным, фибриллярным и аморфным компонентами (рис. 5.21а). Вокруг ядра присутствовала хорошо развитая гранулярная ЭПС. В цитозоле определялось много свободных рибосом, полисом и митохондрий с нормальной структурой. Между эпителиальными клетками обнаруживались хорошо заметные плотные контакты.

Коллагеновые волокна имели упорядоченный ход (рис. 5.21б), фибриллы которых были толстые, упорядоченные в продольном и поперечном направлениях.



а

б

Рисунок 5.21 – ПЭМ микрофотографии эпителиоцитов (а) и пучков коллагеновых волокон (б) роговицы экспериментального животного интактной группы. Увеличение  $\times 4000$  (а) и  $\times 5800$  (б)

Между пучками коллагеновых волокон располагались преимущественно веретеновидной и вытянутой формы клетки с относительно большими ядрами (фибробласты). Фибробласты имели нормальное строение (большое овальное ядро с четко выраженными хроматинами, нормальная структура митохондрий, не удлинненные резервуары эндоплазматической сети) (рис. 5.22).

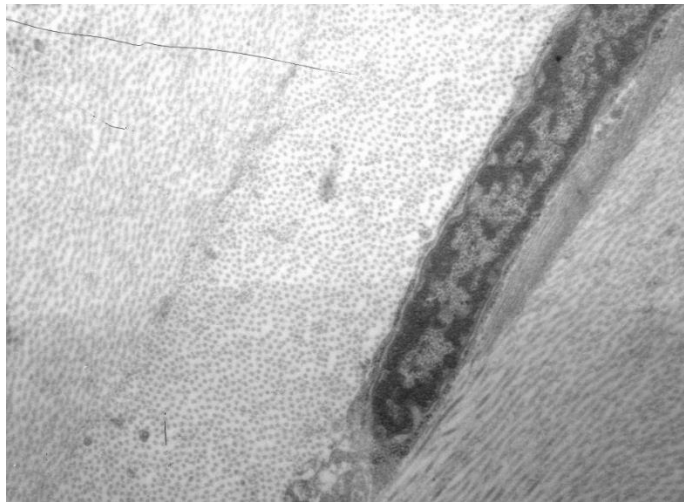


Рисунок 5.22 – ПЭМ микрофотография фибробласта роговицы экспериментального животного интактной группы. Увеличение  $\times 5800$

Предположительно, в связи с отсутствием эндотелия роговицы у экспериментальных животных внутриглазная жидкость начинает проникать в строму оболочки и вызывает ее быстро нарастающий отек. Повышение же концентрации провоспалительных цитокинов [452, 453, 454, 455] во влаге передней камеры больного глаза, в свою очередь, усиливает альтерацию всех слоев роговицы с развитием диффузного отека и дезорганизации ее основного вещества. Это, в свою очередь, сопровождается изменениями субклеточных структур роговицы в виде сморщивания митохондрий, ЭПС, появления множества фаголизосом и аутофагосом, а также высвобождением ферментов.

Кроме того, вследствие нарушения обмена веществ в роговой оболочке и распада нуклеиновых кислот повышается содержание аминокислот, полипептидов, кетоновых тел, что сопровождается развитием ацидоза в тканях роговицы. При этом увеличивается дисперсность коллоидов, способных притягивать и задерживать воду, что также способствует усилению отека как собственного вещества роговицы, так и других ее слоев. Увеличение концентрации ионов натрия, калия вследствие разрушения клеток в сочетании с усиленной диссоциацией солей в кислой среде способствуют развитию гиперосмии и дальнейшему прогрессированию отека

роговицы (рис. 5.23). Как следствие, уже через 2 недели от начала у животных выявлено развитие буллёзной кератопатии.

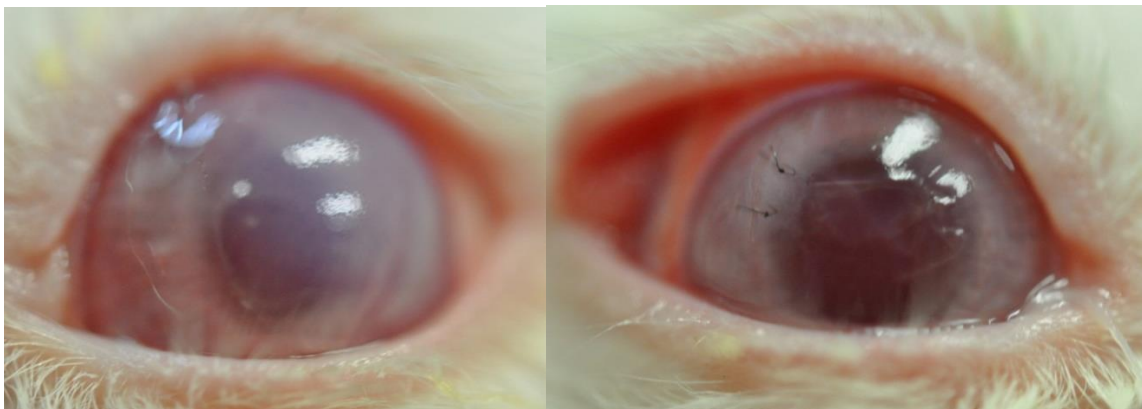


Рисунок 5.23 – Схема патогенеза экспериментально индуцированной буллёзной кератопатии

Учитывая особенности развития буллёзной кератопатии, выявленные в ходе моделирования заболевания, предложены методы хирургического лечения данной кератопатии путем внутрисклериальной имплантации трековых мембран из ПЭТФ и внутрикамерной имплантации трековых мембран из ПМК с последующим наложением суспензии аутологичных мононуклеарных лейкоцитов на заднюю – поврежденную – поверхность роговицы.

#### 5.4 Результаты внутривитреальной имплантации кератоимплантата из полиэтилентерефталата на фоне экспериментально индуцированной буллезной кератопатии в сравнении с традиционной фармакотерапией

Спустя 2 недели после внутривитреальной имплантации трековых мембран из ПЭТФ у животных третьей группы наблюдалось уменьшение блефароспазма, слезотечения, отека роговицы (рис. 5.24а). Сохранялась умеренно выраженная инъекция сосудов конъюнктивы.



а

б

Рисунок 5.24 – Состояние переднего отрезка глаза экспериментального животного с индуцированной буллезной кератопатией на 2 (а) и 4 (б) неделях после внутривитреальной имплантации трековых мембран из ПЭТФ

На 4 неделе после имплантации указанные симптомы полностью купировались, роговая оболочка была фактически полностью прозрачная. Трековая мембрана из ПЭТФ в местах неполного расправления сохраняла складки (рис. 5.24б). В роговице наблюдались новообразованные сосуды.

Спустя 2 недели от начала традиционной фармакотерапии у животных пятой группы сохранялись блефароспазм, умеренно выраженное слезотечение, выраженная инъекция сосудов конъюнктивы, отек роговицы (рис. 5.25а).





а

б

Рисунок 5.25 – Состояние переднего отрезка глаза экспериментального животного с индуцированной буллёзной кератопатией на 2 (а) и 4 (б) от начала традиционной фармакотерапии

На 4 неделе указанные симптомы заметно уменьшились, в роговице наблюдался локальный умеренно выраженный отек стромы (рис. 5.25б), новообразованные сосуды.

Согласно данным ОКТ (табл. 5.2), через 2 недели после формирования буллёзной кератопатии толщина роговицы животных всех групп составляла 740мкм. Спустя 2 недели от начала лечения у третьей группы толщина роговой оболочки уменьшилась на 19,5%, через 4 недели – на 31,7%,  $p < 0,05$  (рис. 5.26, табл. 5.2). Необходимо отметить, что значимый вклад в толщину роговицы вносил постоперационный «роговичный карман», в который имплантировалась трековая мембрана из ПЭТФ. По данным ОКТ, его глубина достигала до 60 мкм (рис. 5.26). Кроме того, учитывая значительное уменьшение стромального отека, на 4 неделе после внутростромальной имплантации трековых мембран из ПЭТФ не было отмечено появление новых или наличие старых булл на поверхности роговой оболочки (рис. 5.27, табл. 5.2).

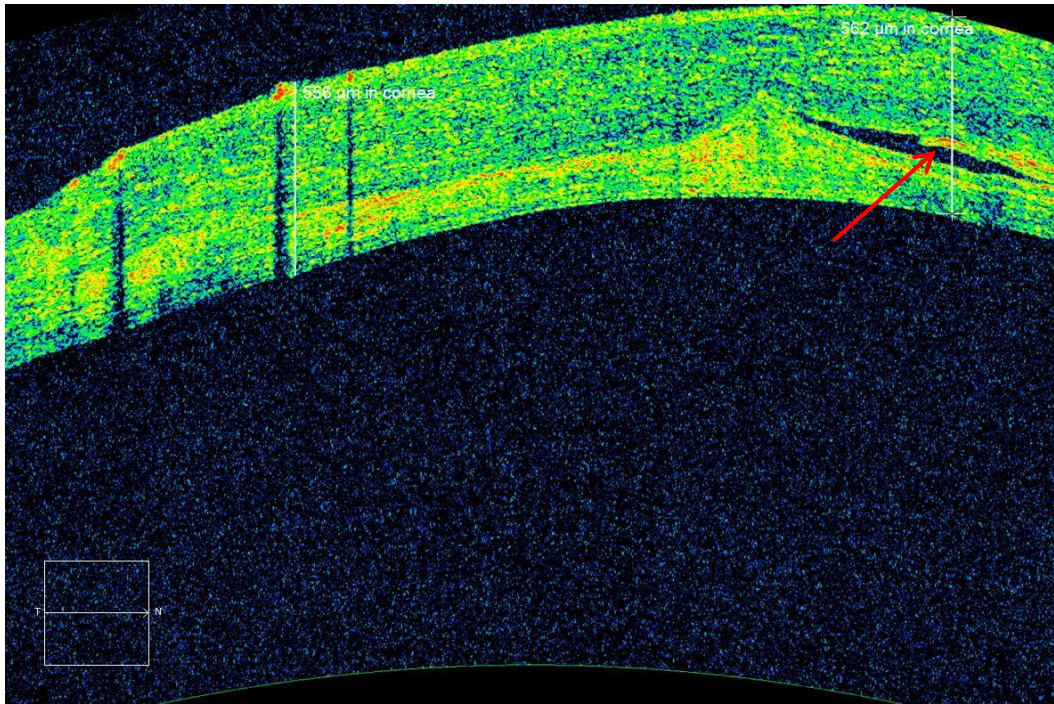


Рисунок 5.26 – Умеренно выраженный отек роговицы экспериментального животного с индуцированной буллезной кератопатией на 2 неделе после внутрискромальной имплантации трековых мембран из ПЭТФ (мембрана указана стрелкой)

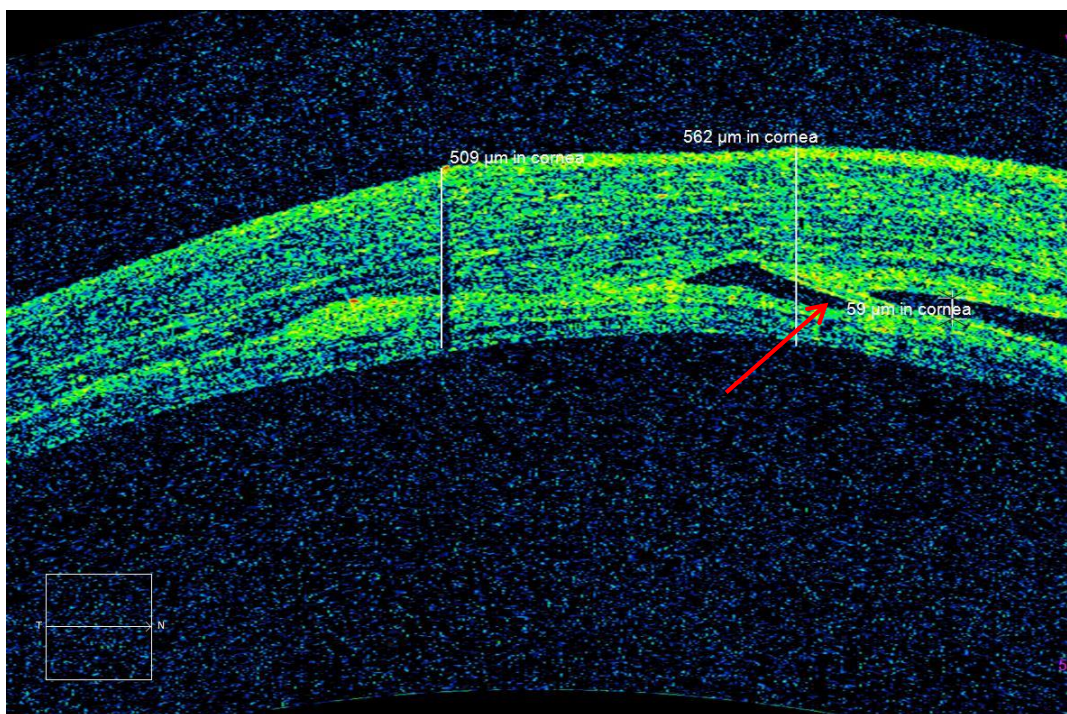


Рисунок 5.27 – Слабо выраженный отек роговицы экспериментального животного с индуцированной буллезной кератопатией на 4 неделе после внутрискромальной имплантации трековых мембран из ПЭТФ (мембрана указана стрелкой)



У животных пятой группы изменение толщины роговицы было замечено только на 4 неделе от начала лечения, которая составила 637мкм, что на 14,4% меньше исходного значения (рис. 5.28, 5.29, табл. 5.2).

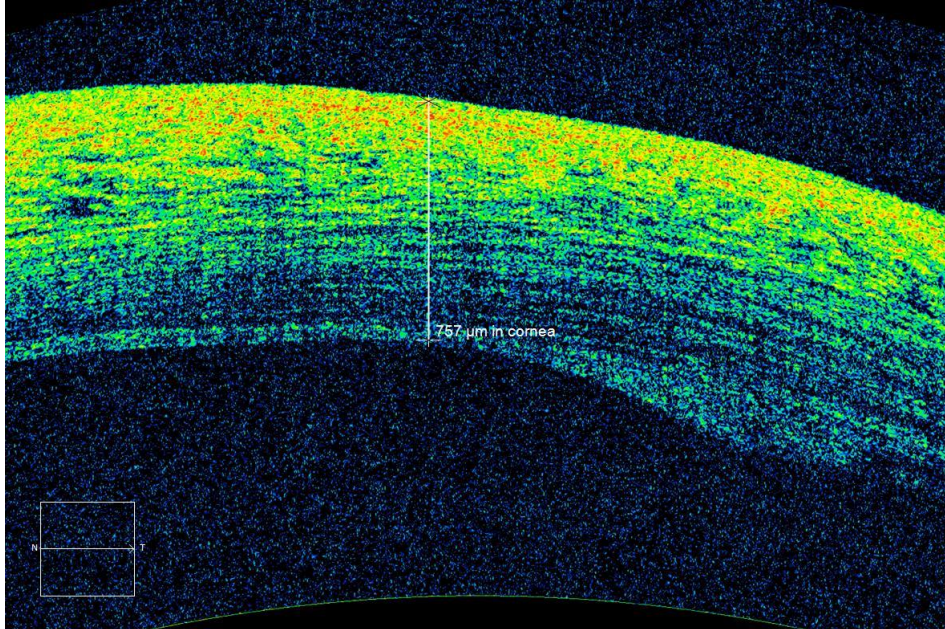


Рисунок 5.28 – Отек роговицы экспериментального животного с индуцированной буллёзной кератопатией на 2 неделе от начала традиционной фармакотерапии

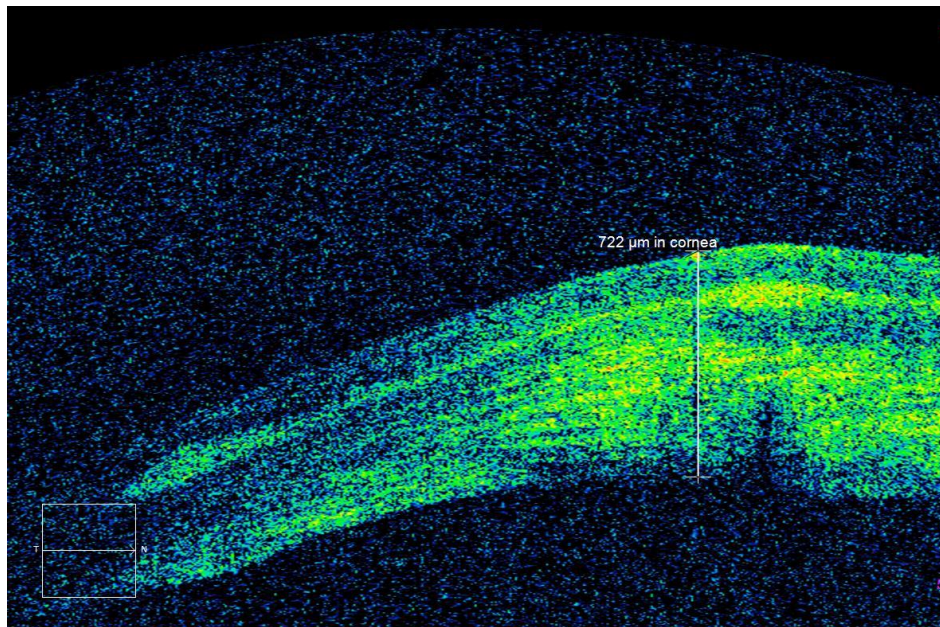


Рисунок 5.29 – Умеренно выраженный отек роговицы экспериментального животного с индуцированной буллёзной кератопатией на 4 неделе от начала традиционной фармакотерапии

Таблица 5.2 – Динамика толщины роговицы (мкм) при экспериментально индуцированной буллезной кератопатии в зависимости от метода лечения (Ме (Q1-Q3)), мкм

Группа животных	Сроки наблюдения				
	До лечения	2 неделя		4 неделя	
Третья	735 (677–793)	592 (548–636)	$p1 < 0,05$	502 (438–566)	$p1 < 0,05$
Пятая	744 (693–795)	721 (671–771)	$p1 > 0,05$	637 (596–678)	$p1 < 0,05$
$p2$	$> 0,05$	$< 0,05$	-	$< 0,05$	-

Примечание:  $p1$  - по критерию Вилкоксона;  $p2$  – по критерию Манна-Уитни.

По данным световой микроскопии, до начала лечения у всех животных с индуцированной буллезной кератопатией обнаруживались выраженные признаки баллонной дистрофии переднего эпителия, гидратация стромы с формированием тканевых щелей между коллагеновыми волокнами и значительным – в 2 раза – увеличением толщины роговой оболочки.

Через месяц после внутрисклеральной имплантации трековых мембран из ПЭТФ при гистологическом исследовании взятого материала передний эпителий роговицы имел нормальное строение и был представлен 4–5 слоями плоских эпителиоцитов (рис. 5.30). Толщина данного слоя составляла 35 (28–42) мкм, что на 27,5% ( $p < 0,05$ ) меньше значения группы модели заболевания.



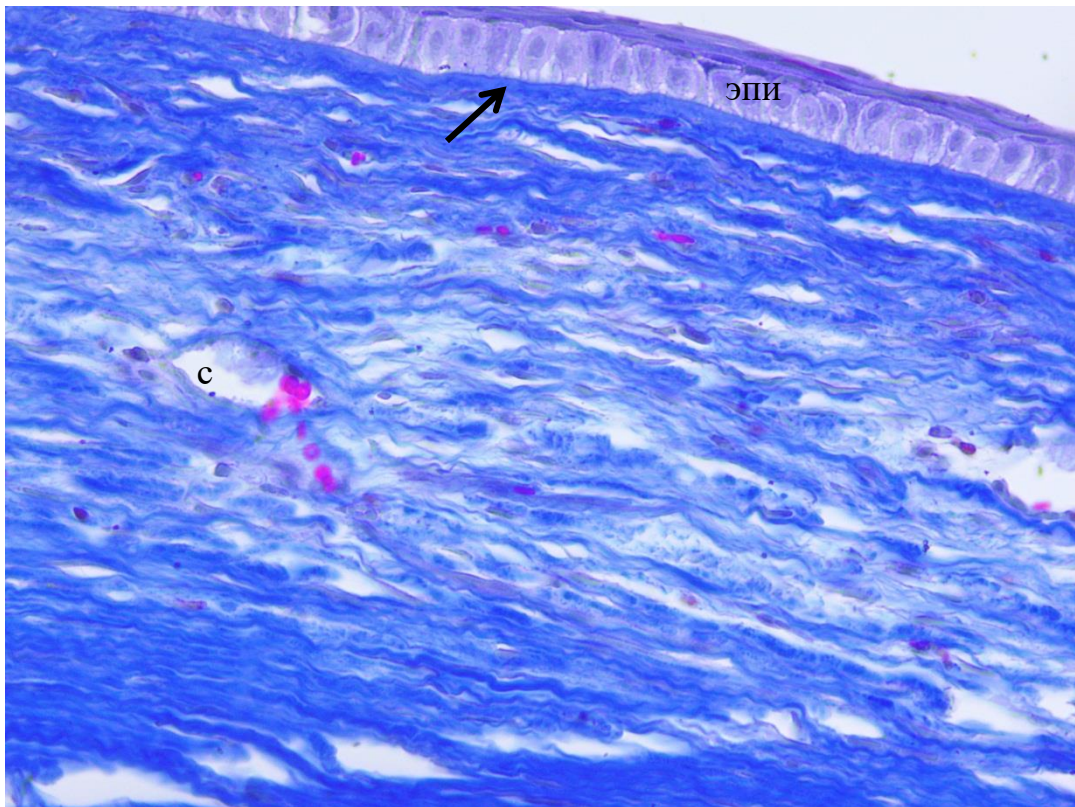


Рисунок 5.30 – Передний эпителий (эпи), Боуменова мембрана (стрелки), тонкостенный сосуд (с) роговицы экспериментального животного с индуцированной буллёзной кератопатией спустя месяц после имплантации. Окраска полихромным красителем по Маллори, x200

Собственное вещество роговой оболочки содержало в большинстве полей зрения компактно расположенные коллагеновые волокна. Местами коллагеновые волокна сохраняли умеренно выраженный повышено извитой ход (рис. 5.31). Удельный объем щелей между ними составил 12,3 (9,9–14,7)%, что в 2,6 раза ( $p < 0,05$ ) меньше группы модели заболевания.

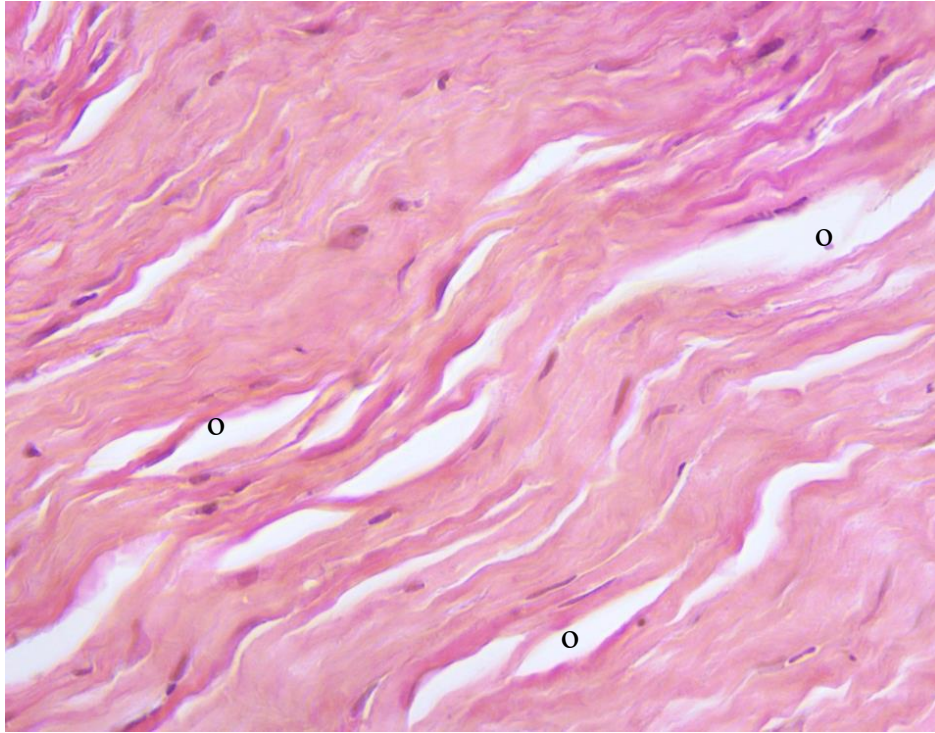


Рисунок 5.31 – Умеренно выраженный повышено извитой ход коллагеновых волокон и щели (o) между ними экспериментального животного с индуцированной буллёзной кератопатией спустя месяц после имплантации. Окраска пикрофуксином по методу Ван Гизон, x200

В нижней 1/3 стромы визуализировался послеоперационный роговичный карман с имплантированной трековой мембраной из ПЭТФ. Необходимо отметить, что больший объем щелей между волокнами локализовался между трековой мембраной и десцеметовой мембраной роговицы, что свидетельствовало о функционировании данного материала в качестве барьера, предотвращающего излишнего пропитывание стромы роговой оболочки влагой из передней камеры.

Непосредственно к мембране прилежала грануляционная ткань с умеренно выраженной лейкоцитарной инфильтрацией (рис. 5.32, 5.33), удельным объемом 8,6 (5,2–12)%.



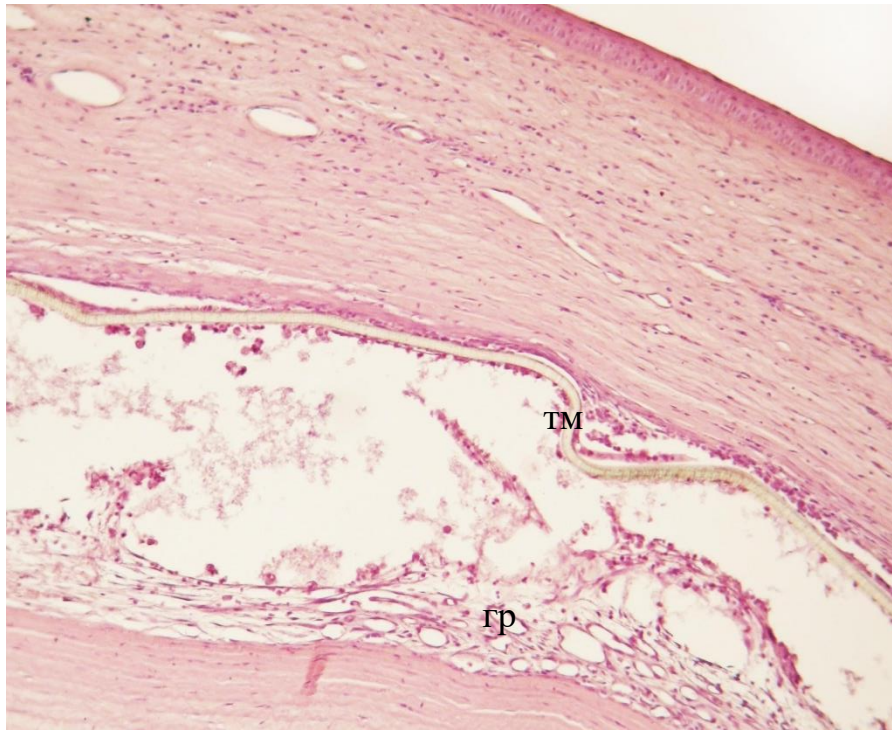


Рисунок 5.32 – Грануляционная ткань (гр) в месте имплантации мембраны (тм) в собственное вещество роговицы экспериментального животного с индуцированной буллезной кератопатией спустя месяц после имплантации. Окраска гематоксилином и эозином, х80

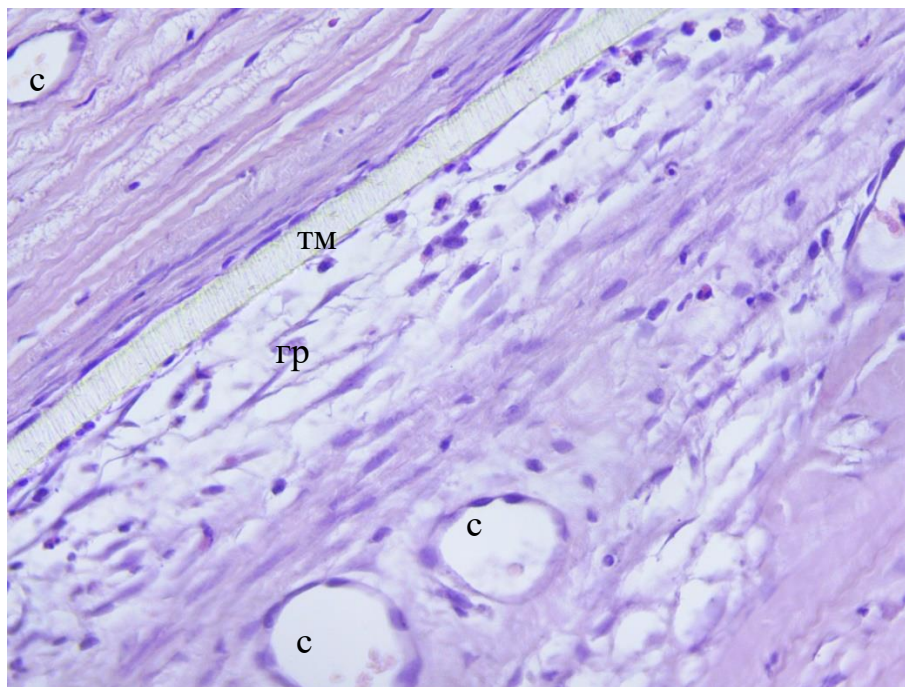


Рисунок 5.33 – Грануляционная ткань (гр), тонкостенные сосуды (с), трековая мембрана из ПЭТФ (тм) в слоях роговицы экспериментального животного с индуцированной буллезной кератопатией спустя месяц после имплантации. Окраска гематоксилином и эозином, х400

Местами, в строме роговицы встречались тонкостенные новообразованные сосуды (рис. 5.33, 5.34), объемом 5,2 (3–7,4)%. Наличие сосудов, как и грануляционной ткани с лейкоцитарной инфильтрации (рис. 5.34), являлось результатом реакции роговой оболочки на искусственный материал и протекания первичной альтерации – воспаления вследствие развития буллёзной кератопатии.

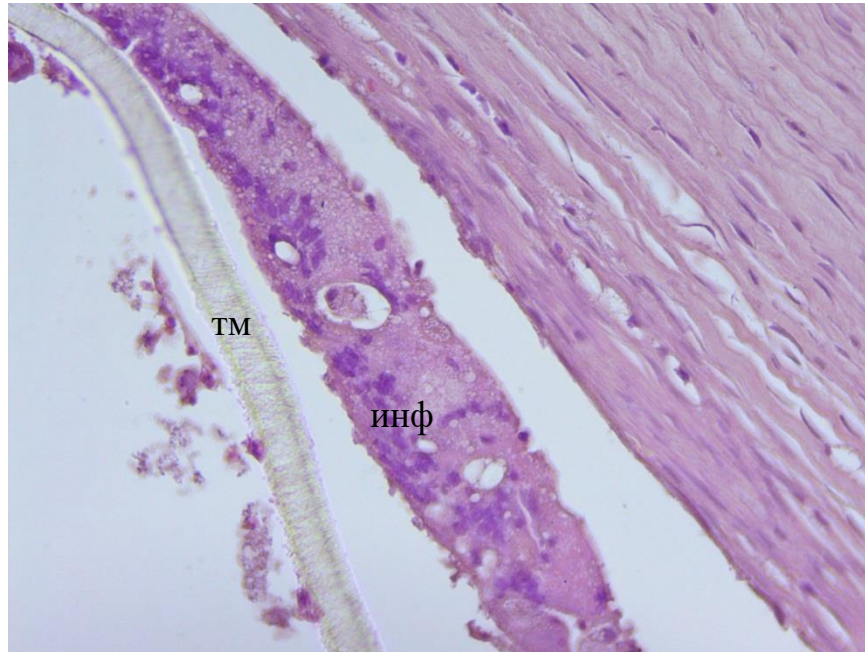


Рисунок 5.34 – Умеренно выраженная лейкоцитарная инфильтрация (инф), трековая мембрана из ПЭТФ (тм) в слоях роговицы экспериментального животного с индуцированной буллёзной кератопатией спустя месяц после имплантации. Окраска гематоксилином и эозином, x400

Известно, что все биоматериалы при имплантации *in vivo* вызывают клеточные и тканевые реакции, выраженные в разной степени в зависимости от типа материала и фонового заболевания (в нашем случае – буллёзной кератопатии). Так, например, в статьях [456, 457] рассматривается реакция организма на биоматериалы. Согласно приведенным данным ответ организма складывается из адсорбции белка, адгезии моноцитов/макрофагов, слиянии макрофагов с образованием гигантских клеток вблизи инородного тела, развития воспалительной реакции с последующим заживлением. Свойства



поверхности биоматериала по данным работ [456, 457] играют важную роль в модулировании реакции на инородное тело в первые 2-4 недели после имплантации медицинского изделия.

В работе [458] указываются схожие сведения о лейкоцитарно-макрофагальной реакции организма на имплантируемый материал и о формировании гигантских клеток инородного тела (ГКИТ). Кроме того, ранее – в разделе 5.3 – отмечено, что альтеративные явления при воспалении включают тканевой распад и усиленный обмен веществ, приводящий к ряду физико-химических изменений в тканях и высвобождению воспалительных медиаторов и модуляторов – биологически активных веществ, ответственных за возникновение и поддержание воспалительных явлений.

Повышение же концентрации провоспалительных цитокинов, выделенных фибробластами стромы роговицы и оставшимися после повреждения эндотелиоцитами эндотелиального слоя, в свою очередь, усиливает альтерацию, привлекая в очаг воспаления клетки иммунной защиты. Инородный материал – трековая мембрана из ПЭТФ – несмотря на свою биоинертность (см. данные по цитотоксичности и реакции стромальных клеток на полимер), представляет собой «угрозу» для иммунокомпетентных клеток организма, в первую очередь для Т-лимфоцитов (CD4+, CD8+) и макрофагов, которые и запускают иммунную реакцию в тканях роговой оболочки. Создавая цитокиновый «пул» в очаге воспаления и месте имплантации, данные клетки опосредованно воздействуют на окружение, привлекая фибробластов для фиброгенеза, тучных клеток и эндотелиоцитов, последние из которых под действием VEGF (фактор роста эндотелия сосудов) включаются в васкулогенез, формируя тонкостенные сосуды.

Появления сосудов – еще один признак течения воспаления в роговой оболочке, вызванное буллезной кератопатией. Известно, что рост новых кровеносных сосудов опосредуется активацией ангиогенных цитокинов [459, 460]. При воспалении, эпителиальные и эндотелиальные клетки роговицы, макрофаги и некоторые клетки иммунной защиты продуцируют ангиогенные

факторы роста – фактор роста эндотелия сосудов и фактор роста фибробластов, которые «прокладывает путь» в образовании новых кровеносных сосудов, регулируя выработку матриксных металлопротеиназ эндотелиальными клетками в сосудистом сплетении лимба [459]. А фермент металлопротеиназа разрушает базальную мембрану роговицы и внеклеточный матрикс, в то время как протеолитические ферменты позволяют эпителиальным клеткам сосудов проникать в строму роговицы.

Далее, при гистологическом исследовании было выявлено, что задняя пограничная (десцеметова) мембрана не изменена и хорошо визуализировалась на всем протяжении.

У животных, получавших традиционную фармакотерапию, при гистологическом исследовании взятого материала передний эпителий роговицы был представлен 4–5 слоями эпителиоцитов. Толщина данного слоя составляла 43,7 (36,7–50,7) мкм, что на 9,5% ( $p < 0,05$ ) меньше группы модели заболевания.

В собственном веществе роговой оболочки коллагеновые волокна сохраняли умеренно выраженный повышенно извитой ход (рис. 5.35). Удельный объем щелей между ними составил 28,3 (21,6–35)%, что статистически не отличалось значений группы модели заболевания,  $p > 0,05$ . Местами, в строме роговицы встречались тонкостенные новообразованные сосуды (рис. 5.35), объемом 4,1 (1,8–6,4)%, и лейкоцитарная инфильтрация, удельным объемом 3,1 (1,2–5)%.

Задняя пограничная (десцеметова) мембрана местами была изменена и визуализировалась на всем протяжении. Эндотелий в большинстве полей зрения отсутствовал (рис. 5.35).

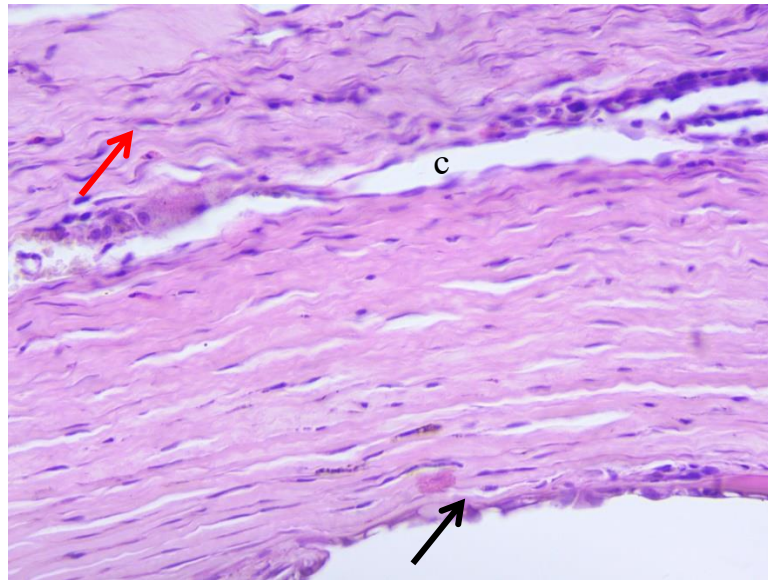
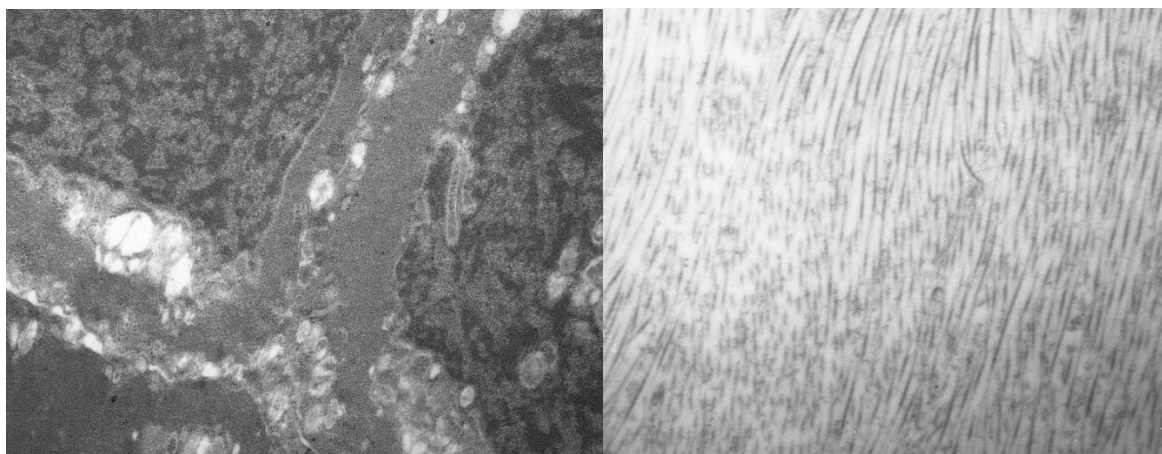


Рисунок 5.35 – Новообразованный сосуд (с), повышено извитой ход коллагеновых волокон стромы (красные стрелки), нарушение целостности десцеметовой мембраны (указано черными стрелками) роговицы экспериментального животного с индуцированной буллезной кератопатией спустя месяц от начала традиционной фармакотерапии. Окраска гематоксилином и эозином, х200

Согласно результатам электронно-микроскопического исследования у животных с индуцированной буллезной кератопатией спустя месяц после имплантации трековых мембран из ПЭТФ эпителиоциты имели крупное, светлое ядро и крупное ядрышко с выраженными гранулярным, фибриллярным и аморфным компонентами, преобладал эухроматин. Вокруг ядра присутствовала хорошо развитая гранулярная ЭПС. Также в цитозоле определялось много свободных рибосом, полисом и митохондрий с нормальной структурой. Между эпителиальными клетками обнаруживались хорошо заметные плотные контакты (рис. 5.36а).

Вокруг фибробластов передней 2/3 стромы – между мембраной и передней пограничной мембраной – коллагеновые фибриллы были упорядочены (рис. 5.36б).



а

б

Рисунок 5.36 – ПЭМ микрофотографии контактов между эпителиоцитами (а) и пучков коллагеновых волокон (б) с упорядоченным ходом передней 2/3 части роговицы экспериментального животного с буллёзной кератопатии спустя месяц после имплантации ТМ из ПЭТФ. Увеличение  $\times 4000$  (а) и  $\times 5800$  (б)

В нижней 1/3 части стромы роговицы коллагеновые волокна имели повышено извитой ход (рис. 5.37).

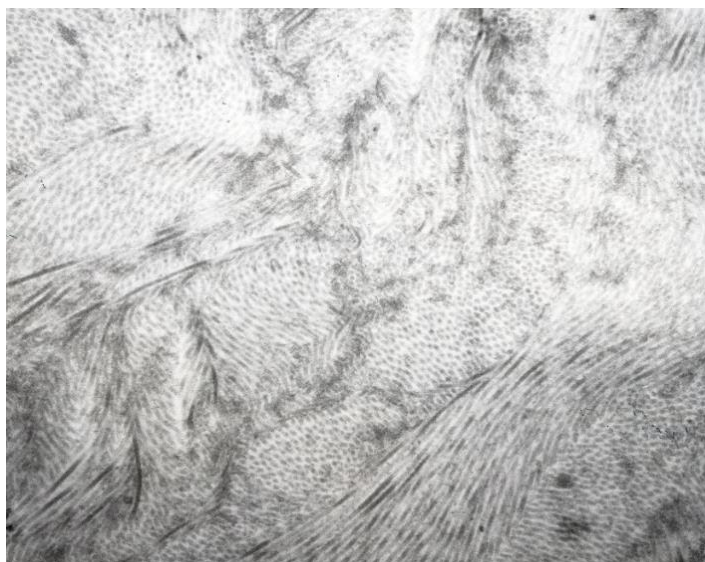


Рисунок 5.37 – ПЭМ микрофотография пучков коллагеновых волокон с повышено извитым ходом нижней 1/3 части роговицы экспериментального животного с буллёзной кератопатии спустя месяц после имплантации ТМ из ПЭТФ. Увеличение  $\times 5800$

В непосредственной близости с трековой мембраной из ПЭТФ обнаруживались лимфоциты с крупными ядрами. В ядре преобладал

эухроматин, хорошо визуализировалось ядрышко с выраженными гранулярным, фибриллярным и аморфным компонентами (рис. 5.38)

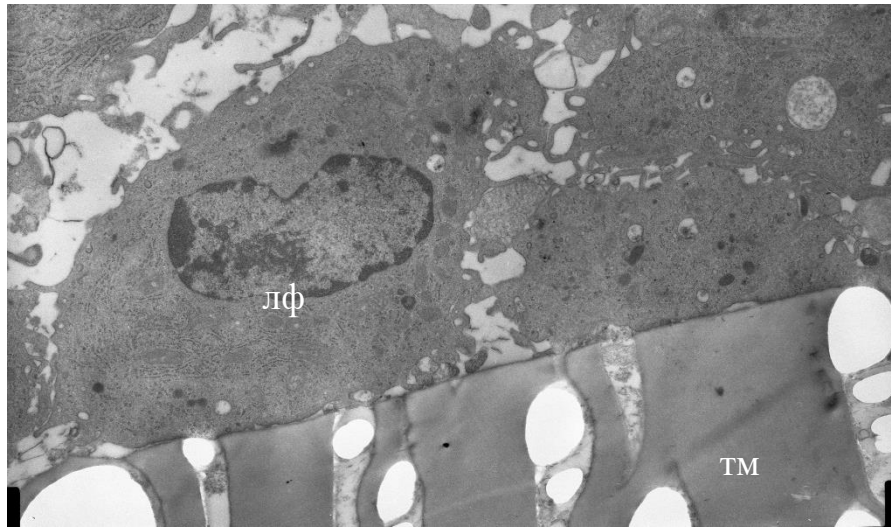


Рисунок 5.38 – ПЭМ микрофотография фрагмента трековой мембраны (тм) из ПЭТФ и прилегающего к ней лимфоцита (лф) в роговице экспериментального животного с буллёзной кератопатии спустя месяц после имплантации материала. Увеличение  $\times 3800$

Вокруг ядра лимфоцитов присутствовала хорошо развитая гранулярная ЭПС без расширения ее полостей. В цитозоле обнаруживались митохондрии с нормальной структурой и единичные лизосомы (рис. 5.38). В порах трековой мембраны из ПЭТФ определялось межклеточное вещество (рис. 5.38). Местами в просвете пор обнаруживались псевдоподии клеток (преимущественно, фибробластов) (рис. 5.39).

В участках с прилегающими к поверхности мемbrane фибробластами обнаруживались тонкие фибриллы коллагеновых волокон, ориентированных в продольном, поперечном и косом направлениях (рис. 5.40). Кроме того, между пучками волокон определялись макрофаги с крупным ядром. В цитозоле макрофагов присутствовали множество фагосом и свободных рибосом (рис. 5.41). Гранулярная ЭПС местами с расширенными полостями.

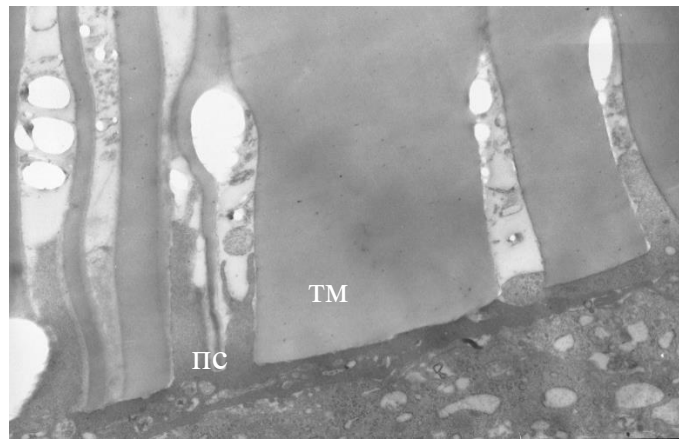


Рисунок 5.39 – ПЭМ микрофотография фрагмента трековой мембраны (тм) из ПЭТФ и псевдоподии (пс) клеток в роговице животного с буллёзной кератопатии спустя месяц после имплантации ТМ. Увеличение  $\times 3800$

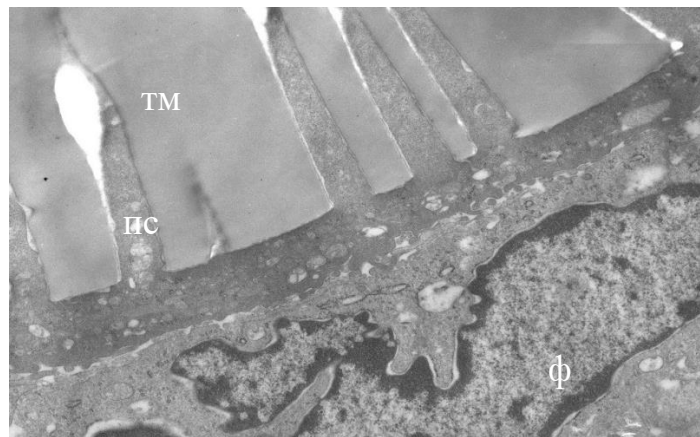


Рисунок 5.40 – ПЭМ микрофотография фрагмента трековой мембраны (тм), фибробласт (ф) и псевдоподии (пс) клеток в роговице животного с буллёзной кератопатии спустя месяц после имплантации ТМ. Увеличение  $\times 3800$

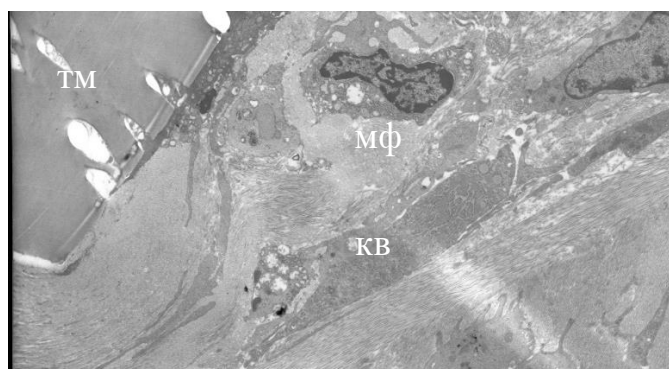


Рисунок 5.41 – ПЭМ микрофотография фрагмента трековой мембраны (тм) из ПЭТФ, тонких фибрилл коллагеновых волокон (кв), макрофаг (мф) в роговице экспериментального животного с буллёзной кератопатии спустя месяц после имплантации материала. Увеличение  $\times 3800$

В основном веществе роговицы вблизи постоперационного разреза обнаруживались единичные нейтрофиллы с хорошо выраженными секреторными гранулами (рис. 5.42). В ядре клетки преобладал гетерохроматин, в цитозоле – различного размера гранулы и свободные рибосомы.

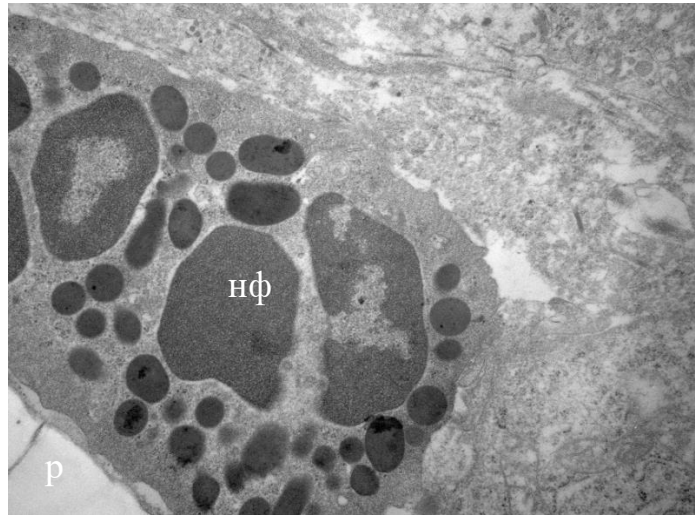


Рисунок 5.42 – ПЭМ микрофотография фрагмента нейтрофилла (нф) вблизи постоперационного разреза (р) стромы роговице экспериментального животного с буллёзной кератопатией спустя месяц после имплантации материала. Увеличение  $\times 3800$

У животных с индуцированной буллёзной кератопатией спустя месяц от начала консервативной терапии эпителиоциты имели крупное ядро с распределением гетеро- и эухроматина как 1:1. Ядрышко не определялось. Вокруг ядра – гранулярная ЭПС с расширенными полостями. В цитозоле эпителиоцитов определялось множество крупных везикул и фагосом. (рис. 5.43а). Митохондрии клеток эпителия имели разрушенные кристы.

Пучки коллагеновых волокон имели повышено извитой ход в различных направлениях (рис. 5.43б).



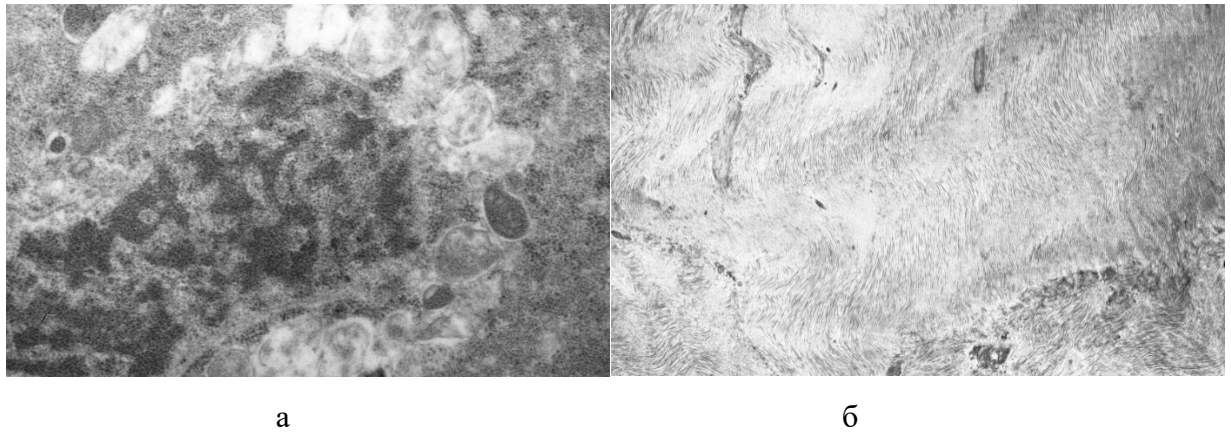


Рисунок 5.43 – ПЭМ микрофотографии эпителиоцитов (а) и пучков коллагеновых волокон (б) с повышено извитым ходом роговицы экспериментального животного с буллёзной кератопатии спустя месяц от начала традиционной фармакотерапии. Увеличение  $\times 4000$  (а) и  $\times 5800$  (б).

Таким образом, выявленные в ходе офтальмологического (наружный осмотр, ОКТ роговицы), гистологического и электронно-микроскопического исследований изменения спустя месяц после имплантации трековых мембран из ПЭТФ в слои роговой оболочки экспериментального животного с буллёзной кератопатией свидетельствуют об переходе альтеративных изменений в роговице в фазу пролиферативного воспаления, уменьшении отека стромы и нормализации строения клеток переднего эпителия. Очаговые, вокруг мембраны из ПЭТФ, клеточные инфильтраты, состоящие преимущественно из лимфоцитарно-моноцитарного дифферона, являются реакцией тканей роговицы на инертное инородное тело. Данные структуры, являясь секреторно активными, привлекают в очаг фибробласты, способные синтезировать коллагеновые волокна, тем самым замещая постоперационные дефекты и несколько ограничивая материал от окружающей ткани. Однако, выявленные в ходе микроскопического исследования данные свидетельствуют об отсутствии избыточного фиброгенеза и формирования соединительно-тканного рубца, а также наличия пор с межклеточным веществом, что может свидетельствовать о функционировании мембраны и выполнения ей барьерной функции. Изменения, выявленные в передней трети стромы роговицы – между имплантированной трековой мембраны и



слоями роговичной ткани – свидетельствовали о стабилизации патологического процесса рассматриваемого заболевания.

### **5.5 Результаты внутрикамерной кератоимплантата из полимолочной кислоты с последующим наложением суспензии аутологичных мононуклеарных лейкоцитов на фоне экспериментально индуцированной буллезной кератопатии в сравнении с традиционной фармакотерапией**

Спустя 2 недели после внутрикамерной имплантации трековых мембран из ПМК у животных третьей группы наблюдалось уменьшение блефароспазма и слезотечения, отек роговицы заметно уменьшился (рис. 5.44а).

На 4 неделе после имплантации указанные симптомы полностью купировались, роговая оболочка была прозрачная (рис. 5.44б).



а

б

Рисунок 5.44 – Состояние переднего отрезка глаза экспериментального животного с индуцированной буллезной кератопатией на 2 (а) и 4 (б) неделях после внутрикамерной имплантации трековых мембран из ПМК

Как было отмечено ранее, спустя 2 недели от начала традиционной фармакотерапии у животных пятой группы сохранялись блефароспазм, умеренно выраженное слезотечение, инъекция сосудов конъюнктивы, отек

роговицы. На 4 неделе указанные симптомы заметно уменьшились, в роговице наблюдался локальный умеренно выраженный отек стромы, новообразованные сосуды.

Огромным преимуществом данной мембраны является ее прозрачность и пропускная способность (см. гл. 4) по сравнению с трековой мембраной из ПЭТФ, коэффициент пропускания которой составляет около 40%. В условиях *in vivo* рассматриваемый полимер фактически не заметен (рис. 5.44), что делает материал перспективным для использования в кератопластике.

Согласно данным ОКТ (табл. 5.3), через 2 недели после формирования буллезной кератопатии толщина роговицы животных всех групп составляла 740мкм. Спустя 2 недели от начала лечения у четвертой группы толщина роговой оболочки уменьшилась на 18,6%, через 4 недели – на 40,1%,  $p < 0,05$  (рис. 5.45, табл. 5.3.). Сравнительный анализ данного показателя роговицы после внутрикамерной имплантации трековых мембран из ПМК и внутривитреальной имплантации трековых мембран из ПЭТФ показал, что применение мембран из ПМК с наложением моноклеарных лейкоцитов значительно уменьшает отек стромы, приближая толщину роговой оболочки к нормальным значениям.

Таблица 5.3 – Динамика толщины роговицы (мкм) при экспериментально индуцированной буллезной кератопатии в зависимости от метода лечения (Me (Q1-Q3)), мкм

Группа животных	Сроки наблюдения				
	До лечения	2 неделя		4 неделя	
Четвертая	748 (686–810)	609 (561–657)	$p1 < 0,05$	448 (401–507)	$p1 < 0,05$
Пятая	744 (693–795)	721 (671–771)	$p1 > 0,05$	637 (596–678)	$p1 < 0,05$
p2	$> 0,05$	$< 0,05$	-	$< 0,05$	-

Примечание: p1 - по критерию Вилкоксона; p2 – по критерию Манна-Уитни.

Кроме того, как и в случае с мембранами из ПЭТФ, на 4 неделе после имплантации трековых мембран из ПМК не было отмечено появление новых или наличие старых булл на поверхности роговой оболочки (рис. 5.46).

У животных пятой группы изменение толщины роговицы было замечено только на 4 неделе от начала лечения, которая составила 637 мкм, что на 14,4% меньше исходного (табл. 5.3).

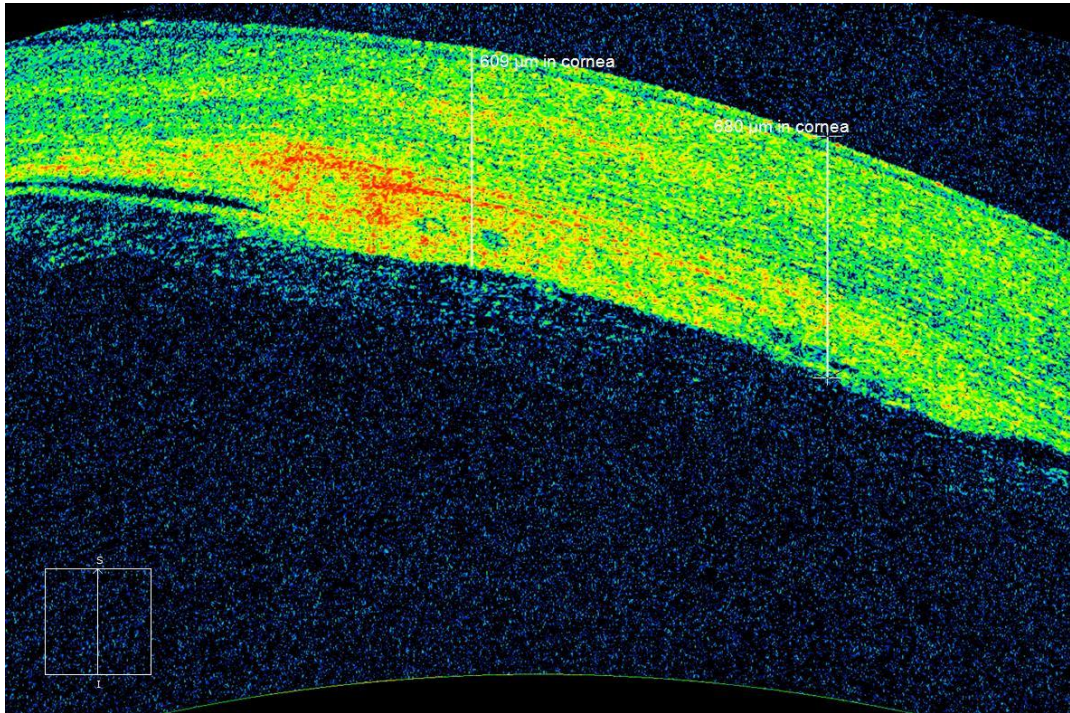


Рисунок 5.45 – Умеренно выраженный отек роговицы экспериментального животного с индуцированной буллёзной кератопатией на 2 неделе после внутрикамерной имплантации трековых мембран из ПМК



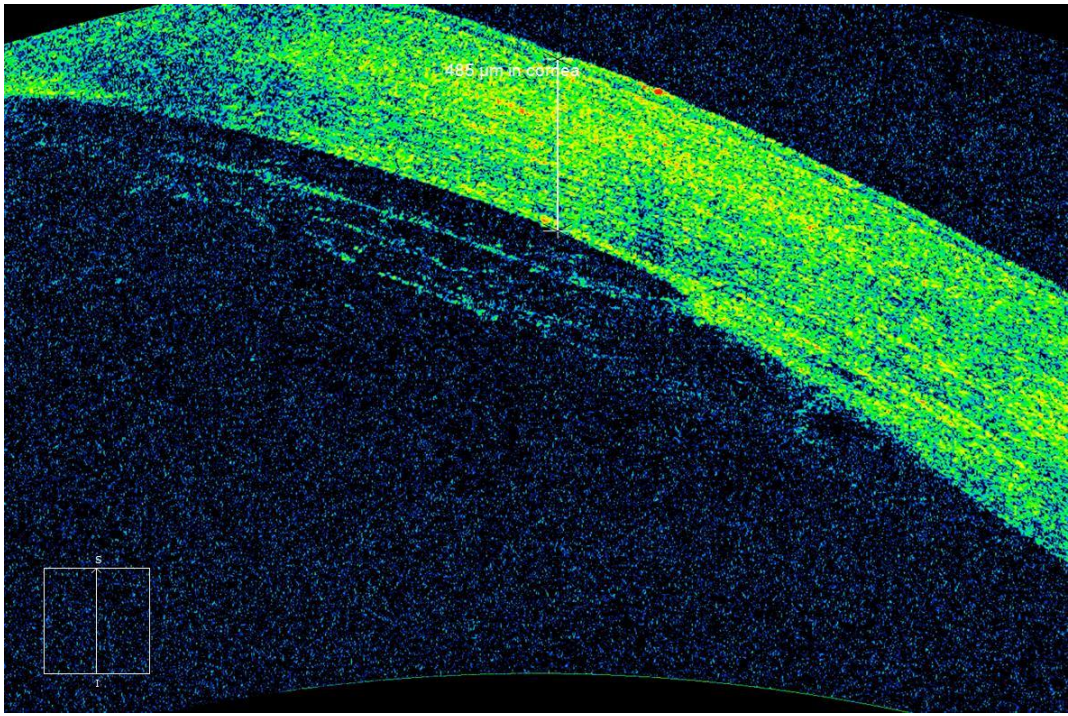


Рисунок 5.46 – Слабо выраженный отек роговицы экспериментального животного с индуцированной буллёзной кератопатией на 4 неделе после внутрикамерной имплантации трековых мембран из ПМК

Через месяц после внутрикамерной имплантации трековых мембран из ПМК при гистологическом исследовании взятого материала передний эпителий роговицы был представлен 4-5 слоями плоских эпителиоцитов (рис. 5.47). Толщина данного слоя составляла 30,1 (24,1–36,1)мкм, что на 37,7% ( $p<0,05$ ) меньше на 15,7% меньше значения третьей группы ( $p<0,05$ ) и на 31,1% меньше значения пятой группы ( $p<0,05$ ), получавших традиционное консервативное лечение.

Собственное вещество роговой оболочки содержало преимущественно компактно расположенные коллагеновые волокна (рис. 5.47). Удельный объем щелей между ними составил 7,9 (4,6–11,2)%, что на 35,8% ( $p<0,05$ ) меньше данного показателя животных с имплантированной мембраной их ПЭТФ.

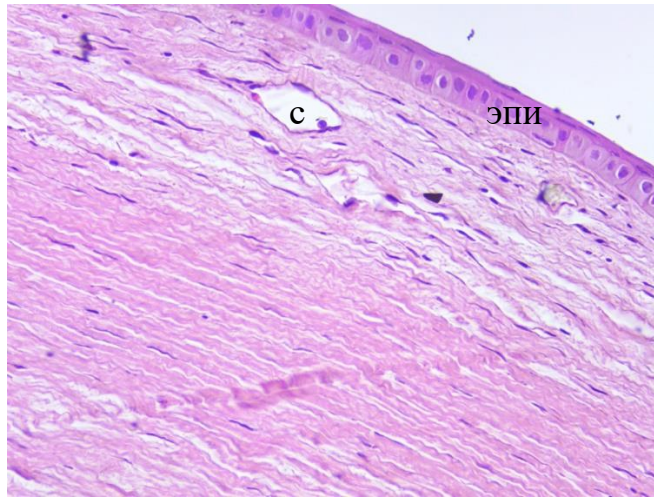


Рисунок 5.47 – Эпителий (эпи), новообразованный сосуд (с) роговицы экспериментального животного с индуцированной буллёзной кератопатии спустя месяц после внутрикамерной имплантации трековых мембран из ПМК и наложения суспензии аутологичных мононуклеарных лейкоцитов. Окраска гематоксилин и эозин, х200

Окрашивание альциановым синим при рН 2,5 показало наличие сильно кислых сульфатированных гликозаминогликанов (ГАГ) в строме роговицы после имплантации (рис. 5.48). Известно, что сульфатированные ГАГ уменьшают воспалительный ответ на хирургическую травму и модулируют процессы заживления без развития чрезмерного фиброза [461].

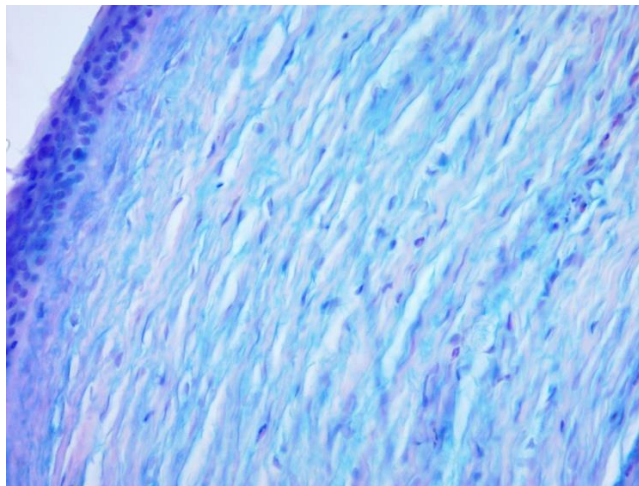


Рисунок 5.48 – Сульфатированные ГАГ стромы роговицы животного с индуцированной буллёзной кератопатии спустя месяц после внутрикамерной имплантации и наложения клеток. Окраска альциновым синим (рН 2,5), х200



Частично связывающие продукты распада и свободные радикалы кислорода ГАГ способны блокировать антигенные детерминанты, ингибируя развитие иммунных и аутоиммунных процессов. Это подавляет интенсивность каскада медиаторов воспаления и количество макрофагов в очаге (травмы или послеоперационные участки), тем самым уменьшая воспалительный ответ ткани на повреждение.

Местами, в строме роговицы встречались тонкостенные новообразованные сосуды (рис. 5.49), объемом 3 (1,4–4,5)% ( $p < 0,05$ ), что на 1,8% меньше значения третьей группы – после имплантации трековых мембран из ПЭТФ, и лейкоцитарная инфильтрация, удельным объемом 4,9%, что на 3,7% меньше значения третьей группы ( $p < 0,05$ ).

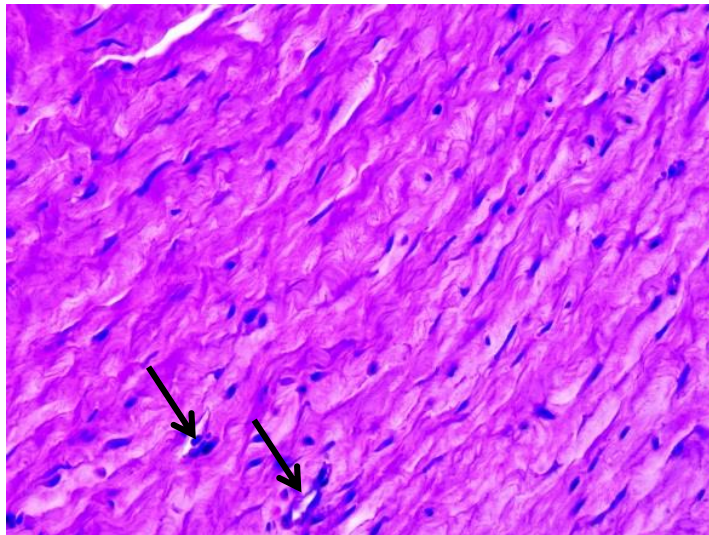


Рисунок 5.49 – Новообразованные тонкостенные сосуды (указаны стрелками) собственного вещества роговицы экспериментального животного с индуцированной буллёзной кератопатии спустя месяц после внутрикамерной имплантации трековых мембран из ПМК и наложения суспензии аутологичных мононуклеарных лейкоцитов.

Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$

Наличие сосудов с лейкоцитарной инфильтрацией свидетельствовало о реакции роговой оболочки на искусственный материал и на протекание первичной альтерации – воспаления вследствие развития буллёзной кератопатии. Однако, учитывая положение самого материала - в передней

камере, природу самого полимера, а также действие введенных и наложенных на заднюю поверхность роговицы мононуклеарных лейкоцитов, объем новообразованных сосудов и лейкоцитарной инфильтрации значительно меньше, что свидетельствовало об уменьшении выраженности воспалительных реакций. Кроме того, гистологическое исследование показало отсутствие значительного включения в процесс фибробластов и проявление избыточного фиброгенеза.

Задняя пограничная мембрана не изменена и хорошо визуализировалась на всем протяжении. Местами было обнаружена адгезия мононуклеарных лейкоцитов, наложенных на поврежденную поверхность роговицы, к десцеметовой мембране (рис. 5.50).

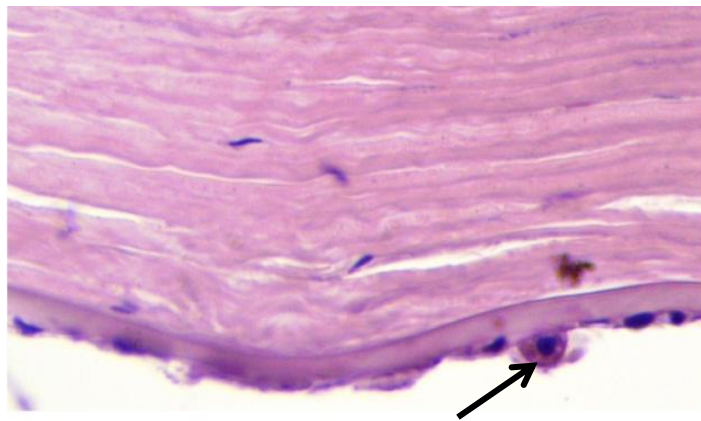


Рисунок 5.50 – Адгезированный к задней поверхности оболочки мононуклеарный лейкоцит (стрелка) у экспериментального животного с индуцированной буллезной кератопатии спустя месяц после внутрикамерной имплантации трековых мембран из ПМК и наложения суспензии аутологичных мононуклеарных лейкоцитов. Окраска гематоксилином и эозином, x200

Во многих местах эндотелий представлял собой слой изолированных отростчатых клеток (рис. 5.51).

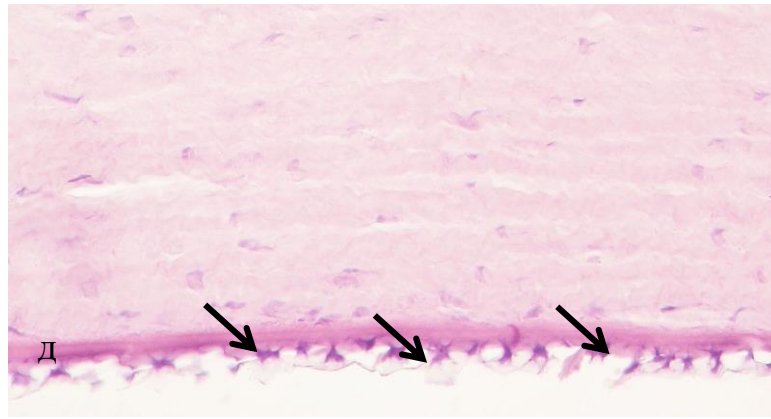


Рисунок 5.51 – Десцеметова мембрана (д) и слой изолированных отростчатых клеток (стрелки) экспериментального животного с индуцированной буллёзной кератопатией спустя месяц после имплантации. Окраска гематоксилином и эозином, х200

Наслоение мононуклеарных лейкоцитов на заднюю поверхность роговой оболочки способствует увеличению концентрации ряда провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, таких как IL -1, IL-4, IL-6 (согласно данным [462]), IL-10 [463], IL-11, IL-13 и трансформирующий фактор роста бета (TGF- $\beta$ ) [457]. Секретируемый мононуклеарами высоко плеiotропный цитокин IL-4 способен воздействовать на структуру эндотелиоцитов и фибробластов [462], усиливая их пролиферацию [463]. Особую роль в патофизиологии воспалительного процесса буллёзной кератопатии играет TGF- $\beta$ , который отказывает как провоспалительное, так и противовоспалительное действие, а также активно секретируется мононуклеарными лейкоцитами [464]. TGF- $\beta$  ингибирует Т- и В-лейкоциты [465], стимулирует покоящиеся моноциты [466], а также участвует в эндотелиально-мезенхимальном переходе (endothelial-to-mesenchymal transition (EnMT)) [464, 467, 468], что было получено в результате наслоения мононуклеарных лейкоцитов на заднюю поверхность роговой оболочки в эксперименте (рис. 5.49). Согласно многим исследованиям, эндотелиальные клетки роговицы животных подвергаются эндотелиально-мезенхимальному переходу (EnMT) во время культивирования *ex vivo* и *in vitro* [464, 467, 468]. Однако, в отличие от нормального монослоя эндотелиоцитов (клетки кубической формы в



поперечном срезе роговицы), наблюдаемого в нормальных глазах, клетки после эндотелиально-мезенхимального перехода обладали морфологией мезенхимных (веретенообразной и отростчатой формы клеток) [467, 468, 469]. Под действием ряда цитокинов, в первую очередь IL-4, незначительно усиливается пролиферативная активность эндотелиальных клеток, которые под влиянием TGF- $\beta$ , начиная с 18-21 суток от формирования заболевания, претерпевают трансформацию в мезенхимные отростчатой формы клетки и выстилают заднюю поверхность роговицы, что уменьшает отек переднего эпителия и основного вещества роговой оболочки.

Таким образом, создаваемый воспалением и введенными в переднюю камеру мононуклеарными лейкоцитами пул цитокинов приводит к ряду внутритканых изменений в роговице: уменьшение выраженности воспалительных реакций и эндотелиально-мезенхимальный переход пролиферированных эндотелиоцитов. Дополнительным механизмом действия введенных в переднюю камеру мононуклеарных лейкоцитов может быть их индуцирующее действие на стволовые клетки, локализующиеся в области кольца Швальбе [470].

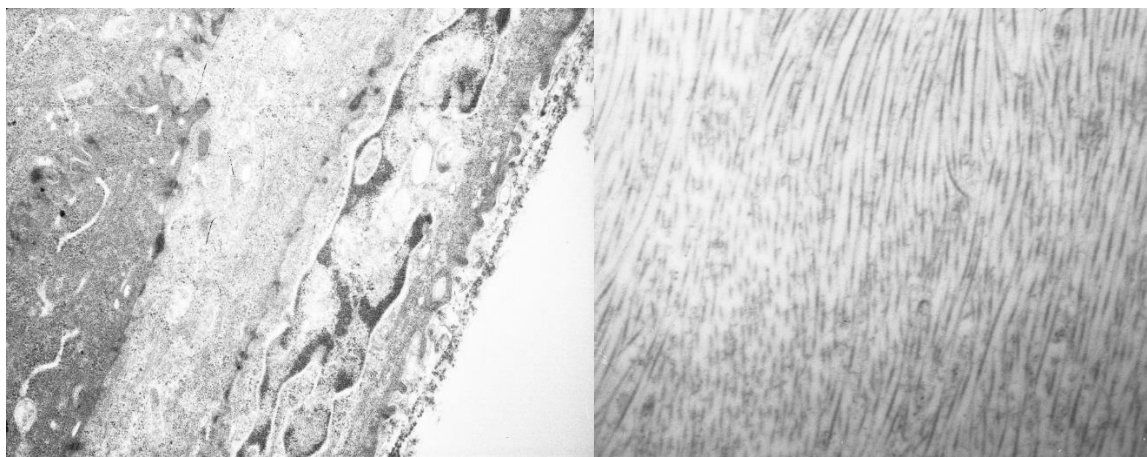
Трековая мембрана из ПМК не только создает дополнительную площадку для прикрепления клеток, которые под действием направленного потока внутриглазной жидкости к углу передней камеры могут не адгезироваться к поврежденной поверхности роговицы, но и вследствие наличия пор способствуют сохранению питания роговой оболочки, которое она получает из жидкости передней камеры и сосудистого сплетения лимба. Кроме того, поры и выраженная шероховатость поверхности материала являются дополнительной опорой прикрепления клеток.

Для лучшей конгруэнтности поверхностей мембраны и роговой оболочки, материал необходимо не только фиксировать узловыми швами к роговице, но и предварительно придавать ему форму, близкую к роговичной кривизне: шириной в горизонтальной  $D_1 = 10$  мм и вертикальной  $D_2 = 11$  мм плоскостях, радиусом в горизонтальной  $R_1 = 5,66$  мм и вертикальной  $R_2 = 6,5$

мм плоскостях, высотой  $h = 3$  мм. В этом случае, процент адгезированных клеток к поверхности полимера и роговице будет выше, а процент утраченных вследствие направленного потока внутриглазной жидкости к углу передней камеры будет ниже. Для этого разрабатывался способ придания материалу определенной кривизне (Пат. 2637230 Российская Федерация).

Как было отмечено ранее, у животных, получавших традиционную фармакотерапию, при гистологическом исследовании взятого материала передний эпителий роговицы был представлен 4–5 слоями эпителиоцитов. Толщина данного слоя составляла 43,7 (36,7–50,7) мкм, что на 9,5% ( $p < 0,05$ ) меньше исходного. В собственном веществе роговой оболочки коллагеновые волокна сохраняли умеренно выраженный повышено извитой ход. Удельный объем щелей между ними составил 28,3 (21,6–35)%, что статистически не отличалось значений до начала лечения. Местами, в строме роговицы встречались тонкостенные новообразованные сосуды, объемом 4,1 (1,8–6,4)%, и лейкоцитарная инфильтрация, удельным объемом 3,1 (1,2–5)%. Задняя пограничная (десцеметова) мембрана не изменена и хорошо визуализировалась на всем протяжении. Эндотелий в большинстве полей зрения отсутствовал.

Согласно результатам электронно-микроскопического исследования у животных с индуцированной буллезной кератопатией спустя месяц после имплантации трековых мембран из ПМК, эпителиоциты имели крупное, светлое ядро и крупное ядрышко с выраженными гранулярным, фибриллярным и аморфным компонентами (рис. 5.52а). В ядре преобладал эухроматин. Вокруг ядра присутствовала хорошо развитая гранулярная ЭПС. Также в цитозоле определялось много свободных рибосом и митохондрий с нормальной структурой. Между эпителиальными клетками обнаруживались хорошо заметные плотные контакты (рис. 5.52а).



а

б

Рисунок 5.52 – ПЭМ микрофотографии эпителиоцитов (а) и коллагеновых волокон в продольном направлении (б) роговицы экспериментального животного с буллёзной кератопатии спустя месяц после имплантации ТМ из ПМК. Увеличение  $\times 3800$

Коллагеновые волокна преимущественно имели упорядоченный ход (рис. 5.52б), фибриллы которых были толстые, упорядоченные в продольном и поперечном направлении. Местами волокна имели повышено извитой ход (рис. 5.53).

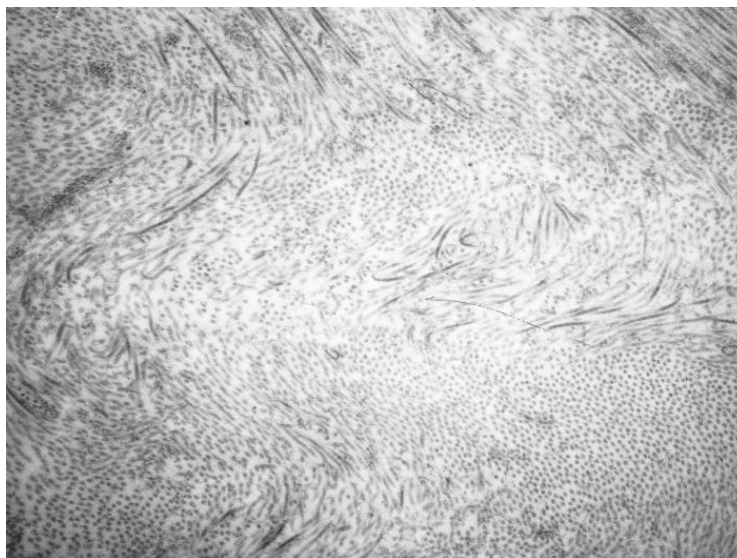


Рисунок 5.53 – ПЭМ микрофотография пучков коллагеновых волокон с повышено извитым ходом роговицы экспериментального животного с буллёзной кератопатии спустя месяц после имплантации ТМ из ПМК. Увеличение  $\times 4800$

Между пучками коллагеновых волокон располагались преимущественно веретеновидной и вытянутой формы клетки с относительно большими ядрами – фибробласты (рис. 5.54). Фибробласты имели нормальное строение: большое овальное ядро с четко выраженными хроматинами, нормальная структура митохондрий, не удлинненные резервуары эндоплазматической сети (рис. 5.54).

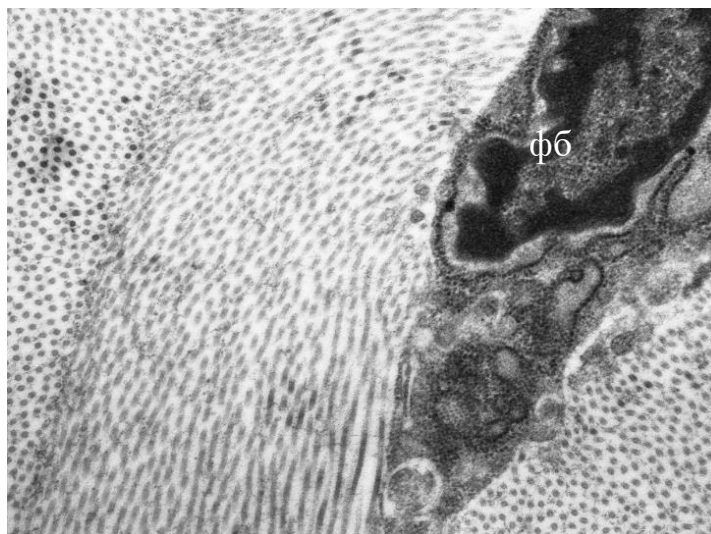


Рисунок 5.54 – ПЭМ микрофотография коллагеновых волокон в продольном и поперечном направлениях и фибробласта (фб) между волокнами роговицы экспериментального животного с буллёзной кератопатии спустя месяц после имплантации ТМ из ПМК. Увеличение  $\times 5800$

Со стороны эндотелия располагались клетки отростчатой формы, которые неплотно прилегали в десцеметовой мембране. Клетки имели крупное ядро с относительно равномерным распределением гетеро и эухроматина. В цитозоле наблюдалось множество везикул и других крупных вакуолярных структур. Кристы митохондрий фрагментированы (рис. 5.55).

Коллагеновые волокна, прилегающие непосредственно к десцеметовой мембране, неупорядочные, располагаются в различных направлениях (рис. 5.55).

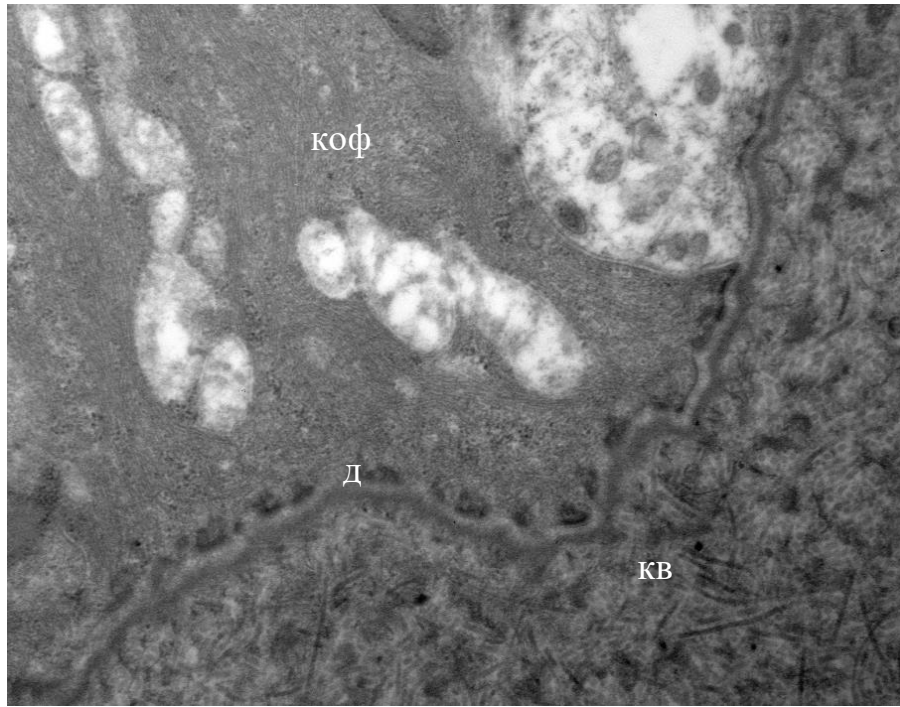


Рисунок 5.55 – ПЭМ микрофотография коллагеновых волокон (кв), десцеметовой мембраны (д), клетки отростчатой формы (коф) неплотно прилегающие к десцеметовой мембране роговицы, экспериментального животного с буллёзной кератопатии спустя месяц после имплантации ТМ из ПМК. Увеличение  $\times 4000$

Таким образом, выявленные в ходе офтальмологического (наружный осмотр, ОКТ роговицы), гистологического и электронно-микроскопического исследований изменения спустя месяц после имплантации трековых мембран из ПМК в переднюю камеру глаза с последующим наслоением на поврежденную поверхность роговицы суспензии аутологических мононуклеарных лейкоцитов экспериментального животного с буллёзной кератопатией свидетельствуют о: купировании альтеративной реакции, эндотелиально-мезенхимальном переходе эндотелия, уменьшении отека стромы, нормализации строения клеток переднего эпителия, и, как следствие, стабилизации патологического процесса рассматриваемого заболевания.

## **5.6 Рекомендации по применению кератоимплантатов из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты в хирургическом лечении буллёзной кератопатии**

В результате проведенных комплексных исследований разработаны следующие рекомендации по применению трековых мембран на основе полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты в хирургическом лечении буллёзной кератопатии:

1. Кератоимплантат на основе трековой мембраны из полиэтилентерефталата рекомендуется применять при тяжелом течении буллёзной кератопатии: при наличии стойкого диффузного стромального отека, множественных булл на поверхности роговицы, прорастании в глубоких слоях собственного вещества роговой оболочки сосудов. Мембрана на основе полиэтилентерефталата обеспечит купирование болевого синдрома, уменьшение роговичного отека и улучшит качество жизни пациента.

2. Имплантацию трековой мембраны из полиэтилентерефталата необходимо производить в нижние слои стромы роговицы вблизи десцеметовой мембраны однократно в первые дни госпитализации пациента в стационар.

3. Кератоимплантат на основе трековой мембраны из полимолочной кислоты рекомендуется применять при появлении начальных признаков буллёзной кератопатии (умеренно выраженный отек, мелкие и единичные буллы на поверхности роговицы) и в сочетании с наслоением на внутреннюю поверхность роговой оболочки аутологичных моноклеарных лейкоцитов. Мембрана на основе полимолочной кислоты с введением в переднюю камеру суспензии клеток обеспечит уменьшение роговичного отека, купирование булл и улучшение зрительных функций пациента.

4. Имплантацию трековой мембраны из полимолочной кислоты необходимо производить в переднюю камеру глаза с нанесением на

внутреннюю поверхность роговицы суспензии аутологичных мононуклеаров крови с последующим подшиванием мембраны к роговой оболочке путем нанесения двух узловых швов в парацентральной области роговицы нитками 10/00 однократно в первые дни госпитализации пациента в стационар.

5. Суспензию аутологичных мононуклеаров крови рекомендуется вводить на границе трековой мембраны на основе полимолочной кислоты и внутренней поверхности роговицы трехкратно в течение года после имплантации кератоимплантата.

### Выводы по главе V

1. Жизнеспособность клеток, культивируемых с модифицированными в плазме и не модифицированными трековыми мембранами из ПЭТФ, составляет 94,98% и 95,25% соответственно. Жизнеспособность клеток, культивируемых с модифицированными в плазме и не модифицированными трековыми мембранами из ПМК, составляет 94,73% и 94,83%.

2. Результаты *in vitro* реакции культуры фибробластоподобных клеток на клеточно–молекулярную биосовместимость трековых мембран из ПЭТФ и из ПМК не оказывают цитотоксического действия на изолированные клетки костного мозга и морфологию монослойных культур мезенхимальных стволовых клеток, что свидетельствует об их относительной биоинертности.

3. При экспериментальном *in vivo* моделировании буллезной кератопатии путем механического повреждения и удаления эндотелиального слоя роговой оболочки у животных наблюдается быстрое, в течение 2-х недель, развитие диффузного отека всех слоев данной оболочки с увеличением в 2 раза ее толщины. Течение заболевания характеризуется прогрессирующей баллонной дистрофией переднего эпителия роговицы с увеличением его толщины в 1,7 раза и грубой дезорганизацией стромы роговой оболочки на фоне развития альтеративной воспалительной реакции.

4. Имплантации трековых мембран из ПЭТФ в слои роговой оболочки экспериментального животного с буллёзной кератопатией способствует переходу альтеративных изменений роговицы в фазу пролиферативного воспаления, уменьшает отек стромы, нормализует строение клеток переднего эпителия, при этом не вызывая избыточный фиброгенез и формирование соединительно-тканного рубца. Изменения, выявленные в передней трети стромы роговицы – между имплантированной трековой мембраны и слоями роговичной ткани – свидетельствуют о стабилизации патологического процесса рассматриваемого заболевания.

5. Имплантация трековых мембран из ПМК в переднюю камеру глаза с последующим наложением на поврежденную поверхность роговицы суспензии аутологичных моноклеарных лейкоцитов купирует альтеративную воспалительную реакцию, способствует эндотелиально-мезенхимальном переходу эндотелия, уменьшает отек стромы, нормализует строение клеток переднего эпителия, и, как следствие, стабилизирует патологический процесс буллёзной кератопатии.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проделанной работы разработаны кератоимплантаты для лечения буллёзной кератопатии, в роли которых выступают трековые мембраны из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты. Каждая из предложенных мембран обладает своими преимуществами и должна применяться индивидуально в зависимости от стадии патологического процесса. В заключении приведены основные результаты диссертации и сформулированы выводы о перспективах их практического применения в хирургии роговицы.

Среди полученных результатов, как наиболее значимые, отмечены следующие:

1. Наиболее перспективными для создания кератоимплантатов являются полиэтилентерефталат и полимолочная кислота.

2. Определены требования к параметрам кератоимплантатов для хирургического лечения буллёзной кератопатии. Технические требования к кератоимплантату из полиэтилентерефталата: средний диаметр пор 0,4–0,6 мкм; плотность –  $5 \times 10^8$  пор/см<sup>2</sup>; геометрия пор – цилиндрическая; краевой угол смачивания 30°–55°; проницаемость по H<sub>2</sub>O 4–6 мл/мин\*см<sup>2</sup> (при P = 0,1 бар). Технические требования к кератоимплантату из полимолочной кислоты: средний диаметр пор 0,4–1,5 мкм; средняя плотность –  $(3,2 \pm 0,4) \times 10^6$  пор/см<sup>2</sup>; геометрия пор – цилиндрическая; краевой угол смачивания 30°–55°; поверхностная энергия 25–55 мДж/м<sup>2</sup>; коэффициент пропускания не ниже 85%.

3. Разработаны технологии получения кератоимплантатов резорбируемого и нерезорбируемого типов. Резорбируемый кератоимплантат следует получать путем облучения пленки полимолочной кислоты (поли(L-

лактид), молекулярный вес  $M_w=121000$  г/моль) толщиной (15–25)мкм пучком тяжелых ионов Хе с энергией 160 МэВ, селективного щелочного травления в водном 1,0М растворе NaOH при температуре 44°C в течении 10–25 минут, и последующего воздействия на стороны изделия низкотемпературной плазмы (температура поверхности 35°C–40°C) в течении 30 секунд. Нерезорбируемый кератоимплантат следует получать путем облучения пленки полиэтилентерефталата толщиной 8–10мкм пучком тяжелых ионов Ag с энергией 41 МэВ, селективного щелочного травления в водном 1,5М растворе NaOH при температуре (72–82)°C, и последующего воздействия на стороны изделия низкотемпературной плазмы (температура поверхности 35°C–40°C) в течении 30 секунд.

4. Созданы прототипы имплантатов из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты с заданными характеристиками.

5. Доказано, что воздействие низкотемпературной плазмы увеличивает значения параметров шероховатости, снижает краевой угол смачивания, увеличивает значения свободной энергии поверхности, изменяет оптические свойства прототипов кератоимплантатов из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты.

6. Выбран наиболее щадящий метод стерилизации кератоимплантатов из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты – применение в качестве стерилизующего агента ионизированной плазменной среды. Стерилизация разработанных изделий проводится путем обработки низкотемпературной плазмой каждой стороны изделия в асептических условиях продолжительностью 30 секунд после облучения и селективного щелочного травления пленок полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты, после чего имплантаты могут храниться в специальных пакетах для стерилизации в течение 21 дня до момента использования.

7. Имплантация прототипа кератоимплантата из полиэтилентерефталата в слои роговицы экспериментального животного с буллезной кератопатией способствует переходу альтеративных изменений роговицы в фазу пролиферативного воспаления, не вызывая избыточный фиброгенез и формирование соединительно-тканного рубца. Имплантация прототипа кератоимплантата из поли-молочной кислоты в переднюю камеру глаза с последующим наслоением суспензии аутологичных моноклеарных лейкоцитов купирует альтеративную воспалительную реакцию и способствует эндотелиально–мезенхимальному переходу эндотелия.

8. Кератоимплантат из полиэтилентерефталата рекомендуется применять при тяжелом течении буллезной кератопатии: при наличии стойкого диффузного стромального отека, множественных булл на поверхности роговицы, прорастании в глубоких слоях собственного вещества роговой оболочки сосудов. Мембрана на основе полиэтилентерефталата обеспечит купирование болевого синдрома, уменьшение роговичного отека и улучшит качество жизни пациента. Имплантацию кератоимплантата из полиэтилентерефталата необходимо производить в нижние слои стромы роговицы вблизи десцеметовой мембраны однократно в первые дни госпитализации пациента в стационар.

Кератоимплантат из полимолочной кислоты рекомендуется применять при появлении начальных признаков буллезной кератопатии (умеренно выраженный отек, мелкие и единичные буллы на поверхности роговицы) и в сочетании с наслоением на внутреннюю поверхность роговой оболочки аутологичных моноклеарных лейкоцитов. Мембрана на основе полимолочной кислоты с введением в переднюю камеру суспензии клеток обеспечит уменьшение роговичного отека, купирование булл и улучшение зрительных функций пациента. Имплантацию кератоимплантата из

полимолочной кислоты необходимо производить в переднюю камеру глаза с нанесением на внутреннюю поверхность роговицы суспензии аутологичных моноклеаров крови с последующим подшиванием мембраны к роговой оболочке путем нанесения двух узловых швов в парацентральной области роговицы нитками 10/00 однократно в первые дни госпитализации пациента в стационар. Суспензию аутологичных моноклеаров крови рекомендуется вводить на границе трековой мембраны на основе полимолочной кислоты и внутренней поверхности роговицы троекратно в течении года после имплантации изделия.

**СПИСОК ОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

- DLEK – Deep lamellar endothelial keratoplasty;
- DMEK – Descemet's membrane endothelial keratoplasty;
- DSAEK – Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty;
- DSEK – Descemet's stripping endothelial keratoplasty;
- EGF – эпидермальный фактор роста;
- EnMT – эндотелиально-мезенхимальный переход;
- РАСА – алкилциноакрилаты;
- PCL – поликопролактон;
- PDGF-AB – тромбоцитарный фактор роста;
- PEA – сложные эфиры, объединяющие сложноэфирные и амидные группы в полимерной цепи;
- PLGA – поли-D,L-лактид-ко-гликолид;
- PLK – Posterior lamellar keratoplasty;
- PPF – полипропиленфумарат;
- PVP – поливинилпирролидон;
- TGF- $\beta$ 1 – трансформирующий ростовой фактор, бета-1;
- VEGF – факторы роста эндотелия сосудов;
- АСМ – атомно-силовом микроскопия;
- ВГЖ – внутриглазная жидкость;
- ГАГ – гликозаминогликаны;
- ГРМ–агар – питательный агар для культивирования микроорганизмов;
- ДМФ – диметилформамид;
- ДСК – дифференциальной сканирующей калориметрии;
- ИК–спектроскопия – инфракрасная спектроскопия;
- ИЛ – интерлейкин;

ИОЛ – интраокулярная линза;

ИФН – интерферон;

МСК – мезенхимальные стромальные клетки;

МТТ–тест – колориметрический тест для оценки метаболической активности клеток;

ОВРК – метод Оуэнса-Вендта-Рабел-Кэлби;

ОКТ – оптическая когерентная томография;

ПМК – полимолочная кислота;

ПММА – полиметилметакрилат;

ПСК – пренатальные стромальные клетки;

ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия;

ПЭТФ – полиэтилентерефталат;

СЭП – свободная энергия поверхности;

ТГА – термогравиметрический анализ;

УФ – ультрафиолет;

ФНО – фактор некроза опухоли;

ЩФ – щелочная фосфатаза;

ЭПС – эндоплазматическая сеть.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Афанасьев, Ю. И. Юрина, Н. А. Гистология, эмбриология, цитология /Ю.И. Афанасьев, Н.А. Юрина. – Москва: ГЭОТАР-Медиа. – 2014. – 800 с.
2. Copeland, R. A. Afshari, N. A. Principles and Practice of cornea / R. A. Copeland, N. A. Afshari // Jaypee Brothers Medical Publishers Ltd. – 2013. – P.1350 – 1352.
3. Dohlman, C. H. Smolin, G. Azar, D. T. Smolin and Thoft's The cornea:scientific foundations and clinical practice / C. H. Dohlman, G. Smolin, D. T. Azar// Hagerstwon, MD: Lippincott Williams & Wilkins. – 2005. – P. 8 – 10.
4. Hoffer, K. J. Kraff, M. C. Normal endothelial cell count range / K. J. Hoffer, M. C. Kraff // Ophthalmology. – 1980. – Vol. 87. – P. 861 – 865.
5. Hogan, M. J. Alvarado, J. A. Weddell, J. S. In Histology of the human eye / M. J. Hogan, J. A. Alvarado, J. S. Weddell // Philadelphia, W.B. Saunders, 1971. – P. 102 – 103.
6. Blatt, H. L. Endothelial cell density in relation to morphology / H. L. Blatt // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1979. – Vol. 18. – P. 856 – 859.
7. Bourne, W. M. Cellular changes in transplanted human corneas / W. M. Bourne // Cornea. – 2001. – Vol. 20. – P. 560 – 569.
8. De Luca, M. Albanese, E. Bondanza, S. Multicentre experience in the treatment of burns with autologous and allogenic cultured epithelium, fresh or preserved in a frozen state / M. De Luca, E. Albanese, S. Bondanza // Burns. – 1989. – № 15. – P. 303.
9. Kinoshita, S. Adachi, W. Sotozono, C. Characteristics of the human ocular surface epithelium / S. Kinoshita, W. Adachi, C. Sotozono // Prog. Retin. Eye Res. – 2001. – Vol. 20. – P. 639.

10. Копаева, В. Г. Глазные болезни. Основы офтальмологии / В. Г. Копаева, – Москва: ОАО «Издательство «Медицина»». – 2012. – 560 с.
11. Bourne, W. M. Nelson, L. R. Hodge, D. O. Central corneal endothelial cell changes over a ten-year period / W. M. Bourne, L. R. Nelson, D. O. Hodge // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1997. – Vol. 38. – P. 779 – 782.
12. Bourne, W. M. Nelson, L. R. Hodge, D. O. Continued endothelial cell loss ten years after lens implantation / W. M. Bourne, L. R. Nelson, D. O. Hodge // Ophthalmology. – 1994. – Vol. 101. – P. 1014 – 1023.
13. Carlson, K. H. Bourne, W. M. McLaren, J.W. Variations in human corneal endothelial cell morphology and permeability to fluorescein with age / K. H. Carlson, W. M. Bourne, J.W. McLaren // Exp. Eye Res. – 1988. – Vol. 47; № 1. – P. 27 – 41.
14. Hiles, D. A. Biglan, A. W. Fetherholf, E. C. Central corneal endothelial cell counts in children / D. A. Hiles, A. W. Biglan, E. C. Fetherholf // Am. Intra-Ocular Implant Soc. J. – 1979. – Vol. 5. – P. 292 – 300.
15. Laule, A. Cable, M. K. Hoffman, C. E. Endothelial cell population changes of human cornea during life / A. Laule, M. K. Cable, C. E. Hoffman // Arch. Ophthalmol. – 1978. – Vol. 96. – P. 2031 – 2035.
16. Nucci, P. Brancato, R. Mets, M. B. Normal endothelial cell density range in childhood / P. Nucci, R. Brancato, M. B. Mets // Arch. Ophthalmol. – 1990. – Vol. 108. – P. 247.
17. Wilson, R. S. Roper-Hall, M. J. Effect of age on the endothelial cell count in the normal eye / R. S. Wilson, M. J. Roper-Hall // Br. J. Ophthalmol. – 1982. – Vol. 66. – P. 513 – 515.
18. Dua, H. S. Gomes, G. King, A. The amniotic membrane in ophthalmology / H. S. Dua, G. Gomes, A. King // Surv. Ophthalmol. – 2004. – № 49 (1). – P. 51 – 77.



19. Dua, H. S. Azuara-Blanco, A. Limbal stem cells of the corneal epithelium / H. S. Dua, A. Azuara-Blanco // *Sun. Ophthalmol.* - 2000. – Vol. 44. – P. 4.
20. Бродский, В. Я. Урываева, И. В. Клеточная полиплоидия. Пролиферация и дифференцировка / В. Я. Бродский, И. В. Урываева - Москва: Наука. – 1981. – 276 с.
21. Joyce, N. C. Harris, D. L. Mello, D. M. Mechanisms of mitotic inhibition in corneal endothelium: contact inhibition and TGF-beta2 / N. C. Joyce, D. L. Harris, D. M. Mello // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2002. – № 43: 7. – P. 2152 – 2159.
22. Rieck, P. Oliver, L. Engelmann, K. Fuhrmann, G. Hartmann, C. Courtois, Y. The role of exogenous/endogenous basic fibroblast growth factor (FGF2) and transforming growth factor beta (TGF beta-1) on human corneal endothelial cells proliferation in vitro / P. Rieck, L. Oliver, K. Engelmann, G. Fuhrmann, C. Hartmann, Y. Courtois // *Exp. Cell Res.* – 1995. – № 220: 1. – P. 36 – 46.
23. Couch, J. M. Cullen, P. Casey, T. A. Fabre, J. W. Mitotic activity of corneal endothelial cells in organ culture with recombinant human epidermal growth factor / J. M. Couch, P. Cullen, T. A. Casey, J. W. Fabre // *Ophthalmology.* – 1987. – № 94: 1. – P. 1 – 6.
24. Imanishi, J. Kamiyama, K. Iguchi, I. Kita, M. Sotozono, C. Kinoshita, S. Growth factors: importance in wound healing and maintenance of transparency of the cornea / J. Imanishi, K. Kamiyama, I. Iguchi, M. Kita, C. Sotozono, S. Kinoshita // *Prog Retin Eye Res.* – 2000. – № 19: 1. – P. 113 – 129.
25. Dikstein, S. Maurice, D. M. The metabolic basis to the fluid pump in the cornea / S. Dikstein, D. M. Maurice // *J. Physiol.* – 1972. – Vol. 221. – P. 29 – 41.
26. Mishima, S. Corneal thickness / S. Mishima // *Surv. Ophthalmol.* – 1968. – Vol. 13. – P. 57 – 96.
27. Mishima, S. Maurice, D. M. The effect of normal evaporation upon the eye / S. Mishima, D. M. Maurice // *Exp. Eye Res.* – 1961. – Vol. 1. – P. 46 – 52.

28. Fischbarg, J. Hernandez, J. Liebovitch, L. S. The mechanism of fluid and electrolyte transport across corneal endothelium / J. Fischbarg, J. Hernandez, L. S. Liebovitch // *Curr. Eye Res.* – 1985. – Vol. 4. – P. 351 – 360.
29. Hodson, S. Evidence for a bicarbonate-dependent sodium pump in corneal endothelium / S. Hodson // *Exp. Eye Res.* – 1971. – Vol. 11. – № 1. – P. 20 – 29.
30. Hodson, S. Miller, F. The bicarbonate ion pump in the endothelium which regulates the hydration of the rabbit cornea / S. Hodson, F. Miller // *J. Physiol.* – 1976. – Vol. 263. – № 3. – P. 563 – 577.
31. Hodson, S. Wigham, C. Williams, L. Observations on the human cornea in vitro / S. Hodson, C. Wigham, L. Williams // *Exp. Eye Res.* – 1981. – Vol. 32. – P. 353 – 360.
32. Huff, J. W. Green, K. Characterisation of bicarbonate, sodium and chloride fluxes in the rabbit corneal endothelium / J. W. Huff, K. Green // *Exp. Eye Res.* – 1983. – Vol. 36. – P. 607 – 616.
33. Hull, D. S. Green, K. Boyd, M. Corneal endothelium bicarbonate transport and the effect of carbonic anhydrase inhibitors on the permeability and fluxes and corneal thickness / D. S. Hull, K. Green, M. Boyd // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1977. – Vol. 16. – P. 883 – 892.
34. Liebovitch, L.S. Fischbarg, J. Effects of inhibitors of passive Na<sup>+</sup> and HC0<sub>3</sub><sup>-</sup> fluxes on electrical potential and fluid transport across rabbit corneal endothelium / L.S. Liebovitch, J. Fischbarg // *Curr. Eye Res.* – 1982. – Vol. 2. – P. 183 – 186.
35. Maurice, D. M. The location of the fluid pump in the cornea / D. M. Maurice // *J. Physiol.* – 1972. – Vol. 221. – P. 43.
36. Mayes, K. R. Hodson, S. Local osmotic coupling to the active transendothelial bicarbonate flux in the rabbit cornea / K. R. Mayes, S. Hodson // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1978. – Vol. 514. – P. 286 – 293.

37. McCartney, M. D. Wood, T. O. McLaughlin, B. J. Immunohistochemical localisation of ATPase in human dysfunctional corneal endothelium / M. D. McCartney, T. O. Wood, B. J. McLaughlin // *Curr. Eye Res.* – 1987. – Vol. 12. – P. 1479 – 1486.
38. Neuwirth, O. Dickstein, S. The effect of cyclic AMP on the rabbit corneal endothelial fluid pump / O. Neuwirth, S. Dickstein // *Curr. Eye Res.* – 1982. – Vol. 8. – P. 565 – 567.
39. Fischbarg, J. Lim, J. J. Bourguet, J. Adenosine stimulation of fluid transport across rabbit endothelium / J. Fischbarg, J. J. Lim, J. Bourguet // *J. Mem. Biol.* – 1977. – Vol. 35. – P. 95 – 112.
40. Fischbarg, J. Lim, J. J. Role of cations, anions and carbonic anhydrase in fluid transport across rabbit corneal endothelium / J. Fischbarg, J. J. Lim // *J. Physiol.* – 1974. – Vol. 241. – P. 647 – 675.
41. Geroski, D. H. Matsuda, M. Yee, R.W. Pump function of the human corneal endothelium / D. H. Geroski, M. Matsuda, R.W. Yee // *Ophthalmology.* – 1985. – Vol. 92. – P. 759 – 763.
42. Riley, M. V. Anion-sensitive ATPase in rabbit corneal endothelium and its relation to corneal hydration / M. V. Riley // *Exp. Eye Res.* – 1977. – Vol. 25. – P. 483 – 494.
43. Riley, M. V. Winkler, B. S. Starnes, C. A. Regulation of corneal endothelial barrier function by adenosine, cyclic AMP, and protein kinases / M. V. Riley, B. S. Winkler, C. A. Starnes // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1998. – Vol. 39. – P. 2076.
44. Kaufman, H. E. Katz, J. I. Pathology of the corneal endothelium / H. E. Kaufman, J. I. Katz // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1977. – Vol. 16. – P. 265– 268.
45. Kaye, G. I. Hoefle, F. B. Donn, A. Studies on the cornea. VIII. Reversibility of the effects of in vitro perfusion of the rabbit corneal endothelium with calciumfree

medium / G. I. Kaye, F. B. Hoefle, A. Donn // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1973. – Vol. 12. – P. 98 – 113.

46. Kaye, G. I. Mishima, S. Cole, J. D. Studies on the cornea. VII. Effects of perfusion with a Ca<sup>++</sup> free medium on the corneal endothelium / G. I. Kaye, S. Mishima, J. D. Cole // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1968. – Vol. 7. – P. 53 – 66.

47. Kaye, G. I. Tice, L. W. Studies on the cornea. V. Electron microscopic localisation of adenosine triphosphatase activity in the rabbit cornea in relation to transport / G. I. Kaye, L. W. Tice // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1966. – Vol. 5. – P. 22 – 30.

48. Luce, D. A. Determining in vivo biomechanical properties of the cornea with an ocular response analyzer / D. A. Luce // J. Cataract Refract. Surg. – 2005. – Vol. 31. – P. 156 – 162.

49. Lyslo, A. Kvernes, S. Garlid, K. Ionic transport across corneal endothelium / A. Lyslo, S. Kvernes, K. Garlid // Act. Ophthalmol. – 1985. – Vol. 63. – P. 116 – 125.

50. Джураева, Ш. У. Гельманова, Т. И. Первый опыт пересадки амниотической мембраны в лечении различных заболеваний роговицы / Ш. У. Джураева, Т. И. Гельманова, // IX съезд офтальмологов России: тезисы докладов. – Москва, 2010. – С. 304.

51. Каспарова, Е. А. Суббот, А. М. Антохин, А. И. Павлюк, А. С. Клиническая эффективность персонализированной клеточной терапии заболеваний эндотелия роговицы / Е. А. Каспарова, А. М. Суббот, А. И. Антохин, А. С. Павлюк // Рефракционная хирургия. – 2011. – №11: 2. – С. 45 – 49.

52. Мамиконян, В. Р. Труфанов, С. В. Осипян, Г. А. Современные технологии пересадки роговицы / В. Р. Мамиконян, С. В. Труфанов, Г. А.

Осипян // IX съезд офтальмологов России: тезисы докладов. – Москва, 2010. – С. 311.

53. Малюгин, Б. Э. Мороз, З. И. Дроздов, И. В. Эндотелиальная кератопластика (обзор литературы) / Б. Э. Малюгин, З. И. Мороз, И. В. Дроздов // Офтальмохирургия. – 2013. – № 1. – С. 66 – 72.

54. Richard, J. Hoffart, L. Chavane, F. Corneal endothelial cell loss after cataract extraction by using ultrasound phacoemulsification versus a fluid-based system / J. Richard, L. Hoffart, F. Chavane // Cornea. – 2008. – Vol. 27. – № 1. – P. 17 – 21.

55. Драваджян, З. Х. Амбарюмян, А. В. Овакимян, А. В. Применение амниотической мембраны при перфорациях роговицы / З. Х. Драваджян, А. В. Амбарюмян, А. В. Овакимян // Российский общенациональный офтальмологический форум: сборник науч. трудов. – Москва, 2009. – С. 280 – 284.

56. Павлюк, А. С. Каспаров, А. А. Каспарова, Евг. А. и др. Клеточная терапия послеоперационной ранней буллезной кератопатии аутологичными лейкоцитами периферической крови преактивированными *in vitro* полиА:полиУ / А. С. Павлюк, А. А. Каспаров, Евг. А. Каспарова, А. М. Суббот, Д. С. Николаенко // Российский иммунологический журнал. – 2008. – №2 (11). – С. 115 – 118.

57. Desir, J. Abramowicz, M. Congenital hereditary endothelial dystrophy with progressive sensorineural deafness (Harboyan syndrome) / J. Desir, M. Abramowicz // Orphanet J. Rare Dis. – 2008. – Vol. 3. – P. 28.

58. Duke-Elder, S. Leigh, A. G. Corneal dystrophies / S. Duke-Elder, A. G. Leigh // System of Ophthalmology. London, England: Kimpton. – 1965. – Vol. 8. – Part 2. – P. 864 – 867.

59. Engelmann, K. Bednarz, J. Valtink, M. Prospects for endothelial transplantation / K. Engelmann, J. Bednarz, M. Valtink // *Exp. Eye Res.* – 2004. – Vol. 78. – P. 573 – 578.
60. Hoffer, K. J. Cell loss with superior and temporal incisions / K. J. Hoffer // *J. Cataract Refract. Surg.* – 1994. – Vol. 20. – № 3. – P. 368.
61. Homer, P. I. Peyman, G. A. Sugar, J. Automated vitrectomy in eyes with vitreocorneal touch associated with corneal dysfunction / P. I. Homer, G. A. Peyman, J. Sugar // *Am. J. Ophthalmol.* – 1980. – Vol. 89. – № 4. – P. 500 – 506.
62. Klintworth, G. K. Corneal dystrophies / G. K. Klintworth // *Orphanet. J. Rare Dis.* – 2009. – Vol. 4. – P. 7.
63. Koenig, S. B. Annular keratotomy for the treatment of painful bullous keratopathy / S. B. Koenig // *Am. J. Ophthalmol.* – 1996. – Vol. 121. – № 1. – P. 93 – 94.
64. Krachmer, J. H. Posterior polymorphous corneal dystrophy: A disease characterized by epithelial-like endothelial cells which influence management and prognosis / J. H. Krachmer // *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.* – 1985. – Vol. 83. – P. 413.
65. Liu, G. J. Okisaka, S. Mizukawa, A. Momose, A. Histopathological study of pseudophakic bullous keratopathy developing after anterior chamber of irissupported intraocular lens implantation / G. J. Liu, S. Okisaka, A. Mizukawa, A. Momose // *Jpn. J. Ophthalmol.* – 1993. – Vol. 37. – P. 414 – 425.
66. Liu, J. Roberts, C. J. Influence of corneal biomechanical properties on intraocular pressure measurement: quantitative analysis / J. Liu, C. J. Roberts // *J. Cataract Refract. Surg.* – 2005. – Vol. 31. – P. 146 – 155.
67. Guerra, F. P. Anshu, A. Price, M. O. Descemet's membrane endothelial keratoplasty: prospective study of 1-year visual outcomes, graft survival, and

endothelial cell loss / F. P. Guerra, A. Anshu, M. O. Price // *Ophthalmology*. – 2011. – Vol. 118. – P. 2368 – 2373

68. Ing, J. J. Ing, H. H. Nelson, L. R. Ten-year postoperative results of penetrating keratoplasty / J. J. Ing, H. H. Ing, L. R. Nelson // *Ophthalmology*. – 1998. – Vol. 105. – P. 1855.

69. Ivarsen, A. Thogersen, J. Keiding, S. R. Plastic particles at the LASIK interface / A. Ivarsen, J. Thogersen, S. R. Keiding // *Ophthalmology*. – 2004. – Vol. 111. – P. 18 – 23.

70. Jumblatt, M. M. Maurice, D. M. McCuley, J. P. Transplantation of tissuecultured corneal endothelium / M. M. Jumblatt, D. M. Maurice, J. P. McCuley // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1978. – Vol. 17. – P. 1135 – 1141.

71. Lu, F. Yu, S. Qu, J. Central corneal thickness and corneal hysteresis during corneal swelling induced by contact lens wear with eye closure / F. Lu, S. Yu, J. Qu // *Am. J. Ophthalmol.* – 2007. – Vol. 143. – P. 616 – 622.

72. Newsome, D. A. Gross, J. Hassell, J. R. Human corneal stroma contains three distinct collagens // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1982. – Vol. 22. – P. 376.

73. Okumura, N. Koizumi, N. Ueno, M. Sakamoto, Y. Takahashi H. ROCK inhibitor converts corneal endothelial cells into a phenotype capable of regenerating in vivo endothelial tissue / N. Okumura, N. Koizumi, M. Ueno, Y. Sakamoto, H. Takahashi // *Am. J. Pathol.* – 2012. – № 181: 1. – P. 268 – 277.

74. Waring, G. O. The 50-year epidemic of pseudophakic corneal edema / G. O. Waring // *Arch. Ophthalmol.* – 1989. – Vol. 107. – №. 5. – P. 657 – 659.

75. Жаров, В. В. Малов, В. М. Перевозчиков, П. А. Точилова, Е. Р. Экспериментально-клиническое обоснование применения пласта фетальных клеток в комплексном лечении эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговой оболочки / В. В. Жаров, В. М. Малов, П. А. Перевозчиков, Е. Р. Точилова // *Новые технологии в лечении заболеваний роговицы: материалы*

научно-практической конференции Федоровские чтения. – Москва, 2004. – С. 439 – 442.

76. Кирчанова О. В. Прогнозирование экссудативно-воспитательной реакции после факоэмульсификации катаракты на основе клинико- иммунологического мониторинга больных и способы её коррекции: автореф. дисс. ... канд. мед. наук: 14.00.08 / Кирчанова Ольга Валериевна. – Воронеж, 2004. – 22 с.

77. Краснов, М. М. Каспаров, А. А. Мусаев, А. А. Двухэтапное лечение хронической буллезной дистрофии роговицы / М. М. Краснов, А. А. Каспаров, А. А. Мусаев // Сборник трудов IV Всероссийский съезда офтальмологов. – Москва, 1982. – С. 376 – 377.

78. Кривошеина, О. И. Филиппова, Е. О. Клинико-экономическая оценка консервативного лечения эндотелиально-эпителиальной дистрофией роговицы / О. И. Кривошеина, Е. О. Филиппова // Труды XIX Международного симпозиума имени академика М.А. Усова студентов и молодых учёных, посвященного 70-летию юбилею Победы советского народа над фашистской Германией. – Томск, 2015. – С. 675 – 678.

79. Ченцова, Е. В. Фетотерапия эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы / Е. В. Ченцова // Актуальные вопросы офтальмологии: материалы конференции. – Москва, 2000. – С. 155 – 157.

80. Ritch, R. Krupin, T. Chronic open angle glaucoma: Treatment overview / R. Ritch, T. Krupin // The Glaucomas. Anne Patterson Publ. – 1989. – Vol. 3. – Chapter 73. – P. 1507 – 1520.

81. Claesson, M. Armitage, W. J. Stenevi, U. Corneal oedema after cataract surgery: predisposing factors and corneal graft outcome / M. Claesson, W. J. Armitage, U. Stenevi // Acta Ophthalmol. – 2009. – Vol. 87; N 2. – P.154 – 159.



82. Dick, H. B. Kohnen, T. Jacobi, F. K. Jacobi, K. W. Long-term endothelial cell loss following phacoemulsification through a temporal clear corneal incision / H. B. Dick, T. Kohnen, F. K. Jacobi, K. W. Jacobi // *J. Cataract Refract. Surg.* – 1996. – Vol. 22. – № 1. – P. 63 – 71.
83. Hirsch, M. Renard, G. Faure, J. P. Study of the ultrastructure of the rabbit corneal endothelium by the freeze-fracture technique: apical and lateral junctions / M. Hirsch, G. Renard, J. P. Faure // *Exp. Eye Res.* – 1977. – Vol. 25. – P. 277– 288.
84. Каспаров, А. А. Каспарова, Е. А. Труфанов, С. В. Послеоперационная буллезная кератопатия: трансплантационные и нетрансплантационные методы лечения / А. А. Каспаров, Е. А. Каспарова, С. В. Труфанов // Тезисы докладов IX съезда офтальмологов России. – Москва. 2010. – С. 307.
85. Мороз, З. И. Современные направления хирургического лечения патологии роговицы / З. И. Мороз // Тезисы докладов IX съезда офтальмологов России. – Москва, 2010. – С. 298 – 299.
86. Setala, K. Vannas, A. Corneal endothelial cells in essential iris atrophy. A specular microscopic study / K. Setala, A. Vannas // *Acta. Ophthalmol. (Copenh).* – 1979. – № 57(6). – P. 1020.
87. Gagnon, M. M. Boisjoly, H. M. Brunette, I. Corneal endothelial density in glaucoma / M. M. Gagnon, H. M. Boisjoly, I. Brunette // *Cornea.* – 1997. – Vol. 16. – № 3. – P. 314 – 318.
88. Sorby, A. Amniotic membrane graft in caustic burn of the eye (burns of the second degree) / A. Sorby // *British Journal Ophthalmology.* – 1946. – № 30: 7. – P. 337 – 345.
89. Ронкина, Т. И. Золотаревский, А. В. Багров, С. Н. Новый препарат «Глекомен» для активации пролиферации поврежденного эндотелия роговицы человека / Т. И. Ронкина, А. В. Золотаревский, С. Н. Багров // *Офтальмохирургия.* – 2002. – № 2. – С. 50 – 54.

90. Малюгин, Б. Э. Мороз, З. И. Ковшун, Е. В. Задняя автоматизированная послойная кератопластика с использованием ультратонких трансплантатов / Б. Э. Малюгин, З. И. Мороз, Е. В. Ковшун // Тез. докл. IX съезда офтальмологов России. – Москва, 2010. – С. 310 – 311.
91. Скачков, Д. П. Штилерман, А. Л. Хирургические методы лечения эпителиально - эндотелиальной дистрофии роговицы / Д. П. Скачков, А. Л. Штилерман // Дальневосточный медицинский журнал. – 2012. – № 2. – С. 144 – 148.
92. Волков, В. В. Бржеский, В. В. Ушаков, Н. А. Офтальмохирургия с использованием полимеров / В. В. Волков, В. В. Бржеский, Н. А. Ушаков. – Санкт-Петербург: Гиппократ. – 2003. – 178 с.
93. Дронов М. М. Глубокая дистрофия роговой оболочки и методы ее лечения / М. М. Дронов // Офтальмохирургия. – 2004. – Т. 4. – № 1. – С. 20 – 25.
94. Труфанов С. В. Селективная кератопластика в лечении буллезной кератопатии: дисс. ... док. мед. наук: 14.01.07 / Труфанов Сергей Владимирович – М., 2015. – 293 с.
95. Bigger, S. L. L. An inquiry into the possibility of transplanting the cornea with a view of relieving blindness / S. L. L. Bigger // Dublin J. Med. Sci. – 1837. – Vol. 11. – P. 408 – 417.
96. Von Hippel, A. Eine neue Methode der Hornhaut transplantation / A. Von Hippel // Graefes. Arch. Ophthal. – 1888. – Vol. 34. – P. 108 – 130.
97. Zirm, E. Eine erfolgreiche totale Keratoplastik / E. Zirm // Arch. Ophthalmol. – 1906. – Vol. 64. – P. 580 – 593.
98. Филатов, В. П. Оптическая пересадка роговицы и тканевая терапия / В. П. Филатов. – Москва: Мезгиз, 1945. – 232 с.

99. Мороз, З. И. Тахчиди, Х. П. Калинин, Ю. Ю. Современные аспекты кератопластики. Новые технологии в лечении заболеваний роговицы / З. И. Мороз, Х. П. Тахчиди, Ю. Ю. Калинин // Материалы конференции. Москва, 2004. – С. 280 – 288.
100. Борзенко, С. А. Законодательные и нормативно-правовые аспекты в деятельности глазных тканевых банков России. / С. А. Борзенко // Сборник тезисов докладов VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Федоровские чтения 2009» под общей ред. Х.П. Тахчиди. – 2009. – С. 535.
101. Закон РФ "О трансплантации органов и (или) тканей человека" от 22.12.1992 г. // Ведомости Съезда народных депутатов РФ и Верховного Совета РФ, 1993. – № 2. – С. 62.
102. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации «О трансплантации органов и (или) тканей человека» от 4 июня 2015 г. N 307н/4 г.
103. Леванова О. Г. Послеоперационные воспалительные осложнения при повторной внутриглазной хирургии: клиника, патогенез, лечение, профилактика: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.07 / Леванова Ольга Геннадьевна. – М., 2010. – 44 с.
104. Малюгин, Б. Э. Марцинкевич, А. О. Современные подходы к профилактике послеоперационных воспалительных осложнений в хирургии катаракты у больных сахарным диабетом / Б. Э. Малюгин, А. О. Марцинкевич // Офтальмохирургия. – 2016. – № 1. – С. 17.
105. Busin, M. A new lamellar wound configuration for penetrating keratoplasty surgery / M. Busin // Arch. Ophthalmology. 2003. – № 121: 2. – P. 260 – 265.
106. Мягков, А. В. Перевозчиков, П. А. Кератопластика при эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы / А. В. Мягков, П. А. Перевозчиков //

Сборник науч. трудов «Современные методы лечения близорукости и других заболеваний глаз». – Ижевск, 2000. – С. 74 – 75.

107. Труфанов, С. В. Результаты обратной грибовидной кератопластики в хирургической реабилитации пациентов с буллезной кератопатией / С. В. Труфанов // Практическая медицина. – 2012. – Т. 4 (12). С. 126 – 129.

108. Kaiserman, I. Bahar, I. McAllum, P. Slomovic, A. R. Rootman, D. S. Suture-assisted vs forceps-assisted insertion of the donor lenticula during Descemet stripping automated endothelial keratoplasty / I. Kaiserman, I. Bahar, P. McAllum, A. R. Slomovic, D. S. Rootman // Am. J. Ophthalmol. – 2008. – № 145. – P. 986 – 990.

109. Ko, W. W. Feldman, S. T. Frueh, B. E. Experimental posterior lamellar transplantation of the rabbit cornea / W. W. Ko, S. T. Feldman, B. E. Frueh // Invest. Ophthalmol. – 1993. – № 34. – P. 1102.

110. Terry, M. A. Ousley, P. J. Deep lamellar endothelial keratoplasty in the first United States patients: early clinical results / M. A. Terry, P. J. Ousley, // Cornea. 2001. – № 20. – P. 239 – 243.

111. Меликова, Т. П. Амниотическая мембрана и ее применение в офтальмологии (обзор литературы) / Т. П. Меликова // Oftalmologiya. – 2010. – № 3. – С. 115 – 122.

112. Price, F. W. Jr. Price, M. O. Descemet stripping with endothelial keratoplasty in 50 eyes: a refractive neutral corneal transplant / F. W. Jr. Price, M. O. Price // J. Refract. Surg. – 2005. – № 21: 4. – P. 339 – 345.

113. Мамиконян, В. Р. Труфанов, С. В. Автоматизированная эндотелиальная кератопластика с трансплантацией Десцеметовой мембраны (DMAЕК) / В. Р. Мамиконян, С. В. Труфанов // Восток-Запад: сборник научных трудов научн.-прак. конференции. – Уфа, 2011. – С. 89.

114. Мамиконян, В. Р. Труфанов, С. В. Автоматизированная эндотелиальная кератопластика с удалением десцеметовой мембраны (DSAEK) / В. Р. Мамиконян, С. В. Труфанов // Сборник научных трудов научно – практической конференции «Восток-Запад». – Уфа, 2011. – С. 91 – 93.
115. Gorovoy, M. Descemet stripping automated endothelial keratoplasty / M. Gorovoy // *Cornea*. – 2006. – № 25: 8. – P. 886 – 889.
116. Tseng, S. Evolution of amniotic membrane transplantation / S. Tseng // *Clin. Experiment. Ophthalmol.* – 2007. – № 35: 2. – P. 109 – 110.
117. Melles, G. R. Ong, T. S. Ververs, B. van der Wees, J. Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK) / G. R. Melles, T. S. Ong, B. Ververs, J. van der Wees // *Cornea*. – 2006. – Vol. 25. – № 8. – P. 987 – 990.
118. Аветисов, С. Э. Суббот, А. М. Антохин, А. И. и др. Персонализированная клеточная терапия в офтальмологии (II): цитокиновый профиль аутогенного клеточного продукта / С. Э. Аветисов, А. М. Суббот, А. И. Антохин, Е. А. Каспарова, А. А. Каспаров, А. С. Павлюк // *Гены и клетки*. – 2012. – Т. 7. – № 1. – С. 49 – 53.
119. Каспарова, Е. А. Суббот, А. М. Антохин, А. И. Павлюк, А. С. Клиническая эффективность персонализированной клеточной терапии заболеваний эндотелия роговицы / Е. А. Каспарова, А. М. Суббот, А. И. Антохин, А. С. Павлюк // *Рефракционная хирургия*. – 2011. – №11: 2. – С. 45 – 49.
120. Павлюк, А. С. Каспаров, А. А. Каспарова, Евг. А. и др. Клеточная терапия послеоперационной ранней буллезной кератопатии аутологичными лейкоцитами периферической крови преактивированными *in vitro* полиА:полиУ / А. С. Павлюк, А. А. Каспаров, Евг. А. Каспарова, А. М. Суббот, Д. С. Николаенко // *Российский иммунологический журнал*. – 2008. – №2 (11). – С. 115 – 118.

121. De Luca, M. Albanese, E. Bondanza, S. Multicentre experience in the treatment of burns with autologous and allogenic cultured epithelium, fresh or preserved in a frozen state / M. De Luca, E. Albanese, S. Bondanza // *Burns*. – 1989. - № 15. – P. 303.
122. Pellegrini, G. Traverso, C. E. Franzi, A. T. Zingirian, M. Cancedda, R. De Luca, M. Long-term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium / G. Pellegrini, C. E. Traverso, A. T. Franzi, M. Zingirian, R. Cancedda, M. De Luca // *Lancet*. – 1997. – Vol. 5(349). – P. 990-993.
123. Cancedda R., De Luca M. Tissue engineering for clinical application / R. Cancedda, M. De Luca // *Year Immunol*. – 1993. –Vol.7. – P. 193-201.
124. Rama, P. Bonini, S. Lambiase, A. Golisano, O. Paterna, P. De Luca, M. Pellegrini, G. Autologous fibrin-cultured limbal stem cells permanently restore the corneal surface of patients with total limbal stem cell deficiency / P. Rama, S. Bonini, A. Lambiase, O. Golisano, P. Paterna, M. De Luca, G. Pellegrini // *Transplantation*. – 2001. – Vol. 15. – № 72(9). – P. 1478-1485.
125. Запускалов, И. В. Кривошеина, О. И. Хороших, Ю. И. Биомеханика «периферического сердца» в тканях глаза / И. В. Запускалов, О. И. Кривошеина, Ю. И. Хороших. – Томск: Иван Федоров, 2013. – 140 с.
126. Verhoeckx, K. Cotter, P. López-Expósito, I. Kleiveland, C. Lea, T. Mackie, A. Requena, T. Swiatecka, D. Wichers, H. The impact of food bioactives on health: In vitro and Ex Vivo models / K. Verhoeckx, P. Cotter, I. López-Expósito, C. Kleiveland, T. Lea, A. Mackie, T. Requena, D. Swiatecka, H. Wichers // *The Impact of Food Bioactives on Health: In Vitro and Ex Vivo Models*. – 2015. – <https://doi.org/10.1007/978-3-319-16104-4>
127. Okumura, N. Koizumi, N. Ueno, M. Sakamoto, Y. Takahashi H. ROCK inhibitor converts corneal endothelial cells into a phenotype capable of regenerating

in vivo endothelial tissue / N. Okumura, N. Koizumi, M. Ueno, Y. Sakamoto, H. Takahashi // *Am. J. Pathol.* – 2012. – № 181: 1. – P. 268 – 277.

128. Noriko Koizumi, Yuji Sakamoto, Naoki Okumura, Norio Okahara, Hideaki Tsuchiya, Ryuzo Torii, Leanne J Cooper, Yuriko Ban, Hidetoshi Tanioka, Shigeru Kinoshita Cultivated corneal endothelial cell sheet transplantation in a primate model / Noriko Koizumi 1, Yuji Sakamoto, Naoki Okumura, Norio Okahara, Hideaki Tsuchiya, Ryuzo Torii, Leanne J Cooper, Yuriko Ban, Hidetoshi Tanioka, Shigeru Kinoshita // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2007. – Vol. 48(10). – P. 4519-4526.

129. Barraquer, J. I. Queratoplastia: Problemas qui plantea la fijacion del injerto / J. I. Barraquer // *16th Consilium Ophthalmologicum. London: British Medical Association.* – 1951. – Vol. 2. – P. 999 – 1004

130. Краснов, М. М. Первый опыт имплантации искусственной роговицы (аллопластическое кератопротезирование) / М. М. Краснов, Е. А. Орлова // *Вестник офтальмологии.* – 1967. – № 6. – С. 11 – 16.

131. Морхат, И. В. Интраламеллярная кератопластика / И. В. Морхат. – Минск: Беларусь, 1980. – 110 с.

132. Морхат, И. В. Методика расчётов изменения рефракции при рефракционной интраламеллярной кератопластике твёрдым аллопластическим материалом / И. В. Морхат., Л. Е. Медведская // *Проблемы офтальмологии.* – 1976. – С. 54 – 55.

133. Dohlman, C. H. Syntetic polymers corneal surgery. Glyceryl mehacrylate / C. H. Dohlman // *Arch. Ophthalmol.* – 1967. – Vol. – 77 (2). – P. 252 – 257.

134. Refojo, M. F. Alloplastic implants in corneal edema / M. F. Refojo, C. H. Dohlman // *Int. Ophthalmol. Clin.* – 1968. – Vol. – 8 (3) – P. 729 – 756.

135. Животовский, Д. С. Изменение рефракции глаза в результате имплантации внутрироговичных пластмассовых линз в эксперименте / Д. С. Животовский // Вестник офтальмологии. – 1970. – № 2. – С. 34 – 38.
136. Животовский, Д. С. Применение внутрироговичных пластмассовых линз в эксперименте и клинике / Д. С. Животовский // Вестник офтальмологии. – 1972. – № 2. – С. 38 – 45.
137. McCarey, B. E. Refractive keratoplasty with intrastromal hydrogel lenticular implants / B. E. McCarey, D. T. Andrews // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1991. – Vol. 21. – P. 107 – 115.
138. McCarey, B. E. Hydrogel implants for refractive keratoplasty: corneal morphology / B. E. McCarey // Cur. Eye Res. – 1982. – Vol. 2. – P. 29 – 38.
139. McCarey, B. E. Hydrogel keratophakia: a freehand pocket dissection in the monkey model / B. E. McCarey // Br. J. Ophthalmol. – 1986. – Vol. 70 (3). – P. 187 – 189.
140. Binder, P. S. Hydrogel implants keratophakia in non-human primates / P. S. Binder // Curr. Eye Res. – 1981. – Vol. 1. – P. 535 – 542.
141. McDonald, M. B. Alloplastic epikeratophakia for the correction of aphakia / M. B. McDonald // Cur. Eye Res. – 1981. – Vol. 1. – P. 131 – 137.
142. Werblin, T. P. Stability of hydrogel intracorneal implans in nonhuman primates / T. P. Werblin // Cont. Lens Assoc. Ophthalmol. – 1983. – Vol. 9. – P. 17 – 61.
143. Гурбанов, Р. С. Интрастромальная кератоластика в коррекции миопии и миопического астигматизма при кератоконусе: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.07 / Гурабонов Рашадат Сади оглы. – М., 2010. – 151 с.
144. Мороз, З. И. Рефракционные результаты имплантации интрастромальных роговичных сегментов на основе гидрогеля у пациентов с



кератоконусом / З. И. Мороз, Ю. Ю. Калинин, Г. Д. Леонтьева // Офтальмохирургия. – 2009. – № 1. – С. 14 – 17.

145. Stone, W. Herbert, E. Experimental study of plastic material as replacement for the cornea / W. Stone, E. Herbert // Am. J. Ophthalmol. – 1953. – Vol. 36. – P. 168 – 173.

146. D’Hermies, F. Biocompatibility of a refractive intracorneal PMMA ring / F. D’Hermies, C. Hartmann // Forsch. Ophthalmol. – 1991. – Vol. 88. – P. 790 – 793.

147. Lane, S. L. Lindstrom, R. L. Cameron, J. D. Polysulfone corneal lenses / S. L. Lane, R. L. Lindstrom, J. D. Cameron // J. Cataract Refract. Surg. – 1986. – №12. – P. 50-60.

148. Crawford, J. B. Faulkner, G. D. Pathology report on the foldable silicone posterior chamber lens / J. B. Crawford, G. D. Faulkner // J. Cataract Refract. Surg. – 1986. – №12. – P. 297-300.

149. Ferrara de Chunha P. Tecnica cirurgica para correcao de myopia com implante de anel corleano intraestromal / P.Ferrara de Chunha// II Congresso International da Sociedade Brasileira de Cirurgia Refractiva, Sao Paulo. – 1994. – P. 34-36.

150. Омиадзе, М. Р. Первый клинический опыт применения роговичных линз из нового биосовместимого материала – сополимера коллагена // 2-ой международный симпозиум по рефракционной хирургии. – Москва – 1991. – С. 173.

151. Fuchsluger, T. Neue Möglichkeiten der Augenoberflächenrekonstruktion // T. Fuchsluger, S. Salehi, C. Petsch, B. Bachmann // Der Ophthalmologe. – 2014 г. - №11. – P. 1019 – 1026

152. Шуланова, Ж. Ж. Перспективы применения в хирургии биополимерных матриц на основе гиалуроновой кислоты / Ж. Ж. Шуланова // Медицинский вестник Башкортостана. – 2016. – Том 11. – № 1. – С. 135-138.

153. Haleh Bakhshandeh, Poly ( $\epsilon$ -caprolactone) nanofibrous ring surrounding a polyvinyl alcohol hydrogel for the development of a biocompatible two-part artificial cornea / Haleh Bakhshandeh, Masoud Soleimani, Saied Shah Hosseini, Hassan Hashemi, Iman Shabani, Abbas, Shafiee, Amir Houshang Behesht, Mohammad Erfan, Rassoul Dinarvand, Fatemeh Atyabi // Dove Press Journal: International Journal of Nanomedicine. – 2011. – №6. – P. 1509-1515
154. Zhaoliang Zhang, Rapamycin-loaded poly( $\epsilon$ -caprolactone)-poly(ethyleneglycol)-poly( $\epsilon$ -caprolactone) nanoparticles: preparation, characterization and potential application in corneal transplantation / Zhaoliang Zhang, Lu Xu, Hao Chen, Xingyi Li // Journal of Pharmacy and Pharmacology. – 2013. – №66. – P. 557-563
155. Джанаева, З. Н. Тектоническая кератопластика с использованием пористого политетрафторэтилена / З. Н. Джанаева, К. В. Хрипун, Я. С. Коненкова, В. П. Николаенко // Офтальмологические ведомости. – 2013. – Т. 6. – №4. – С. 54-60.
156. Liqiang Wang, Biocompatibility of helicoidal multilamellar arginine–glycine–aspartic acid-functionalized silk biomaterials in a rabbit corneal model / Liqiang Wang, Ruijue Ma, Gaiping Du, Huiling Guo, Yifei Huang // Journal of biomedical materials research b: applied biomaterials. – 2014. – P. 1-8.
157. Sipehia, R. Garfinkle, A. Jakson, W. B. Towards an artificial cornea: Surface modifications of optically clear, oxygen permeable soft contact lens materials by ammonia plasma modification technique for the enhanced attachment and growth of corneal epithelial cells / R. Sipehia, A. Garfinkle, W. B. Jakson // Biomat. Art. cells, Art. org. – 2000. – Vol.18. – N5. – P.643-655.
158. Bernadette, K. Madathil N-Isopropylacrylamide-co-glycidylmethacrylate as a Thermoresponsive Substrate for Corneal Endothelial Cell Sheet Engineering /

Bernadette K. Madathil, Pallickaveedu RajanAsari Anil Kumar, Thrikkovil Variyath Kumary // *BioMed Research International*. – 2014. – V. 1. – P. 315-326.

159. Мушкова, И. А. Гистоморфологические изменения роговицы кролика после имплантации внутрироговичных линз и электронно –микроскопическое обоснование полученных результатов // И. А. Мушкова, С. А. Борзенок, А. Н. Каримова, Ю. В. Шкандина // *Вестник Оренбургского государственного университета*. – 2015. – № 12. – С. 151-155.

160. Малюгин, Б. Э. Морфологическое исследование биосовместимости интракорнеальных полимерных линз с роговицей человека в эксперименте *in vitro* / Б. Э. Малюгин, С. А. Борзенок, И. А. Мушкова, Н. В. Шевлягина, Ю. В. Шкандина, Д. С. Островский, И. А. Попов // *Офтальмохирургия*. – 2016. – № 4. – С. 51–60.

161. Peter Mojzis, Opacification of a hydrophilic acrylic intraocular lens with a hydrophobic surface after air injection in Descemet-stripping automated endothelial keratoplasty in a patient with Fuchs dystrophy / Peter Mojzis, Pavel Studeny, Liliana Werner // *Cataract Refractive Surgery*. – 2016. – Vol. 42 (3). – P. 485-488.

162. Suh, J. K. Matthew, H. W. Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: A review / J. K. Suh, H. W. Matthew // *Biomaterials*. – 2000. – Vol. 21. – № 24. – P. 2589- 2598

163. Berkay Ozcelik, Ultrathin chitosan–poly(ethylene glycol) hydrogel films for corneal tissue engineering / Berkay Ozcelik, Karl D. Brown, Anton Blencowe, Mark Daniell, Geoff W. Stevens, Greg Qiao // *Acta Materialia*. – 2013. – Vol. 9 (5). – P. 6594-6605.

164. Агапов, И. И. Пустовалова, О. Л. Мойсенович, М. М. Трехмерный матрикс из рекомбинантного белка паутины для тканевой инженерии / И. И. Агапов, О. Л. Пустовалова, М. М. Мойсенович // *Доклады Академии наук*. – 2009. – Т. 426. – № 1. – С. 115-118.

165. Tonsomboon, K. Oyen, M. L. Composite electrospun gelatin fiber-alginate gel scaffolds for mechanically robust tissue engineered cornea / K. Tonsomboon, M. L. Oyen // *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* – 2013. – Vol. 21. – P. 185-194.
166. Дронов, М. М. Каранов, К. С. Бобырь, А. Б. Способ лечения буллезной кератопатии. – Патент России № 2082364, приоритет от 27.06.1997.
167. Дронов, М. М. Каранов В. С. Способ лечения буллезной кератопатии. – Патент России № 208236410–4М, приоритет от 21.01.2008.
168. Дружинин, И. Б. Способ лечения буллезной кератопатии. – Патент России № 2405513, приоритет от 13.10.2009.
169. Верзин, А. А. Интраламеллярная кератопластика биополимерной линзой для лечения буллезной кератопатии и коррекции афакии: дис. ... канд. мед. наук. – М., 2002. – С. 189
170. Шустеров, Ю. А. Морфологические аспекты рефракционной кератопластики гидрогелевым эксплантатом / Ю. А. Шустеров // *Современные технологии в офтальмологии.* – 2014. – № 3. – С. 113-115.
171. Патент США № 10052350 Fabrication of gelatin hydrogel sheet for the transplantation of corneal endothelium. GuoGuang Niu, Winston – Salem, Shay Soker, 2018.
172. Okada, H. Doken, Y. Ogawa, Y. Persistent suppression of the pituitary-gonadal system in female rats by three-month depot injectable microspheres of leuprorelin acetate / H. Okada, Y. Doken, Y. Ogawa // *J. Pharm. Sci.* – 1996. – Vol. 85. – P. 1044–1048.
173. Giordano, G. G. Chevez-Barrios, P. Refojo, M. F. Garcia, C. A. Biodegradation and tissue reaction to intravitreal biodegradable poly(D,L-lactico-glycolic)acid microspheres / G. G. Giordano, P. Chevez-Barrios, M. F. Refojo, C. A. Garcia // *Curr. Eye Res.* – 1995. – Vol. 14. – P. 761–768.

174. Giordano, G. G. Refojo, M. F. Arroyo, M. H. Sustained delivery of retinoic acid from microspheres of biodegradable polymer in PVR / G. G. Giordano, M. F. Refojo, M. H. Arroyo // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1993. – 34. – P. 2743–2751.
175. Khoobehi, B. Stradtman, M. O. Peyman, G. A. Aly, O. M. Clearance of fluorescein incorporated into microspheres from the cornea and aqueous after subconjunctival injection / B. Khoobehi, M. O. Stradtman, G. A. Peyman, O. M. Aly // *Ophthalmic. Surg.* – 1990. – Vol. 21. – P. 840–844.
176. Moritera, T. Ogura, Y. Honda, Y. Wada, R. Hyon, S. H. Ikada, Y. Microspheres of biodegradable polymers as a drug-delivery system in the vitreous / T. Moritera, Y. Ogura, Y. Honda, R. Wada, S. H. Hyon, Y. Ikada // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 1991. – Vol. 32. – P. 1785–1790.
177. Moritera, T. Ogura, Y. Yoshimura, N. Honda, Y. Wada, R. Hyon, S. H. Ikada, Y. Biodegradable microspheres containing adriamycin in the treatment of proliferative vitreoretinopathy / T. Moritera, Y. Ogura, N. Yoshimura, Y. Honda, R. Wada, S. H. Hyon, Y. Ikada // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 1992. – Vol. 33. – P. 3125–3130.
178. Veloso, A. A. Jr. Zhu, Q. Herrero-Vanrell, R. Refojo, M. F. Ganciclovir-loaded polymer microspheres in rabbit eyes inoculated with human cytomegalovirus / A. A. Jr. Veloso, Q. Zhu, R. Herrero-Vanrell, M. F. Refojo // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 1997. – Vol. 38. – P. 665–675.
179. de Rojas Silva, M. V. Rodriguez-Ares, M. T. Sanchez-Salorio, M. Lamas Diaz, M. J. Cuevas Alvarez, J. Vila Jato, J. L. Capeans Tome, C. Efficacy of subconjunctival cyclosporin-containing microspheres on keratoplasty rejection in the rabbit / M. V. de Rojas Silva, M. T. Rodriguez-Ares, M. Sanchez-Salorio, M. J. Lamas Diaz, J. Cuevas Alvarez, J. L. Vila Jato, C. Capeans Tome // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* – 1999. – 237. – P. 840–847.

180. Harper, C. A. Khoobehi, B. Peyman, G. A. Gebhardt, B. M. Dunlap, W. A. Bioavailability of microsphere-entrapped cyclosporine A in the cornea and aqueous of rabbits / C. A. Harper, B. Khoobehi, G. A. Peyman, B. M. Gebhardt, W. A. Dunlap // *Int Ophthalmol.* – 1993. – Vol. 17. – P. 337–340.
181. Kimura, H. Ogura, Y. Moritera, T. Honda, Y. Wada, R. Hyon, S. H. Ikada, Y. Injectable microspheres with controlled drug release for glaucoma filtering surgery / H. Kimura, Y. Ogura, T. Moritera, Y. Honda, R. Wada, S. H. Hyon, Y. Ikada // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 1992. – Vol. 33. – P. 3436–3441.
182. Lee, Y. C. Simamora, P. Yalkowsky, S. H. Effect of Brij-78 on systemic delivery of insulin from an ocular device / Y. C. Lee, P. Simamora, S. H. Yalkowsky // *J Pharm Sci.* – 1997. – Vol. 86. – P. 430–433.
183. Uppal, P. Jampel, H. D. Quigley, H. A. Leong, K. W. Pharmacokinetics of etoposide delivery by a bioerodible drug carrier implanted at glaucoma surgery / P. Uppal, H. D. Jampel, H. A. Quigley, K. W. Leong // *J Ocul Pharmacol.* – 1994. – Vol. 10. – P. 471–479.
184. Beck, L. R. Cowsar, D. R. Lewis, D. H. Cosgrove, R. J. Jr. Riddle, C. T. Lowry, S. R. Epperly, T. A new long-acting injectable microcapsule system for the administration of progesterone / L. R. Beck, D. R. Cowsar, D. H. Lewis, R. J. Jr. Cosgrove, C. T. Riddle, S. R. Lowry, T. Epperly, // *Fertil Steril.* – 1979. – Vol. 31. – P. 545–551.
185. Ershuai, Z. Chuanshun, Z. Jun, Y. Hong, S. Xiaomin, Z. Suhua, L. Yonglan, W. Lu, S. Fanglian, Y. Electrospun PDLGA/PLGA composite membranes for potential application in guided tissue regeneration / Z. Ershuai, Z. Chuanshun, Y. Jun, S. Hong, Z. Xiaomin, L. Suhua, W. Yonglan, S. Lu, Y. Fanglian, // *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* – 2016. – Vol. 58. – P. 278–285.

186. Zhou, H. Lawrence, J. G. Bhaduri, S. B. Fabrication aspects of PLA-CaP/PLGA-CaP composites for orthopedic applications: A review / H. Zhou, J. G. Lawrence, S. B. Bhaduri // *Acta Biomater.* – 2012. – Vol. 8. – P. 1999–2016.
187. Cam, D. Hyon, S. H. Ikada, Y. Degradation of high molecular weight poly(L-lactide) in alkaline medium / D. Cam, S. H. Hyon, Y. Ikada // *Biomaterial.* – 1995. – Vol. 16. – P. 833-843.
188. Yasukawa, T. Ogura, Y. Sakurai, E. Tabata, Y. Kimura, H. Biodegradable scleral plugs for vitreoretinal drug delivery / T. Yasukawa, Y. Ogura, E. Sakurai, Y. Tabata, H. Kimura // *Adv Drug Deliv Rev.* – 2005. – Vol. 57. – P 25-36.
189. Yang, H. Tyagi, P. Kadam, R. S. Holden, C. A. Kompella, U. B. Hybrid Dendrimer hydrogel/PLGA nanoparticle platform sustains drug delivery for one week and antiglaucoma effects for four days following one-time topical administration / H. Yang, P. Tyagi, R. S. Kadam, C. A. Holden, U. B. Kompella // *ACS Nano.* – 2012. – Vol. 6 (9). – P. 7595-7606.
190. Fei, W. L. Chen, J. Q. Yuan, J. Quan, D. P. Zhou, S. Y. Preliminary study of the effect of FK506 nanospheric-suspension eye drops on rejection of penetrating keratoplasty / W. L. Fei, J. Q. Chen, J. Yuan, D. P. Quan, S. Y. Zhou // *J ocul Pharmacol Ther.* – 2008. – Vol. – 24 (2). – P. 235-244.
191. Giordano, G. G. Chevez-Barrios, P. Refojo, M. F. Garcia, C. A. Biodegradation and tissue reaction to intravitreal biodegradable poly(D,L-lactico-glycolic)acid microspheres / G. G. Giordano, P. Chevez-Barrios, M. F. Refojo, C. A. Garcia // *Curr Eye Res.* – 1995. – Vol. 14. – P. 761–768.
192. Ghaffar, A. Draaisma, G. J. Mihov, G. Schoenmakers, P. J. Wal van der, S. A versatile system for studying the enzymatic degradation of multi-block poly(ester amide)s / A. Ghaffar, G. J. Draaisma, G. Mihov, P. J. Schoenmakers, S. Wal van der // *J. Chromatogr. A.* – 2013. – Vol. 1286. – P. 29–40.

193. Katsarava, R. Beridze, Z. Arabuli, N. Kharadze, D. Chu, C. C. Won, C. Y. Amino acidbased bioanalogous polymers. Synthesis, and study of regular poly(ester amide)s based on bis( $\alpha$ -amino acid)  $\alpha$ ,  $\omega$ -alkylene diesters, and aliphatic dicarboxylic acids / R. Katsarava, Z. Beridze, N. Arabuli, D. Kharadze, C. C. Chu, C. Y. Won // *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* – 1999. – Vol. 37. – P. 391–407.
194. Vanessa Andrés-Guerrero, Mengmeng Zong, Eva Ramsay, Blanca Rojas, Sanjay Sarkhel Novel biodegradable polyesteramide microspheres for controlled drug delivery in Ophthalmology / Vanessa Andrés-Guerrero, Mengmeng Zong, Eva Ramsay, Blanca Rojas, Sanjay Sarkhel // *Journal of Controlled Release.* – 2015. – Vol. 211. – P. 105–117.
195. ПАТЕНТ США № 4.745.159. Methacrylate resin composition and process for its preparation. Anzai H., Makino H., Sasaki I., Nishida K., Morimoto M., Mitsubishi Rayon, Serial № 5423, 1988.
196. Layre, A. M. Couvreur, P. Chacun, H. Aymes-Chodur, C. Ghermani, N. E. Poupaert, J. Richard, J. Requier, D. Gref, R. Busulfan loading into poly(alkyl cyanoacrylate) nanoparticles: physico-chemistry and molecular modeling / A. M. Layre, P. Couvreur, H. Chacun, C. Aymes-Chodur, N. E. Ghermani, J. Poupaert, J. Richard, D. Requier, R. Gref // *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* – 2006. – Vol. 79. – P. 254.
197. Sinha, V. R. Bansal, K. Kaushik, R. Kumria, R. Trehan, A. Poly-caprolactone microspheres and nanospheres: an overview / V. R. Sinha, K. Bansal, R. Kaushik, R. Kumria, A. Trehan // *Int J Pharm.* – 2004. – Vol. 278. – P. 1-23.
198. Deshpande, A. A. Heller, J. Gurny, R. Bioerodible polymers for ocular drug delivery / A. A. Deshpande, J. Heller, R. Gurny // *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* – 1998. – Vol. 15. – P. 381-420.
199. Murthy, R. S. R. 1997, *Controlled and Novel Drug Delivery*, CBS Publisher: New Delhi.



200. Fialho, S. L. Behar-Cohen, F. Silva-Cunha, A. Dexamethasone-loaded poly ( $\epsilon$ -caprolactone) intravitreal implants: A pilot study / S. L. Fialho, F. Behar-Cohen, A. Silva-Cunha // *Eur J Pharm Biopharm.* – 2008. – Vol. 68. – P. 637-646.
201. Beeley, N. R. Rossi, J. V. Mello-Filho, P. A. Mahmoud, M. I. Fujii, G. Y. de Juan, E. Jr. Varner, S. E. Fabrication, implantation, elution, and retrieval of a steroid-loaded polycaprolactone subretinal implant / N. R. Beeley, J. V. Rossi, P. A. Mello-Filho, M. I. Mahmoud, G. Y. Fujii, E. Jr. de Juan, S. E. Varner // *J Biomed Mater Res.* – 2005. – Vol. 73. – P. 437-444.
202. Yin, H. Gong, C. Shi, S. Liu, X. Wei, Y. Qian, Z. Toxicity evaluation of biodegradable and thermosensitive PEG-PCL-PEG hydrogel as a potential in situ sustained ophthalmic drug delivery system / H. Yin, C. Gong, S. Shi, X. Liu, Y. Wei, Z. Qian // *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* – 1992. – Vol. 92 (1). – P. 129.
203. Bruining, M. J. Edelbroek-Hoogendoorn, P. S. Blaauwgeers, H. G. Mooy, C. M. Hendrikse, F. H. Koole, L. H. New biodegradable networks of poly(N-vinylpyrrolidinone) designed for controlled nonburst degradation in the vitreous body / M. J. Bruining, P. S. Edelbroek-Hoogendoorn, H. G. Blaauwgeers, C. M. Mooy, F. H. Hendrikse, L. H. Koole // *J Biomed Mater Res.* – 1999. – Vol. 47. – P. 189-197.
204. Colthurst, M. J. Williams, R. L. Hiscott, P. S. Grierson, I. Biomaterials used in the posterior segment of the eye / M. J. Colthurst, R. L. Williams, P. S. Hiscott, I. Grierson // *Biomaterials.* – 2000. – Vol. 21. – P. 649-665.
205. Hong, Y. Chirila, T. V. Vijayasekaran, S. Shen, W. Lou, X. Dalton, P. D. Biodegradation in vitro and retention in the rabbit eye of crosslinked poly(1-vinyl-2-pyrrolidinone) hydrogel as a vitreous substitute / Y. Hong, T. V. Chirila, S. Vijayasekaran, W. Shen, X. Lou, P. D. Dalton // *J Biomed Mater Res.* – 1998. – Vol. 39. – P. 650-659.

206. Vijayasekaran, S. Chirila, T. V. Hong, Y. Tahija, S. G. Dalton, P. D. Constable, I. J. McAllister, I. L. Poly(1-vinyl-2-pyrrolidinone) hydrogels as vitreous substitutes: histopathological evaluation in the animal eye / S. Vijayasekaran, T. V. Chirila, Y. Hong, S. G. Tahija, P. D. Dalton, I. J. Constable, I. L. McAllister // *J Biomater Sci Polym Ed.* – 1996. – Vol. 7. – P. 685-696.
207. Niu, G. Yang, Y. Zhang, H. Yang, J. Song, L. Kashima, M. Yang, Z. Cao, H. Zheng, Y. Zhu, S. Yang, H. Synthesis and characterization of acrylamide/N-vinylpyrrolidone copolymer with pendent thiol groups for ophthalmic applications / G. Niu, Y. Yang, H. Zhang, J. Yang, L. Song, M. Kashima, Z. Yang, H. Cao, Y. Zheng, S. Zhu, H. Yang // *Acta Biomater.* – 2009. – Vol. 5. – P. 1056-1063.
208. Peracchia, M. T. Vauthier, C. Puisieux, F. Couvreur, P. Development of sterically stabilized poly(isobutylcyanoacrylate) nanoparticles by chemical coupling of poly(ethylene glycol) / M. T. Peracchia, C. Vauthier, F. Puisieux, P. Couvreur // *J. Biomed. Mater. Res.* – 1997. – Vol. 34. – P. 317-326.
209. Fresta, M. Fontana, G. Bucolo, C. Cavallaro, G. Giammona, G. Puglisi, G. Ocular tolerability and in vivo bioavailability of poly(ethylene glycol) (PEG)-coated polyethyl-2-cyanoacrylate nanosphere-encapsulated acyclovir / M. Fresta, G. Fontana, C. Bucolo, G. Cavallaro, G. Giammona, G. Puglisi // *J. Pharm. Sci.* – 2001. – Vol. 90. – P. 288-297.
210. Apel, A. Oh, C. Chiu, R. Saville, B. Cheng, Y. L. Rootman, D. A. subconjunctival degradable implant for cyclosporine delivery in corneal transplant therapy / A. Apel, C. Oh, R. Chiu, B. Saville, Y. L. Cheng, D. A. Rootman // *Curr Eye Res.* – 1995. – Vol. – 14. – P. 659–667.
211. Gould, L. Trope, G. Cheng, Y. L. Heathcote, J. G. Sheardown, H. Rootman, D. Liu, G. S. Menon, I. A. Fifty:fifty poly (DL glycolic acid-lactic acid) copolymer as a drug delivery system for 5- fluorouracil: A histopathological evaluation / L.

Gould, G. Trope, Y. L. Cheng, J. G. Heathcote, H. Sheardown, D. Rootman, G. S. Liu, I. A. Menon // *Can J Ophthalmol.* – 1994. – Vol. 29. – P.168–171.

212. Trope, G. E. Cheng, Y. L. Sheardown, H. Liu, G. S. Menon, I. A. Heathcote, J. G. Rootman, D. S. Chiu, W. J. Gould, L. Depot drug delivery system for 5-fluorouracil after filtration surgery in the rabbit / G. E. Trope, Y. L. Cheng, H. Sheardown, G. S. Liu, I. A. Menon, J. G. Heathcote, D. S. Rootman, W. J. Chiu, L. Gould // *Can J Ophthalmol.* – 1994. – Vol. 29. – P. 263–267.

213. Morita, Y. Saino, H. Tojo, K. Polymer blend implant for ocular delivery of fluorometholone / Y. Morita, H. Saino, K. Tojo // *Biol Pharm Bull.* – 1998. – Vol. 21. – P. 72–75.

214. Chang, D. F. Garcia, I. H. Hunkeler, J. D. Minas, T. Phase II results of an intraocular steroid delivery system for cataract surgery / D. F. Chang, I. H. Garcia, J. D. Hunkeler, T. Minas // *Ophthalmology.* – 1999. – Vol. 106. – P. 1172–1177.

215. Rubsamen, P. E. Davis, P. A. Hernandez, E. O'Grady, G. E. Cousins, S. W. Prevention of experimental proliferative vitreoretinopathy with a biodegradable intravitreal implant for the sustained release of fluorouracil / P. E. Rubsamen, P. A. Davis, E. Hernandez, G. E. O'Grady, S. W. Cousins // *Arch Ophthalmol.* – 1994. – Vol. 112. – P. 407–413.

216. Zhou, T. Lewis, H. Foster, R. E. Schwendeman, S. P. Development of a multiple-drug delivery implant for intraocular management of proliferative vitreoretinopathy / T. Zhou, H. Lewis, R. E. Foster, S. P. Schwendeman // *J Controlled Release.* – 1998. – Vol. 55. – P. 281–295.

217. Hacker, M. C. Haesslein, A. Ueda, H. Foster, W. J. Garcia, C. A. Ammon, D. M. Borazjani, R. N. Kunzler, J. F. Salamone, J. C. Mikos, A. G. Biodegradable fumarate-based drug-delivery systems for ophthalmic applications / M. C. Hacker, A. Haesslein, H. Ueda, W. J. Foster, C. A. Garcia, D. M. Ammon, R. N. Borazjani,

- J. F. Kunzler, J. C. Salamone, A. G. Mikos // *J Biomed Mater Res A.* – 2009. – Vol. 88. – P. 976-989.
218. Von Arx, T. Cochran, D. L. Schenk, R. K. Buser, D. Evaluation of a prototype trilayer membrane (PTLM) for lateral ridge augmentation: An experimental study in the canine mandible / T. Von Arx, D. L. Cochran, R. K. Schenk, D. Buser // *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* – 2002. – Vol. 31. – P. 190–199.
219. Lorenzoni, M. Pertl, C. Keil, C. Wegscheider, W. A. Treatment of peri-implant defects with guided bone regeneration: A comparative clinical study with various membranes and bone grafts / M. Lorenzoni, C. Pertl, C. Keil, W. A. Wegscheider // *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* – 1998. – Vol. 13. – P. 639–646.
220. Simion, M. Misitano, U. Gionso, L. Salvato, A. Treatment of dehiscences and fenestrations around dental implants using resorbable and nonresorbable membranes associated with bone autografts: A comparative clinical study / M. Simion, U. Misitano, L. Gionso, A. Salvato // *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* – 1997. – 12. – P. 159–167.
221. Nair, L. S. Laurencin, C. T. Biodegradable polymers as biomaterials / L. S. Nair, C. T. Laurencin // *Prog. Polym. Sci.* – 2007. – Vol. 32. – P. 762–798.
222. Donos, N. Kostopoulos, L. Karring, T. Alveolar ridge augmentation using a resorbable copolymer membrane and autogenous bone grafts. An experimental study in the rat / N. Donos, L. Kostopoulos, T. Karring // *Clin. Oral Implants Res.* – 2002. – 13. – P. 203–213.
223. Haidar, Z. S. Bio-inspired/-functional colloidal core-shell polymeric-based nanosystems: Technology promise in tissue engineering, bioimaging and nanomedicine / Z. S. Haidar // *Polymers.* – 2010. – Vol. 2. – P. 323–352.
224. Stavropoulos, F. Dahlin, C. Ruskin, J. D. Johansson, C. A. comparative study of barrier membranes as graft protectors in the treatment of localized bone defects.

- An experimental study in a canine model / F. Stavropoulos, C. Dahlin, J. D. Ruskin, C. A. Johansson // *Clin. Oral Implants Res.* – 2004. – Vol. 15. – P. 435–442.
225. Lundgren, D. Mathisen, T. Gottlow, J. The development of a bioresorbable barrier for guided tissue regeneration / D. Lundgren, T. Mathisen, J. Gottlow // *Swed. Dent. J.* – 1994. – Vol. 86. – P. 741–756.
226. Hua, N. Ti, V. L. Xu, Y. Biodegradable effect of PLGA membrane in alveolar bone regeneration on beagle dog / N. Hua, V. L. Ti, Y. Xu // *Cell Biochem. Biophys.* – 2014. – Vol. 70. – P. 1051–1055.
227. Wadhawan, A. Gowda, T. M. Mehta, D. S. Gore-tex® versus resolut adapt® GTR membranes with perioglas® in periodontal regeneration / A. Wadhawan, T. M. Gowda, D. S. Mehta // *Contemp. Clin. Dent.* – 2012. – Vol. 3. – P. 406–411.
228. Schneider, D. Weber, F. E. Grunder, U. Andreoni, C. Burkhardt, R. Jung, R. E. A randomized controlled clinical multicenter trial comparing the clinical and histological performance of a new, modified polylactide-co-glycolide acid membrane to an expanded polytetrafluorethylene membrane in guided bone regeneration procedures / D. Schneider, F. E. Weber, U. Grunder, C. Andreoni, R. Burkhardt, R. E. Jung // *Clin. Oral Implants Res.* – 2014. – Vol. 25. – P. 150–158.
229. Jung, R. E. Kokovic, V. Jurisic, M. Yaman, D. Subramani, K. Weber, F. E. Guided bone regeneration with a synthetic biodegradable membrane: A comparative study in dogs / R. E. Jung, V. Kokovic, M. Jurisic, D. Yaman, K. Subramani, F. E. Weber // *Clin. Oral Implants Res.* – 2011. – Vol. 22. – P. 802–807.
230. Karfeld-Sulzer, L. S. Ghayor, C. Siegenthaler, B. Gjoksi, B. Pohjonen, T. H. Weber, F. E. Comparative study of NMP-preloaded and dip-loaded membranes for guided bone regeneration of rabbit cranial defects / L. S. Karfeld-Sulzer, C. Ghayor, B. Siegenthaler, B. Gjoksi, T. H. Pohjonen, F. E. Weber // *J. Tissue Eng. Regen. Med.* – 2017. – Vol. 11 (2). – P. 425–433.

231. Miguel, B. S. Ghayor, C. Ehrbar, M. Jung, R. E. Zwahlen, R. A. Hortschansky, P. Schmoekel, H. G. Weber, F. E. N-methyl pyrrolidone as a potent bone morphogenetic protein enhancer for bone tissue regeneration / B. S. Miguel, C. Ghayor, M. Ehrbar, R. E. Jung, R. A. Zwahlen, P. Hortschansky, H. G. Schmoekel, F. E. Weber // *Tissue Eng. Part A.* – 2009. – Vol. 15. – P. 2955–2963.
232. Zwahlen, R. A. Cheung, L. K. Zheng, L.-W. Chow, R. L. K. Li, T. Schuknecht, B. Grätz, K. W. Weber, F. E. Comparison of two resorbable membrane systems in bone regeneration after removal of wisdom teeth: A randomized-controlled clinical pilot study / R. A. Zwahlen, L. K. Cheung, L.-W. Zheng, R. L. K. Chow, T. Li, B. Schuknecht, K. W. Grätz, F. E. Weber // *Clin. Oral Implants Res.* – 2009. – Vol. 20. – P. 1084–1091.
233. Jamuna-Thevi, K. Saarani, N. N. Abdul Kadir, M. R. Hermawan, H. Triple-layered PLGA/nanoapatite/lauric acid graded composite membrane for periodontal guided bone regeneration / K. Jamuna-Thevi, N. N. Saarani, M. R. Abdul Kadir, H. Hermawan // *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* – 2014. – Vol. 43. – P. 253–263.
234. Van Leeuwen, A. C. Huddleston Slater, J. J. R. Gielkens, P. F. M. de Jong, J. R. Grijpma, D. W. Bos, R. R. M. Guided bone regeneration in rat mandibular defects using resorbable poly(trimethylene carbonate) barrier membranes / A. C. Van Leeuwen, J. J. R. Huddleston Slater, P. F. M. Gielkens, J. R. de Jong, D. W. Grijpma, R. R. M. Bos // *Acta Biomater.* – 2012. – Vol. 8. – P. 1422–1429.
235. De Santis, R. Gloria, A. Russo, T. D'Amora, U. D'Antò, V. Bollino, F. Catauro, M. Mollica, F. Rengo, S. Ambrosio, L. Advanced composites for hard-tissue engineering based on PCL/organic-inorganic hybrid fillers: From the design of 2D substrates to 3D rapid prototyped scaffolds / R. De Santis, A. Gloria, T. Russo, U. D'Amora, V. D'Antò, F. Bollino, M. Catauro, F. Mollica, S. Rengo, L. Ambrosio // *Polym. Compos.* – 2013. – Vol. 34. – P. 1413–1417.

236. Domingos, M. Intranuovo, F. Russo, T. Santis, R. D. Gloria, A. Ambrosio, L. Ciurana, J. Bartolo, P. The first systematic analysis of 3D rapid prototyped poly(ε-caprolactone) scaffolds manufactured through BioCell printing: The effect of pore size and geometry on compressive mechanical behaviour and in vitro hMSC viability / M. Domingos, F. Intranuovo, T. Russo, R. D. Santis, A. Gloria, L. Ambrosio, J. Ciurana, P. Bartolo // *Biofabrication*. – 2013. – Vol. 5. – P. 045004.
237. Fujihara, K. Kotaki, M. Ramakrishna, S. Guided bone regeneration membrane made of polycaprolactone/calcium carbonate composite nano-fibers / K. Fujihara, M. Kotaki, S. Ramakrishna // *Biomaterials*. – 2005. – Vol. 26. – P. 4139–4147.
238. Yang, F. Both, S. K. Yang, X. Walboomers, X. F. Jansen, J. A. Development of an electrospun nano-apatite/PCL composite membrane for GTR/GBR application / F. Yang, S. K. Both, X. Yang, X. F. Walboomers, J. A. Jansen // *Acta Biomater.* – 2009. – Vol. 5. – P. 3295–3304.
239. Gentile, P. Chiono, V. Tonda-Turo, C. Ferreira, A. M. Ciardelli, G. Polymeric membranes for guided bone regeneration / P. Gentile, V. Chiono, C. Tonda-Turo, A. M. Ferreira, G. Ciardelli // *Biotechnol. J.* – 2011. – Vol. 6. – P. 1187–1197.
240. Мембраны и мембранные технологии, 2013, / коллектив авторов. Отв. Редактор А.Б. Ярославцев. – М: Научный мир, 2013. – 612 с.
241. <https://www.aaopt.org/young-ophthalmologists/yo-info/article/ophthalmic-suturing-101> (дата обращения 25.03.2021).
242. Norman, S. Jaffe Polyethylene Terephthalate (Dacron®) in Intraocular Surgery / S. Jaffe Norman // *Ophthalmology*. – 1981. – Vol. 88. – № 9. – P. 955–958.
243. Peyman, G. A. Nyberg, M. Experimental evaluation of a posterior chamber lens fixated with Dacron / G. A. Peyman, M. Nyberg // *Ophthalmic Surg.* – 1979. – Vol. 10 (1). – P. 64–68.

244. Gu, R. Chen, X. Song, F. Intrusion of Dacron suture knot 15 years after scleral buckling / R. Gu, X. Chen, F. Song // BMC Ophthalmol. – 2018. – Vol. 18. – P. 327.
245. Apel, P. Yu. Didyk, A. Yu. Salina, A. G. Nucl. Instr. Meth. – 1996. – Vol. B.107. – P. 276.
246. Апель, П. Ю. Ширкова, В. В. Соболева, Т. И. Кузнецов, В. И. Шестанов, В. Д. Полипропиленовые ядерные мембраны – новый вид мембран для очистки и анализа агрессивных сред / П. Ю. Апель, В. В. Ширкова, Т. И. Соболева, В. И. Кузнецов, В. Д. Шестанов // Высокоочищенные вещества. – 1988. – № 2. – С. 1–7.
247. Апель, П. Ю. Березкин, А. А. Васильев, А. Б. Виленский, А. И. Кузнецов, В. И. Мchedlishvili, Б. В. Орелович, О. Л. Загорский, Д. Л. Структурно-селективные свойства ядерных фильтров на основе полипропилена / П. Ю. Апель, А. А. Березкин, А. Б. Васильев, А. И. Виленский, В. И. Кузнецов, Б. В. Мchedlishvili, О. Л. Орелович, Д. Л. Загорский // Коллоидный журнал. – 1992. – Т. 54. – С. 220–223.
248. [evraz-med.ru/каталог-продукции/хирургия/хирургические-шовные-материалы/polysorb%С2%AD-полисорб/](http://evraz-med.ru/каталог-продукции/хирургия/хирургические-шовные-материалы/polysorb%С2%AD-полисорб/) (дата обращения 25.04.2021)
249. Mohan, Madan Angra, S. K. Vicryl suture in ophthalmic surgery / Madan Mohan, S. K. Angra // Indian journal of ophthalmology. – 1979. – Vol. – 27. – № 3. – P. 24–28.
250. Spano, S. J. Dimock, B. They had me in stitches: a Grand Canyon river guide's case report and a review of wilderness wound management literature / S. J. Spano, B. Dimock // Wilderness Environ Med. – 2014. – Vol. 25 (2). – P. 182–189.
251. Lasprilla, A. J. R. Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices — A review / A. J. R. Lasprilla // Biotechnol. Adv. – 2012. – Vol. 30. – № 1. – P. 321–328.



252. Kulkarni, R. K. Polylactic Acid for Surgical Implants / R. K. Kulkarni // Arch. Surg. – 1966. – Vol. 93. – № 5. – P. 839.
253. Donald, Garlotta A Literature Review of Poly(Lactic Acid) / Garlotta Donald // Journal Polym. Environ. – 2002. – Vol. 9. – № 2. – P. 63–84.
254. Zhang, C. Biodegradable Polyesters: Synthesis, Properties, Applications / C. Zhang // Biodegrad. Polyesters. – 2015. – P. 1–24.
255. Şebnem, Düzye Effects of different sterilization methods on polyester surfaces / Düzyer Şebnem, Koral Koç Serpil, Hockenberger Aslı, Evke Elif, Kahveci Zeynep, Uğuz Agah // Tekstil ve Konfeksiyon. – 2013. – № 23 (4). – P. 319 – 324.
256. Taylor, T. L. Suture Material: A Comprehensive Review of the Literature / T. L. Taylor // Journal of American Podiatry Association. – 1975. – Vol. 65. – P. 1 – 12.
257. Rerat, Vincent Surface grafting on poly(ethylene terephthalate) track-etched microporous membrane by activation with trifluorotriazine: Application to the biofunctionalization with GRGDS peptide / Vincent Rerat, Vincent Pourcelle, Sabrina Devouge, Bernard Nysten, Jacqueline Marchand-Brynaert // Journal of Polymer Science. Part A, Polymer Chemistry. – 2010. – № 1. – Vol. 48. – P. 195 – 208.
258. Kannan, R. Y. In Fundamentals of Tissue Engineering and Regenerative Medicine / R. Y. Kannan, A.M. Scifalian // Springer-Verlag. – 2009. – P. 685 – 692.
259. Kang, X. Adipose tissue model using three-dimensional cultivation of preadipocytes seeded onto fibrous polymer scaffolds / X. Kang, Y. Xie, D. A. Kniss // Tissue Eng. – 2005. – № 1. – P. 458 – 468.
260. Chollet, C. The effect of RGD density on osteoblast and endothelial cell behaviour on RGD-grafted polyethylene terephthalate surfaces / C. Chollet, C. Chanseau, M. Remy, A. Guignandon, R. Bareille, C. Labruguère, L. Bordenave, M. C. Durrieu // Biomaterials. – 2009. – № 30. – P. 711 – 720.

261. Vunjak-Novakavic, G. Tissue engineering of ligaments / G. Vunjak-Novakavic, G. Altman, R. Horan, D.L. Kaplan // *Biomed Eng.* – 2004. – № 6. – P. 131 – 156.
262. Рязанцева, Т.В. Эксплантодренирование ядерной мембраной в хирургии некоторых форм вторичной глаукомы (клинико экспериментальное исследование): дис. ... канд. мед. наук: 14.01.07 / Рязанцева Татьяна Владимировна. – Самара, 1996. – 120 с.
263. Кнунянц, И. Л. Химическая энциклопедия: в 5 т. / Под ред. И. Л. Кнунянц, Н. С. Зефирова. – М.: Советская энциклопедия (тт. 1 – 2); Большая Российская энциклопедия (тт. 3 – 5). – 1988 – 1998.
264. Dae, Hoon Jeon The effects of irradiation on physicochemical characteristics of PET packaging film / Hoon Jeon Dae, Kwang Ho Lee, Hyun Jin Park // *Radiation physics and chemistry.* – 2004. – № 71. – P. 1059 – 1064.
265. Speight, J. G. Norbert Adolph Lange. Lange's handbook of chemistry / J. G. Speight. – McGraw-Hill. – 2005. – 1000 p.
266. Алакаева, З. Т. Получение стабилизированного полиэтилентерефталата и исследование его свойств / З. Т. Алакаева, М. А. Микитаев, М. М. Хупова, В. В. Козуб, А. Х. Цуров, С. Ю. Хаширова, Т. А. Борукаев // *Современные проблемы науки и образования.* – 2013. – № 3.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=9279> (дата обращения: 29.09.2016).
267. Табаев, Б. В. Особенности кристаллизации аморфного полиэтилентерефталата в твердой фазе в условиях механических деформаций / Б. В. Табаев, Р. Н. Хлесткин, Е. И. Масленников // *Башкирский химический журнал.* – 2010. – № 17 (4). – С. 29 – 31.
268. Lopes, M. S. Jardini, A. L. Maciel Filho, R. Poly (lactic acid) production for tissue engineering applications / M. S. Lopes, A. L. Jardini, R. Maciel Filho // *Procedia Engineering.* – 2012. – Vol. 42. – P. 1402-1413.

269. Iesavand, H. Rahmati, M. Afzali, D. Modir, S. Investigation on absorption and release of mercaptopurine anticancer drug from modified polylactic acid as polymer carrier by molecular dynamic simulation / H. Iesavand, M. Rahmati, D. Afzali, S. Modir // *Materials Science and Engineering*. – 2019. – Vol. 105. – P. 110010.
270. Sharma, A. K. Arya, A. Sahoo, P. K. Majumdar, D. K. Overview of biopolymers as carriers of antiphlogistic agents for treatment of diverse ocular inflammations / A. K. Sharma, A. Arya, P. K. Sahoo, D. K. Majumdar // *Materials Science and Engineering*. – 2016. – Vol. 67. – P. 779-791.
271. Pawar, P. R. Tekale, S. U. Shisodia, S. U. Totre, J. T. Domb, A. J. Biomedical Applications of Poly(Lactic Acid) / P. R. Pawar, S. U. Tekale, S. U. Shisodia, J. T. Totre, A. J. Domb // *Recent Patents on Regenerative Medicine*. – 2014. – Vol. 4(1). – P. 40-51.
272. Rankin, T. M. Giovinco, N. A. Cucher, D. J. Watts, G. Hurwitz, B. Armstrong, D. G. Three-D -dimensional printing surgical instruments: are we there yet / T. M. Rankin, N. A. Giovinco, D. J. Cucher, G. Watts, B. Hurwitz, D. G. Armstrong // *Journal of Surgical Research*. – 2014. – Vol. 189 (2). – P. 193-197.
273. George, M. Aroom, K. R. Hawes, H. G. Gill, B. S. Love, J. 3D printed surgical instruments: the design and fabrication process / M. George, K. R. Aroom, H. G. Hawes, B. S. Gill, J. Love // *World Journal of Surgery*. – 2017. – vol. 41 (1). – P. 314-319.
274. Kabirian, F. Ditkowski, B. Zamanian, A. Heying, R. Mozafari, M. An innovative approach towards 3D-printed scaffolds for the next generation of tissue-engineered vascular grafts / F. Kabirian, B. Ditkowski, A. Zamanian, R. Heying, M. Mozafari // *Materials Today: Proceedings*. – 2018. – Vol. 5 (7). – P. 15586-15594.
275. Sin, L. E. Polylactic Acid. PLA Biopolymer Technology and Applications / L. T. Sin, A. R. Rahmat, W. A. W. A. Rahman // Elsevier Inc. – 2012. – C. 1 - 149.

276. Shtilman, M. I. Biodegradation of Polymers / M. I. Shtilman // J. Sib. Fed. Univ. Biol. – 2015. – Vol. 8. – № 2. – P. 113–130.
277. Williams, D. F. Enzymic Hydrolysis of Polylactic Acid / D. F. Williams // Eng. Med. – 1981. – Vol. 10. – № 1. – P. 5–7.
278. Gu, J.-D. Microbiological Degradation of Polymeric Materials // Uhlig's Corrosion Handbook. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2011. P. 421–438.
279. Pan, J. Modelling Degradation of Bioresorbable Polymeric Medical Devices / J. Pan // 1st Edition, Woodhead Publishing. – 2015. – 260 p.
280. DeStefano, Vincent Khan, Salaar Tabada Alonzo Applications of PLA in modern medicine / Vincent DeStefano, Salaar Khan, Alonzo Tabada // Engineered Regeneration. – 2020. – Vol. 1. – P. 76-87.
281. Gardella, L. Calabrese, M. Monticelli, O. PLA maleation: an easy and effective method to modify the properties of PLA/PCL immiscible blends / L. Gardella, M. Calabrese, O. Monticelli // Colloid and Polymer Science. – 2014. – Vol. 292 (9). – P. 2391-2398.
282. Casalini, T. Rossi, F. Castrovinci, A. Perale, G. A perspective on polylactic acid-based polymers use for nanoparticles synthesis and applications / T. Casalini, F. Rossi, A. Castrovinci, G. Perale // Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. – 2018. – Vol. 7. – P. 259.
283. Burg, K. J. Holder, W. D. Culberson, C. R. et al. Parameters affecting cellular adhesion to polylactide films / K. J. Burg, W. D. Holder, C. R. Culberson // Journal of Biomaterials Science Polymer Edition. – 1999. – Vol. 10 (2). – P. 147-161.
284. Lee, Tin Sin Bee, Soo Tveen Polylactic Acid A Practical Guide for the Processing, Manufacturing, and Applications of PLA, William Andrew is an imprint of Elsevier. – 2019. – 408 p.

285. <http://www.corbion.com/biomedical/products/polymers-for-medical-devices> (дата обращения 22.05.2021).
286. [www.absorbables.com/biodegradation.htm](http://www.absorbables.com/biodegradation.htm). (дата обращения 14.04.2021).
287. Price, P. B. Walker, R. M. Molecular sieves and methods for producing same. US Patern 3303085 (1962).
288. Fleisher, R. L. Solid-State Track Detectors: Applications to Nuclear Science and Geophysics / R. L. Fleisher, P. B. Price, R.M. Walker // Rev. Sci. Instrum. – 1962. – V. 34. – P. 5 – 28.
289. Yong, D. A. // Nature. – 1958. – Vol. 182. – P. 375.
290. Флеров, Г. Н. // Вестник Академии наук СССР. – 1984. – № 4. – С. 35.
291. Spohr, R. Ion Tracks and Microtechnology / R. Spohr // Principles and Applications. Braunschweig. – 1990. – P. 269 – 272.
292. Апель, П. Ю. Кондуктометрические исследования структуры треков многозарядных ионов в различных полимерах / П. Ю. Апель // Химия высоких энергий. – 1991. – Т. 25. – С. 132.
293. Апель, П. Ю. Соболева, Т. И., Соловьев, А. И. Определение диаметра пор в ядерных фильтрах методом пузырька. Деп. публ. ОИЯИ Б1-18-88-857, ОИЯИ, Дубна, 1988, с. 1 – 1826.
294. Воробьева, И. В. Зайцев, Б. В. Кобец, А. Ф. Получение сквозных пор с диаметром  $\leq 50$  нм в полиэтилентерефталатных (ПЭТ) пленках, облученных ионами Ag / И. В. Воробьева, Б. В. Зайцев, А. Ф. Кобец // Вестник ХНУ. – 2011. – № 962. – С. 49 – 53.
295. Apel, P. Yu. Blonskaya, I. V. Dmitriev, S. N. Orelovitch, O. L. Sartowska, B. Structure of polycarbonate track-etch membranes: Origin of the “paradoxical” pore shape / P. Yu. Apel, I. V. Blonskaya, S. N. Dmitriev, O. L. Orelovitch, B. Sartowska // Journal of Membrane Science. – 2006. – Vol. 282. – P. 393 – 400.

296. Apel, P. Track etching technique in membrane technology / P. Apel // *Radiation Measurements*. – 2001. – Vol. 34. – № 1. – P. 559 – 566.
297. Кравец, Л. И. Дмитриев, С. Н. Апель, П. Ю. Полипропиленовые трековые мембраны для микро-и ультрафильтрации химически агрессивных сред / Л. И. Кравец, С. Н. Дмитриев, П. Ю. Апель // *Высокомолекулярные соединения*. – 2000. – С. 1 – 34.
298. Ferain, E. Legras, R. Track-etch templates designed for micro-and nanofabrication. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research* / E. Ferain, R. Legras // *Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. – 2003. – Vol. 208. – P. 115 – 122.
299. Ryan, M. Pedrigi; C. R. Ethier; W. D. Stamer, Darryl R. Overby Pores form in cultured schlemms canal endothelial cells *Cells During Transendothelial Perfusion* / M. Ryan, C. R. Pedrigi; W. D. Ethier; Darryl R. Stamer // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. – 2011. – Vol. 52. – P. 6265.
300. Darryl, R. Overby. Enhua, H. Zhou, Rocio Vargas-Pinto, Ryan, M. Pedrigi, Rudolf Fuchshofer. Sietse, T. Braakman, Ritika Gupta, Kristin M. Perkumas, Joseph M. Sherwood, Amir Vahabikashi, Quynh Dang, Jae Hun Kim, C. Ross Ethier, W. Daniel Stamer, Jeffrey J. Fredberg, Mark Johnsonc *Altered mechanobiology of Schlemm's canal endothelial cells in glaucoma* / Darryl, R. Overby. Enhua, H. Zhou, Rocio Vargas-Pinto, Ryan, M. Pedrigi, Rudolf Fuchshofer. Sietse, T. Braakman, Ritika Gupta, Kristin M. Perkumas, Joseph M. Sherwood, Amir Vahabikashi, Quynh Dang, Jae Hun Kim, C. Ross Ethier, W. Daniel Stamer, Jeffrey J. Fredberg, Mark Johnsonc // *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* – 2014. – Vol. 111 (38). – P. 13876–13881.
301. Sietse, T. Braakman, Ryan M. Pedrigi, A. Thomas Read, James A. E. Smith, W. Daniel Stamer, C. Ross Ethier, Darryl R. Overby *Biomechanical Strain as a Trigger for Pore Formation in Schlemm's Canal Endothelial Cells* / T. Sietse, Ryan

- M. Braakman, A. Pedrighi, Read Thomas, A. E. Smith, W. Daniel James, C. Ross Stamer, Darryl R. Overby Ethier // *Exp Eye Res.* – 2014. – Vol. 127. – P. 224–235.
302. Khorasani, M. T. Mirzadeh, H. Irani, S. Plasma surface modification of poly (L-lactic acid) and poly (lactic-co-glycolic acid) films for improvement of nerve cells adhesion / M. T. Khorasani, H. Mirzadeh, S. Irani // *Radiation Physics and Chemistry.* – 2008. – Vol. 77. – № 3. – P. 280 – 287.
303. Zhao, Y. Fina, A. Venturello, A. Geobaldo, F. Effects of gas atmospheres on poly (lactic acid) film in acrylic acid plasma treatment / Y. Zhao, A. Fina, A. Venturello, F. Geobaldo // *Applied surface science.* – 2013. – Vol. 283. – P. 181 – 187.
304. Lazea, A. Kravets, L. I. Albu, B. Ghica, C. Dinescu, G. Modification of polyester track membranes by plasma treatments / A. Lazea, L. I. Kravets, B. Albu, C. Ghica, G. Dinescu // *Surface and Coatings Technology.* – 2005. – Vol. 200. – № 1-4. – P. 529 – 533.
305. Ryazantseva, T. V. Plasma nanostructuring of the surface layer in track membranes for producing a highly efficacious biocompatible explantodrainage for the surgical management of refractory glaucoma / T. V. Ryazantseva, L. I. Kravets, V. M. Elinson // *Inorganic Materials: Applied Research.* – 2012. – № 5. – Т. 3. – С. 408 – 416.
306. Dmitriev, Sergue N. Water permeability of poly(ethylene) terephthalate track membranes modified in plasma / Serguei N. Dmitriev, Lyubov I. Kravets, Vladimir V. Sleptsov, Vera M. Elinson // *Desalination.* – 2002. – № 146. – P. 279 – 286.
307. Фортова, В. Е. Энциклопедия низкотемпературной плазмы. Вводный том IV / Под ред. В.Е. Фортова. – М.: Наука, – 2000. – 386 с.
308. Kravets, L. I. Modification of properties of polymer membranes by low-temperature plasma treatment / L. I. Kravets, S. N. Dmitriev, A. B. Gilman // *High Energy Chemistry.* – 2009. – Т. 43. – № 3. – С. 181 – 188.

309. Кравец, Л. И. Исследование поверхностных и электрохимических свойств полипропиленовой трековой мембраны модифицированной в плазме неполимеризующихся газов / Л. И. Кравец, А. Б. Гильман, М. Ю. Яблоков // Препринт Объединенного института ядерных исследований. – Дубна. – 2012. – С. 1 – 21.
310. Yu, H.-Y. Surface modification of poly(propylene) microporous membrane to improve its antifouling characteristics in an SMBR: O<sub>2</sub> plasma treatment / H.-Y. Yu, X.-Ch. He, L.-Q. Liu, J.-Sh. Gu, X.-W. Wei // Plasma Process. and Polym. – 2008. – V. 5. – № 1. – P. 84 – 91.
311. Zhou, J. Surface modification of polypropylene membrane to improve antifouling characteristics in a submerged membrane-bioreactor: Ar plasma treatment / J. Zhou, W. Li, J.-Sh. Gu, H.-Y. Yu // Membrane Water Treatment. – 2010. – V. 1. – № 1. – P. 83 – 92.
312. Slepicka, P. Argon plasma irradiation of polypropylene / P. Slepicka, A. Vasina, Z. Kolska // Nucl. Instrum. and Meth. D. – 2010. – V. 268. – № 11 – 12. – P. 2111 – 2114.
313. Головятинский, С. А. Модификация поверхности полимеров импульсной плазмой атмосферного давления / С. А. Головятинский // Вестник Харьковского университета. – 2004. – № 62. – С. 80 – 86.
314. Акишев, Ю. С. Экспериментальные и теоретические исследования воздействия неравновесной низкотемпературной плазмы атмосферного давления на поверхность полимерных пленок / Ю. С. Акишев, М. Е. Грушин, Н. А. Дятко, В. Б. Караульник, И. В. Кочетов // 5-й Международный симпозиум по теоретической и прикладной плазмохимии: материалы симпозиума. – Иваново. 2008 – С. 360 – 363.



315. Провоторова, Д. А. Модификация непредельных каучуков в низкотемпературной плазме с целью улучшения их адгезионных свойств / Д. А. Провоторова // Клеи. Герметики. Технологии. – 2013. – № 9. – С. 7 – 9.
316. Dowling, D. P. Atmospheric Pressure Plasma Treatment of Amorphous Polyethylene Terephthalate for Enhanced Heatsealing Properties / D. P. Dowling, J. Tynan, P. Ward, A. M. Hynes, J. Cullen // International Journal of Adhesion and Adhesives. – 2013. – Vol. 35. – P. 1 – 8.
317. Durán I. R., Vanslambrouck S., Chevallier P., Hoesli C. A., Laroche G. Atmospheric pressure cold plasma versus wet-chemical surface treatments for carboxyl functionalization of polylactic acid: A first step toward covalent immobilization of bioactive molecules // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2020. – T.189. – C. 110847.
318. Jordá-Vilaplana A., Fombuena V., García-García D., Samper M.D., Sánchez-Nácher L. Surface modification of polylactic acid (PLA) by air atmospheric plasma treatment // European Polymer Journal. – 2014. – T. 58. – C.23-33.
319. Moraczewski, K. Stability studies of plasma modification effects of polylactide and polycaprolactone surface layers / K. Moraczewski // Applied Surface Science. – 2016. – Vol. 377. – P. 228-237.
320. Wiącek, A. E. Effect of low-temperature plasma on chitosan-coated PEEK polymer characteristics / A. E. Wiącek // European Polymer Journal. – 2016. – Vol. 78. – P. 1-13.
321. Navaneetha, K. V. Pandiyaraj, R. Selvarajan Adhesive properties of polypropylene (PP) and polyethylene-terephthalate (PET) film surfaces treated by DC glow discharge plasma / K. V. Navaneetha, R. Pandiyaraj, Selvarajan // Vacuum 83. – 2009. – P. 332 – 339.

322. Aflori, M. Drobota, M. Combined treatments for the improving of the PET surfaces hydrophilicity / M. Aflori, M. Drobota // Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures. – 2015. – Vol. 10. – № 2. – P. 587 – 593.
323. McKayla, J. Nicol Timothy, R. Brubaker Brian, J. Honish Antibacterial effects of low-temperature plasma generated by atmospheric-pressure plasma jet are mediated by reactive oxygen species / J. Nicol McKayla, R. Brubaker Timothy, J. Honish Brian // Scientific Reports. – 2020. – Vol. 10.
324. Weltmann, K.-D. von Woedtke, T. Plasma medicine—current state of research and medical application / K.-D. Weltmann, T. von Woedtke // Plasma Phys. Control. Fusion. – 2017. – Vol. 59. – P. 014031.
325. Attri, P. Park, J. H. Ali, A. Choi, E. H. How Does Plasma Activated Media Treatment Differ From Direct Cold Plasma Treatment? / P. Attri, J. H. Park, A. Ali, E. H. Choi // Anticancer. Agents Med. Chem. – 20180. – Vol. 18. – P. 805–814.
326. Shen, J. Bactericidal Effects against *S. aureus* and Physicochemical Properties of Plasma Activated Water stored at different temperatures / J. Shen // Sci. Rep. – 2016. – Vol. 6. – P. 28505.
327. Kamgang-Youbi, G. Microbial inactivation using plasma-activated water obtained by gliding electric discharges / G. Kamgang-Youbi // Lett. Appl. Microbiol. – 2009. – Vol. 48. – P. 13–18.
328. Lee, K. Paek, K. Ju, W.-T. Lee, Y. Sterilization of Bacteria, Yeast, and Bacterial Endospores by Atmospheric-Pressure Cold Plasma using Helium and Oxygen / K. Lee, K. Paek, W.-T. Ju, Y. Lee // J. Microbiol. – 2006. – Vol. 44. – P. 269–275.
329. Han, L. Patil, S. Keener, K. M. Cullen, P. J. Bourke, P. Bacterial inactivation by High Voltage Atmospheric Cold Plasma: Influence of process parameters and effects on cell leakage and DNA / L. Han, S. Patil, K. M. Keener, P. J. Cullen, P. Bourke // J. Appl. Microbiol. – 2014. – Vol. 116. – P. 784–794.

330. Bourke, P. Ziuzina, D. Han, L. Cullen, P. J. Gilmore, B. F. Microbiological interactions with cold plasma / P. Bourke, D. Ziuzina, L. Han, P. J. Cullen, B. F. Gilmore // *J. Appl. Microbiol.* – 2017. – Vol. 123. – P. 308–324.
331. Jacobs, T. Declercq, H. De Geyter, N. Cornelissen, R. Dubruel, P. Leys, C. Beaurain, A. Payen, E. Morent, R. Plasma surface modification of polylactic acid to promote interaction with fibroblasts / Jacobs, T. Declercq, H. De Geyter, N. Cornelissen, R. Dubruel, P. Leys, C. Beaurain, A. Payen, E. Morent, R. // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2013. – Vol. 24. – P. 469–478.
332. Alonso, J. G. Dalmolin, C. Nahorny, J. Recco, A. A. C. Fontana, L. C. Becker, D. Active screen plasma system applied to polymer surface modification: Poly(lactic acid) surface activation before polyaniline graft polymerization in aqueous medium / Alonso, J. G. Dalmolin, C. Nahorny, J. Recco, A. A. C. Fontana, L. C. Becker, D. // *J. Polym. Eng.* – 2018. – Vol. 38. – P. 795–802.
333. Chaiwong, C. Rachtanapun, P. Wongchaiya, P. Auras, R. Boonyawan, D. Effect of plasma treatment on hydrophobicity and barrier property of polylactic acid / C. Chaiwong, P. Rachtanapun, P. Wongchaiya, R. Auras, D. Boonyawan // *Surf. Coatings Technol.* – 2010. – Vol. 204. – P. 2933–2939.
334. Inagaki, N. Narushima, K. Tsutsui, Y. Ohyama, Y. Surface modification and degradation of poly(lactic acid) films by Ar-plasma / N. Inagaki, K. Narushima, Y. Tsutsui, Y. Ohyama // *J. Adhes. Sci. Technol.* – 2002. – Vol. 16. – P. 1041–1054.
335. Alonso, J. G. Dalmolin, C. Nahorny, J. Recco, A. A. C. Fontana, L. C. Becker, D. Active screen plasma system applied to polymer surface modification: Poly(lactic acid) surface activation before polyaniline graft polymerization in aqueous medium / J. G. Alonso, C. Dalmolin, J. Nahorny, A. A. C. Recco, L. C. Fontana, D. Becker // *J. Polym. Eng.* – 2018. – Vol. 38. – P. 795–802.
336. Chaiwong, C. Rachtanapun, P. Wongchaiya, P. Auras, R. Boonyawan, D. 2010. Effect of plasma treatment on hydrophobicity and barrier property of

polylactic acid / C. Chaiwong, P. Rachtanapun, P. Wongchaiya, R. Auras, D. Boonyawan // *Surf. Coatings Technol.* – 2010. – Vol. 204. – P. 2933–2939.

337. Hergelová, B. Zahoranová, A. Kováčik, D. Černák, M. N. D. Plasma Assisted Activation of Polylactic Acid Surface / B. Hergelová, A. Zahoranová, D. Kováčik, M. N. D. Černák // in: *Proceedings of the 22nd Annual Conference of Doctoral Students – WDS.* – 2013. – Part III. – P. 149–154.;

338. Hu, S. Li, P. Wei, Z. Wang, J. Wang, H. Wang, Z. Antimicrobial activity of nisin-coated polylactic acid film facilitated by cold plasma treatment / S. Hu, P. Li, Z. Wei, J. Wang, H. Wang, Z. Wang // *J. Appl. Polym. Sci.* – 2018. – Vol. 135.

339. Inagaki, N. Narushima, K. Tsutsui, Y. Ohyama, Y. Surface modification and degradation of poly(lactic acid) films by Ar-plasma / N. Inagaki, K. Narushima, Y. Tsutsui, Y. Ohyama // *J. Adhes. Sci. Technol.* – 2002. – Vol. 16. – P. 1041–1054.

340. Jacobs, T. Declercq, H. De Geyter, N. Cornelissen, R. Dubruel, P. Leys, C. Beaurain, A. Payen, E. Morent, R. Plasma surface modification of polylactic acid to promote interaction with fibroblasts / T. Jacobs, H. Declercq, N. De Geyter, R. Cornelissen, P. Dubruel, C. Leys, A. Beaurain, E. Payen, R. Morent // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2013. – Vol. 24. – P. 469–478.

341. Jordá-Vilaplana, A. Sánchez-Nácher, L. García-Sanoguera, D. Carbonell, A. Ferri, J. M. Effects of aging on the adhesive properties of poly(lactic acid) by atmospheric air plasma treatment / A. Jordá-Vilaplana, L. Sánchez-Nácher, D. García-Sanoguera, A. Carbonell, J. M. Ferri // *Journal of Applied Polymer Science.* – 2016. – Vol. 133 (11). – P. 43040.

342. Savaris, M. Braga, G. L. Dos Santos, V. Carvalho, G. A. Falavigna, A. MacHado, D. C. Viezzer, C. Brandalise, R. N. Biocompatibility Assessment of Poly(lactic acid) Films after Sterilization with Ethylene Oxide in Histological Study in Vivo with Wistar Rats and Cellular Adhesion of Fibroblasts in Vitro / M. Savaris,

G. L. Braga, V. Dos Santos, G. A. Carvalho, A. Falavigna, D. C. MacHado, C. Viezzer, R. N. Brandalise // *Int. J. Polym. Sci.* – 2017.

343. Valente, T. A. M. Silva, D. M. Gomes, P. S. Fernandes, M. H. Santos, J. D. Sencadas, V. 2016. Effect of sterilization methods on electrospun poly(lactic acid) (PLA) fiber alignment for biomedical applications / T. A. M. Valente, D. M. Silva, P. S. Gomes, M. H. Fernandes, J. D. Santos, V. Sencadas // *ACS Appl. Mater. Interfaces.* – 2016.

344. Wardman, R. H. Abdrabbo, A. E Effect of plasma treatment on the spreading of micro drops through polylactic acid (PLA) and polyester (PET) fabrics / // *Autex Research Journal.* – 2010. – Vol. 10. – P. 1–7.

345. Rutala, W. A. Weber, D. J. Disinfection and sterilization in health care facilities: what clinicians need to know / W. A. Rutala, D. J. Weber // *Clinical Infectious Diseases.* – 2004. – Vol. 39 (5). – P. 702–709.

346. Mushtaq, M. Banks, C. J. Heaven, S. (May 2012) Effectiveness of pressurised carbon dioxide for inactivation of *Escherichia coli* isolated from sewage sludge / M. Mushtaq, C. J. Banks, S. Heaven // *Water Science and Technology.* – 2012. – Vol. 65 (10). – P. 1759–1764.

347. McDonnell, G. Burke, P. The challenge of prion decontamination / G. McDonnell, P. Burke // *Clinical Infectious Diseases.* – 2003. – Vol. 36 (9). – P. 1152–1154.

348. Thomadsen, B. Nath, R. Bateman, F. B. Farr, J. Glisson, C. Islam, M. K. Potential hazard due to induced radioactivity secondary to radiotherapy: the report of task group 136 of the American Association of Physicists in Medicine / B. Thomadsen, R. Nath, F. B. Bateman, J. Farr, C. Glisson, M. K. Islam // *Health Physics.* – 2014. – Vol. 107 (5). – P. 442–460.

349. Bharati, S. Soundrapandian, C. Basu, D. Datta, S. Studies on a novel bioactive glass and composite coating with hydroxyapatite on titanium based alloys: Effect of

$\gamma$ -sterilization on coating / S. Bharati, C. Soundrapandian, D. Basu, S. Datta // J. Eur. Ceram. Soc. – 2009. – Vol. 29 (12). – P. 2527–2535.

350. Pirker, L. Krajnc, A. P. Malec, J. Radulović, V. Gradišek, A. Jelen, A. Sterilization of polypropylene membranes of facepiece respirators by ionizing radiation / L. Pirker, A. P. Krajnc, J. Malec, V. Radulović, A. Gradišek, A. Jelen // Journal of Membrane Science. – 2021. – Vol. 619. – P. 118753. 118756.

351. Onyango, L. A. Dunstan, R. H. Roberts, T. K. (May 2010). Filterability of staphylococcal species through membrane filters following application of stressors / L. A. Onyango, R. H. Dunstan, T. K. Roberts // BMC Research Notes. – 2010. – Vol. 3. – P. 152.

352. Steam Sterilization for Medical Devices - ISO 17665 - Sterilization Validation Services.

353. Kanemitsu, K. Imasaka, T. Ishikawa, S. Kunishima, H. Harigae, H. Ueno, K. (May 2005). A comparative study of ethylene oxide gas, hydrogen peroxide gas plasma, and low-temperature steam formaldehyde sterilization / K. Kanemitsu, T. Imasaka, S. Ishikawa, H. Kunishima, H. Harigae, K. Ueno // Infection Control and Hospital Epidemiology. – 2005. – Vol. 26 (5). – P. 486–489.

354. ГОСТ Р ИСО 11137–2000 Effect of sterilization methods on electrospun. Требования к валидации и текущему контролю. Радиационная стерилизация.

355. Остроухова, А. А. Обоснование и оценка эффективности применения плазменной стерилизации в стоматологической клинике: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.21 / Остроухова Алла Александровна – М., 2005. – 180 с.

356. Арутюнов, С. Д. Современные технологии стерилизующего воздействия физических и химических сред в стоматологической практике: Руководство / С. Д. Арутюнов, В.Н. Царёв, А.А. Остроухова. – М.: Изд-во МИА, – 2003. – 230 с.

357. Ищенко, П. В. Современные технологии стерилизующего воздействия физических и химических сред в стоматологической практике / П. В. Ищенко, А.А. Вильчик // Стоматолог-практик. 2016. – № 2. – С. 66 – 70.
358. Остроухова, А. А. Дезинфекция и стерилизация в стоматологии / А. А. Остроухова // Всероссийская конференция по профилактике, диагностике и лечению стоматологических заболеваний: материалы конференции. – Москва, 2003. – С. 34 – 36.
359. Апель, П. Ю. Радиационно-химическая модификация полиэтилентерефталатных пленок при облучении ускоренными тяжелыми ионами и разработка ультрафильтрационных мембран: дис. ...канд. хим. наук: 02.00.09 / Апель Павел Юрьевич. – Дубна, 1985.
360. Апель, П. Ю. Изучение процессов травления следов тяжелых заряженных частиц кондуктометрическим методом / П. Ю. Апель, С. П. Третьякова // Приборы и техника эксперимента. – 1980. – № 3. – С. 58 – 61.
361. Apel, P. Yu. Measurements of the diameter of selectively etchable tracks produced in polymer by heavy ions / P. Yu. Apel // Nuclear Tracks and Radiation Measurements. – 1982. – Т. 6. – № 2 – 3. – P. 115 – 118.
362. Флеров, Г. Н. Использование ускорителей тяжелых ионов для изготовления ядерных мембран/ Г. Н. Флеров, П. Ю. Апель, А. Ю. Дидык, В. И. Кузнецов, Р. Ц. Оганесян // Атомная энергия. – 1989. – Т. 67. – № 4. – С. 274.
363. Нечаев, А. Н. Асимметричные трековые мембраны / А. Н. Нечаев, В. В. Березкин, А. И. Виленский, Г. С. Жданов, Л. Г. Карпухина, М. Ф. Кудояров, А. М. Митерев, Н. В. Митрофанова, В. А. Пронин, Т. В. Цыганова, Б. В. Мчедлишвили // Мембраны. – 2000. – № 6. – С. 17.
364. Забаев В. Н. Применение ускорителей в науке и промышленности //Томск: Изд-во ТПУ. – 2008. – С. 165-175

365. Алейник, А. Н. Плазменная медицина: Учебное пособие / А. Н. Алейник, Томск: ТПУ. – 2011. – 40 с.
366. Виноградова, О. И. Применение неравновесной плазмы в медицине и биологии / О. И. Виноградова, С. Ю. Телицкий, Е. В. Щукина, А. Н. Алейник // Научная сессия Московского инженерно-физического института. – 2009. – С. 128.
367. Апель, П. Ю. Соболева, Т. И. Соловьев, А. И. Определение диаметра пор в ядерных фильтрах методом пузырька / П. Ю. Апель, Т. И. Соболева, А. И. Соловьев // Деп. публ. ОИЯИ Б1-18-88-857. – 1988. – С. 1 – 1826.
368. Geismann, Ch. Permeability and electrikinetic characterization of PET capillary pore membrane with grafted temperature-responsive polymers / Ch. Geismann, Andriy Yaroshchuk, M. Ulbricht // *Langmuir*. – 2006. – P. 76 – 83.
369. Чердынцев, В. В. Термическая устойчивость полимерных нанокомпозитов на основе сверхвысокомолекулярного полиэтилена и полисульфона / В. В. Чердынцев, А. А. Бойков // *Науковедение*. – 2013. – № 4. – С.1 – 8.
370. Kodal M., Wis A. A., Ozkoc G. The mechanical, thermal and morphological properties of  $\gamma$ -irradiated PLA/TAIC and PLA/OvPOSS // *Radiation Physics and Chemistry*. – 2018. – Т. 153. – С. 214-225.
371. Рабек, Я. Экспериментальные методы в химии полимеров: В 2-х частях / Я. Рабек. – М.: Мир, 1983. – 480 с.
372. Blanco-Pascual N., Fernández-Martín F., Montero M. P. Effect of different protein extracts from *Dosidicus gigas* muscle co-products on edible films development // *Food Hydrocolloids*. – 2013. – Т. 33. – №. 1. – С. 118-131.
373. Carre, A. Polar interactions at liquid/polymer interfaces / A. Carre // *Adhesion Sci. Technol.* – 2007. – Vol. 21. – № 10. – P. 961 – 981.



374. Кузнецов, В. Д. Поверхностная энергия твердых тел / В. Д. Кузнецов. – М.: Государственное издательство технико-теоретической литературы, 1954. – 220 с.
375. Barbara, H. S. Infrared spectroscopy: Fundamentals and Application / H. S. Barbara. – Pr.: Wiley. – 2004. – 244 p.
376. Larkin, P. J. Infrared and Raman spectroscopy. Principles and spectral interpretation / P. J. Larkin. – Pr.: Elsevier. – 2011. – 230 p.
377. Liang, C. Y. Infrared spectra of high polymers: Part IX. Polyethylene terephthalate / C. Y. Liang, S. Krimm // J. of Molec. Spectr. – 1959. – № 3. – P. 554 – 574.
378. Shiv, G. P. Structural and Optical Investigations of Radiation Damage in Transparent PET Polymer Films / G. P. Shiv, D. Abhijit, D. Udayan // International Journal of Spectroscopy. – 2011. – P. 1 – 7.
379. Тарасевич, Б. Н. ИК–спектры основных классов органических соединений. Справочные материалы / Б.Н. Тарасевич. – М.: Химический факультет МГУ. – 2012. – 54 с.
380. Kasálková N. S. et al. Biocompatibility of plasma nanostructured biopolymers // Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms. – 2013. – Т. 307. – С. 642-646.
381. Аникина, Л. В. Сравнительное определение жизнеспособности клеток с помощью МТТ и ресазурина / Л. В. Аникина, С. А. Пухов, Е. С. Дубровская, С. В. Афанасьева, С. Г. Клочков // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 12 – 7. – С. 1423 – 1427.
382. Cory, A. H. Use of an aqueous soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth assays in culture / A. H. Cory, T. C. Owen, J. A. Barltrop, J. G. Cory // Cancer communications. – 1991. – № 3 (7). – P. 207 – 212.

383. Berridge, M. V. Characterisation of the cellular reduction of 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT): Subcellular localization, substrate dependence, and involvement of mitochondrial electron transport in MTT reduction / M. V. Berridge, A. S. Tan // Archives Biochem Biophys. – 1993. – P. 474 – 482.
384. O. G. Bondarenko, G. K. Popov Effect of low-intensity laser radiation on peripheral blood eosinophils // Bulletin of Experimental Biology and Medicine volume 138, pages510–512(2004)
385. Гайдышев, И. Анализ и обработка данных. Специальный справочник / И. Гайдышев. – СПб: Питер, 2001. – 753 с.
386. Куприенко, Н. В. Статистические методы изучения связей. Корреляционно-регрессионный анализ / Н. В. Куприенко, О. А. Пономарева, Д. В. Тихонов. – СПб: Изд политехнического ун-та, 2008. – 118 с.
387. Громыко, Г. Л. Теория статистики: учебник / Под ред. проф. Г. Л. Громыко. – М.: ИНФА-М, 2006. – 476 с.
388. Гублер, Е. В. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследований / Е. В. Гублер, А. А. Генкин, СПб: Медицина, 1973. – 144 с.
389. Молчанов, В. М. Статистические методы обработки результатов измерений / В. М. Молчанов. – СПб: Изд. политехнического ун-та, 2008. – 51 с.
390. Kwang-Hyuk, Ch. Effect of Ar Ion Beam Pre-Treatment of Poly(ethylene terephthalate) Substrate on the Mechanical and Electrical Stability of Flexible InSnO Films Grown by Roll-to-Roll Sputtering System / Ch. Kwang-Hyuk, K. Han-Ki // Japanese Journal of Applied Physics. – 2013. – Vol. 52. – P. 45 – 49

391. Кравец, Л. И. Модификация свойств полимерных мембран под воздействием низкотемпературной плазмы / Л. И. Кравец, А. Б. Гильман, С. Н. Дмитриев // Химия высоких энергий. – 2009. – Т. 43. – № 3. – С. 227 – 234.
392. Рязанцева, Т. В. Плазменное наноструктурирование поверхности трековых мембран для хирургического лечения рефрактерной глаукомы / Т. В. Рязанцева, Л. И. Кравец // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Физика. – 2011. – Т. 11. – № 1. – С. 59 – 66.
393. Chiper, A. Correlation between surface modifications induced on PET/TiO<sub>2</sub> sample by DBD plasma produced in He/N<sub>2</sub> gas mixture and plasma parameters / A. Chiper, N. Apetroaiei, G. Popa // Optoelectron. Adv. Mater. – 2005. – № 7 (5). – P. 2561 – 2570.
394. Попов, В. П. Общий курс полиграфии / В. П. Попов. – Изд. 3-е, Ленинград: Гизлег-пром. – 1947. – 472 с.
395. Takashira, K. Surface modification of polyethylen-terephthalat (PET) by 172-nm eximer lamp / K. Takashira, Sh. Shuichi, M. Jun // Transaction of the Japan Institute of Electronics Packaging. – 2012. – Vol 5. – № 1. – P. 47 – 54.
396. Jeon, D. H. The effects of irradiation on physicochemical characteristics of PET packaging film / D. H. Jeon, Kwang Ho Lee, Hyun Jin Park // Radiation Physics and Chemistry. – 2004. – № 6. – Vol. 71. – P. 1059 – 1064.
397. Мамонтов, А. П. Эффект малых доз ионизирующего излучения / А. П. Мамонтов, И. П. Чернов. – Т.: Дельтаплан, 2009. – 288 с.
398. Prabha, D. Nair Morphological changes of poly(ethylene terephthalate) on multiple Steam sterilization / D. Prabha // Clinical Materials. – 1990. – № 5. – P. 43 – 46.
399. Briggs, D. Rance, D. G. Kendall, C. R. Blythe A. R. Surface modification of poly(ethylene terephthalate) by electrical discharge treatment / D. Briggs, D. G. Rance, C. R. Kendall, A. R. Blythe // Polymer. – 1980. – Vol. 21. – № 8. P. 895-900

400. Богомолов, В. Ю. Диффузионная проницаемость полимерных мембран в водных растворах белофора ОЦД / В. Ю. Богомолов, С. А. Вязовов, С. И. Лазарев // Вестник ТГУ. – 2012. – Т. 17. – Вып. 2. – С. 688 – 690.
401. Geismann, Ch. Permeability and Electrokinetic Characterization of Poly(ethyleneterephthalate) Capillary Pore Membranes with Grafted Temperature-Responsive Polymers / Ch. Geismann, A. Yaroshchuk, M. Ulbricht // Langmuir. – 2007. – Vol. 23. – №. 1. – P. 76 – 83.
402. Karz, M. Wydeven, T. // J. Appl. Polym. Sci. – 1981. – V. 26. – № 9. – P. 2935.
403. Yaghoubi, N. Gamma and electron beam radiation induced physico-chemical modifications of polypropylene / N. Yaghoubi, R. Peron, B. Legendre, J.L. Grossiord, D. Ferrier // Nuclear Instruments and Methods in Physics Research. – 1999. – P. 247–254.
404. Maryam, Mizania Effect of gamma irradiation on physico-mechanical properties of spice packaging films / Mizania Maryam, Nasrin Sheikhb, Samad N. Ebrahimi, Abas Geramid, Farnaz A. Tavakoli // Radiation Physics and Chemistry. – 2009. – № 78. – P. 806 – 809.
405. Shiv, Govind Prasad Structural and Optical Investigations of Radiation Damage in Transparent PET Polymer Films / Shiv Govind Prasad, Abhijit De , Udayan De // International Journal of Spectroscopy. – 2011. – P. 1 – 7.
406. Zhu, Z. Modification of polyethylene terephthalate under high-energy heavy ion irradiation / Z. Zhu, C. Liu, Y. Sun // Nuclear Instruments and Methods in Physics Research. – 2002. – Vol. 191. – № 1 – 4. – P. 723 – 727.
407. Stojanovic, Z. Crystallinity changes and melting behaviour of the uniaxially oriented iPP exposed to high dose of gamma radiation / Z. Stojanovic, Z. Kac̆arevic̆-Popovic̆, S. Galovic̆, D. Milic̆evic̆, E. Suljovrujic̆ // Polymer Degradation and Stability. – 2005. – № 87. – P. 279 – 286.

408. Buchalla, R. Effect of ionizing radiation on plastic food packaging materials: a review. Part 1. Chemical and physical changes / R. Buchalla, C. Schuttler, K.W. Vogl // *Journal of Food Protection*. – 1993. – № 56. – P. 991 – 997.
409. Серова, В. Н. Полимерные оптические материалы. СПб.: Научные основы и технологии, 2011. 284 с.
410. Ван Кревелен, Д. В. Свойства и химическое строение полимеров. М: Химия, 1976. 416 с.
411. Брус, В. В. Ковалюк, З. Д. Марьянчук, П. Д. Оптические свойства тонких пленок  $TiO_2-MnO_2$ , изготовленных по методу электронно-лучевого испарения / В. В. Брус, З. Д. Ковалюк, П. Д. Марьянчук // *Журнал технической физики*. – 2012. – Т. 82. – Вып. 8. – С. 110 – 113.
412. Брус, В. В. Солован, М. Н. Майструк, Э. В. Козьярский, И. П. Особенности оптических и электрических свойств поликристаллических пленок CdTe, изготовленных методом термического испарения / В. В. Брус, М. Н. Солован, Э. В. Майструк, И. П. Козьярский // *Физика твердого тела*. – 2014. – Т. 56. – Вып. 10. – С. 1886 – 1890.
413. Зуев, Б. М. Утэй, Б. И. Чистяков, Е. В. Влияние химического строения аморфных полимеров на их показатель преломления / Б. М. Зуев, Б. И. Утэй, Е. В. Чистяков // *Высокомолекулярные соединения*. – 1980. – Т. 22. – № 7. – С. 1523 – 1528.
414. Odian, George *Principles of Polymerization*. New York: John Wiley & Sons, 1991. 839 p.
415. Сперантская, Т. А. Тарупина, Л. И. Оптические свойства полимеров. Л: Химия, 1976. 136 с.
416. Митрофанов, А. В. Карбань, О. В. Сугоняко, А. Любомска, М. Исследование поверхности пленок из полиэтилентерефталата, модифицированных вакуумно-ультрафиолетовым облучением на воздухе / А.

- В. Митрофанов, О. В. Карбань, А. Сугоняко, М. Любомска // Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования. – 2009. – №7. – С. 30–38.
417. Aleinik, A. N. Application of Cold Atmospheric Pressure Plasmas for Biological Tissue Treatment / A. N. Aleinik, A. N. Baykov // *Advanced materials research*. – 2015. – Vol. 1084. – P. 602 – 605.
418. Елистратов, А. А. Генерация импульсных объемных разрядов в воздушной среде атмосферного давления для целей стерилизации и обеззараживания: автореф. дис. ... канд. тех. наук: 01.04.13 / Елистратов Евгений Андреевич – М., 2012. – 12 с.
419. Алейник, А. Н. Особенности взаимодействия неравновесной плазмы с живыми тканями / А.Н. Алейник, А.Н. Байков, Г.Ц. Дамбаев // *Вестник науки Сибири*. – 2012. – № 3. – С. 44 – 48.
420. Moisan, M. Barbeau, J. Crevier, M. C. Pelletier, J. Philip, N. Plasma sterilization: Methods and mechanisms / M. Moisan, J. Barbeau, M. C. Crevier, J. Pelletier, N. Philip // *Pure Appl Chem*. – 2002. – Vol. 74. – P. 349-358.
421. Takeshita, K. Shibato, J. Sameshima, T. Fukunaga, S. Isobe, S. Damage of yeast cells induced by pulsed light irradiation / K. Takeshita, J. Shibato, T. Sameshima, S. Fukunaga, S. Isobe // *Int J Food Microbiol*. – 2003. – Vol. 85. – P. 151-158.
422. Goree, J. Liu, B. Drake, D. Stoffels, E. Killing of Smutans bacteria using a plasma needle at atmospheric pressure / J. Goree, B. Liu, D. Drake, E. Stoffels // *IEEE Trans Plasma Sci*. – 2006. – Vol. 34. – P. 1317-1324.
423. Dobrynin, A. D. Fridman, G. Fridman, G. Fridman, A. Physical and biological mechanisms of direct plasma interaction with living tissue / A. D. Dobrynin, G. Fridman, G. Fridman, A. Fridman // *New J Phys*. – 2009. – Vol. 11: – P. 115020.

424. Weng, C-C. Wu, Y-T. Liao, J-D. Kao, C-Y. Chao, C-C. Inactivation of bacteria by a mixed argon and oxygen micro-plasma as a function of exposure time / C-C. Weng, Y-T. Wu, J-D. Liao, C-Y. Kao, C-C. Chao // *Int J Rad Biol.* – 2009. – Vol. 85. – P. 362-368.
425. Joshi, S. G. Cooper, M. Yost, A. Paff, M. Ercan, U. K. Nonthermal dielectric-barrier discharge plasma induced inactivation involves oxidative DNA-damage and membrane lipid peroxidation in *Escherichia coli* / S. G. Joshi, M. Cooper, A. Yost, M. Paff, U. K. Ercan // *Antimicrob Agents Chemoter.* – 2011. – Vol. 55. – P. 1053.
426. Kalghatgi, S. Kelly, C. M. Cerchar, E. Torabi, B. Alekseev, O. Effects of non-thermal plasma on mammalian cells / S. Kalghatgi, C. M. Kelly, E. Cerchar, B. Torabi, O. Alekseev // *PLoS One.* – 2011. – Vol. 6. – P. e16270.
427. Ventura, I. Russo, M. T. De Luca, G. Bignami, M. (2010) Oxidized purine nucleotides, genome instability and neurodegeneration / I. Ventura, M. T. Russo, G. De Luca, M. Bignami // *Mutat Res.* – 2010. – Vol. 703. – P. 59-65.
428. Pierres, A. Benoliel, A. M. Bongrand, P. Cell fitting to adhesive surfaces : a prerequisite to firm attachment and subsequent events / A. Pierres, A. M. Benoliel, P. Bongrand // *Eur Cells Mater.* – 2002. – Vol. 3. – P. 31-45.
429. Chen, C. S. Mrksich, M. Huang, S. Whitesides, G. M. Ingber, D. E. Geometric control of cell life and death / C. S. Chen, M. Mrksich, S. Huang, G. M. Whitesides, D. E. Ingber // *Science.* – 1997. – Vol. 276. – P. 1425-1428.
430. Dalby, M. J. Yarwood, S. J. Riehle, M. O. Johnstone, H. J. Affrossman, S. Curtis, A. S. Increasing fibroblast response to materials using nanotopography : morphological and genetic measurements of cell response to 13-nmhigh polymer demixed islands / M. J. Dalby, S. J. Yarwood, M. O. Riehle, H. J. Johnstone, S. Affrossman, A. S. Curtis // *Exp Cell Res.* – 2002. – Vol. 276. – P. 1-9.
431. Schneider, G. B. Perinpanayagam, H. Clegg, M. Zaharias, R. Seabold, D. Keller, J. Stanford, C. Implant surface roughness affects osteoblast gene expression

/ G. B. Schneider, H. Perinpanayagam, M. Clegg, R. Zaharias, D. Seabold, J. Keller, C. Stanford // *J Dental Res.* – 2003. – Vol. 82. – P. 372-376.

432. Auras, R. A. Poly (lactic acid): synthesis, structures, properties, processing, and applications / R. A. Auras, L.T. Lim, S. E. M. Selke, H. Tsuji. – John Wiley & Sons, 2011. – 528 p.

433. Hallab, N. J. Evaluation of metallic and polymeric biomaterial surface energy and surface roughness characteristics for directed cell adhesion / N. J. Hallab, K. J. Bundy, K. O'Connor, R. L. Moses, J. J. Jacobs // *Tissue engineering.* – 2001. – Vol. 7. – №. 1. – P. 55–71.

434. Аристова, Н. А. Вспышечный коронный электрический разряд как источник химически активных частиц. Энциклопедия низкотемпературной плазмы. Серия БТ XI-5 / Н. А. Аристова, И. М. Пискарев; под ред. Ю. А. Лебедева. – М.: ЯНУС-К, 2006. – 310–344 с.

435. Olewnik-Kruszkowska, E. Degradation of polylactide composites under UV irradiation at 254 nm / E. Olewnik-Kruszkowska, I. Koter, J. Skopinska-Wisniewskab, J. Richert // *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry.* – 2015. – №. 311. – P. 144–153.

436. Yang, T. Crystallizability of poly ( $\epsilon$ -caprolactone) blends with poly (vinylphenol) under different conditions / T. Yang // *Chinese Journal of Polymer Science.* – 2014. – Т. 32. – №. 9. – P. 1119-1127.

437. Porfyris, A. Accelerated ageing and hydrolytic stabilization of poly (lactic acid) (PLA) under humidity and temperature conditioning / A. Porfyris // *Polymer Testing.* – 2018. – Vol. 68. – P. 315-332.

438. Козлов, П. М. Применение полимерных материалов в конструкциях, работающих под нагрузкой. – Химия, 1966



439. Gil-Castell, O. Performance of polyester-based electrospun scaffolds under in vitro hydrolytic conditions: From short-term to long-term applications / O. Gil-Castell // *Nanomaterials*. – 2019. – Vol. 9. – №. 5. – P. 786.
440. Pantani, R. Sorrentino, A. Influence of crystallinity on the biodegradation rate of injection-moulded poly (lactic acid) samples in controlled composting conditions / R. Pantani, A. Sorrentino // *Polymer degradation and stability*. – 2013. – Vol. 98. – №. 5. – P. 1089-1096.
441. Ghanim, E. H. Etching Properties of Polyethyleneterephthalate (PET) Melinex-E Nuclear Track Detectors (NTDs) / E. H. Ghanim, A. Hussein, H. M. El-Samman, S. P. Tretyakova // *Radiation Physics and Protection Conference (RPCXI)*. – 2008. – P.323–332.
442. Воробьева, И. В. Зайцев, Б. В. Кобец, А. Ф. Получение сквозных пор с диаметром  $\leq 50$  нм в полиэтилентерефталатных (ПЭТ) пленках, облученных ионами Ag / И. В. Воробьева, Б. В. Зайцев, А. Ф. Кобец // *Вестник ХНУ*. – 2011. – №. 962. – С.49–53.
443. Apel, P. Yu. Blonskaya, I. V. Dmitriev, S. N. Orelovitch, O. L. Sartowska, B. Structure of polycarbonate track-etch membranes: Origin of the “paradoxical” pore shape / P. Yu. Apel, I. V. Blonskaya, S. N. Dmitriev, O. L. Orelovitch, B. Sartowska // *Journal of Membrane Science*. – 2006. – Vol. 282. – P. 393–400.
444. Apel, P. Yu. Schulz, A. Spohr, R. Trautmann, C. Vutsadakis, V. Tracks of very heavy ions in polymers / P. Yu. Apel, A. Schulz, R. Spohr, C. Trautmann, V. Vutsadakis // *Nucl. Instrum. Meth, in Phys. Res.* – 1997. – Vol. B130. – P.55-63.
445. Auras, R. A. et al. (ed.). Poly (lactic acid): synthesis, structures, properties, pro-cessing, and applications / R. A. Auras, L.T. Lim, S. E. M. Selke, H. Tsuji. – John Wiley & Sons, 2011. – 528 p.

446. Tsuji, H. Ikada, Y. (1995) Properties and morphologies of poly(L-lactide): 1. Annealing condition effects on properties and morphologies of poly(L-lactide) / H. Tsuji, Y. Ikada // *Polymer*. – 1995. – Vol. 36/ – P. 2709-2716.
447. Ratner, B. D. *Biomaterials Science: an introduction to materials in medicine* / B.D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons(Eds.). – Third ed– Elsevier Academic Press: Oxford, UK; Waltham, MA. – 2013. – 1520 p.
448. Khlusov, I. A. Detection in vitro and quantitative estimation of artificial microterritories which promote osteogenic differentiation and maturation of stromal stem cells / I. A. Khlusov, N. M. Shevtsova, M. Y. Khlusova // *Methods Mol. Biol.* – 2013. – Vol. 1035. – P. 103 – 119.
449. Riggs, B. L. *Osteoporosis: Etiology, diagnosis, and management* / B. L. Riggs, L. J. Melton – 2nd ed. Philadelphia, New York: Lippincott-Raven Publ, 1995. – 524 p.
450. Khlusov, I. A. Pilot in vitro study of the parameters of artificial niche for osteogenic differentiation of human stromal stem cell pool / I. A. Khlusov, M. Yu. Khlusova, K. V. Zaitsev, T. D. Kolokol'tsova // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2011. – Vol. 150 (4). – P. 535 – 542.
451. Ahmed, K. A. McLaren, J. W. Baratz, K. H. Host and graft thickness after Descemet stripping endothelial keratoplasty for Fuchs endothelial dystrophy / K. A. Ahmed, J. W. McLaren, K. H. Baratz // *Am. J. Ophthalmol.* – 2010. – Vol. 150. – № 4. – P. 490 – 497.
452. Saghizadeh, M. Chwa, M. Aoki, A. Lin, B. Pirouzmanesh, A. Brown, D. J. Ljubimov, A. V. Kenney, M. C. Altered expression of growth factors and cytokines in keratoconus, bullous keratopathy and diabetic human corneas / M. Saghizadeh, M. Chwa, A. Aoki, B. Lin, A. Pirouzmanesh, D. J. Brown, A. V. Ljubimov, M. C. Kenney // *Exp. Eye Res.* – 2001. – Vol. 73. – P. 179–189.

453. Wilson, S. E. He, Y. G. Lloyd, S. A. EGF, EGF receptor, basic FGF, TGF beta-1, and IL-1 alpha mRNA in human corneal epithelial cells and stromal fibroblasts / S. E. Wilson, Y. G. He, S. A. Lloyd // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1992. – Vol. 33. – P. 1756–65.
454. Wilson, S. E. Schultz, G. S. Chegini, N. Weng, J. He, Y.-G. Epidermal Growth Factor, Transforming Growth Factor Alpha, Transforming Growth Factor Beta, Acidic Fibroblast Growth Factor, Basic Fibroblast Growth Factor, and Interleukin-1 Proteins in the Cornea / S. E. Wilson, G. S. Schultz, N. Chegini, J. Weng, Y.-G. He // *Exp. Eye Res.* – 1994. – Vol. 59. – P. 63–72.
455. Sekine-Okano, M. Lucas, R. Rungger, D. De Kesel, T. Grau, G. E. Leuenberger, P. M. Rungger-Brändle, E. 1996. Expression and release of tumor necrosis factor-alpha by explants of mouse cornea / M. Sekine-Okano, R. Lucas, D. Rungger, T. De Kesel, G. E. Grau, P. M. Leuenberger, E. Rungger-Brändle // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1996. – Vol. 37. – P. 1302–1310.
456. James, M. Anderson. Analiz, Rodriguez. David, T. Chang. Foreign body reaction to biomaterials / James, M. Anderson. Analiz, Rodriguez. David, T. Chang // *Seminars Immunology.* – 2008. – Vol. 20 (2). – P. 86–100.
457. Julia, Kzhyshkowska. Alexandru, Gudima. Vladimir, Riabov. Camille, Dollinger. Philippe, Lavallo. Nihal, Engin. Vrana. Macrophage responses to implants: prospects for personalized medicine / Julia, Kzhyshkowska. Alexandru, Gudima. Vladimir, Riabov. Camille, Dollinger. Philippe, Lavallo. Nihal, Engin. Vrana. // *Journal of Leukocyte Biology.* – 2015. – Vol. – 98. – P. 953-962.
458. Zeeshan, Sheikh. Patricia, J. Brooks. Oriyah, Barzilay. Noah, Fine. Michael, Glogauer. Macrophages, Foreign Body Giant Cells and Their Response to Implantable Biomaterials / Sheikh. Zeeshan, J. Brooks. Patricia, Barzilay. Oriyah, Fine. Noah, Glogauer. Michael // *Materials.* – 2015. – Vol. – 8. – P. 5671-5701.

459. Chiang, Homer. Hemmati, Houman. Treatment of Corneal Neovascularization / Homer. Chiang, Houman. Hemmati // *Ophthalmic Pearls*. – 2013. – Vol. – P. 35–36.
460. William, Stevenson. Sheng-Fu, Cheng. Mohammad, H. Dastjerdi. Giulio, Ferrari. Reza, Dana. Corneal neovascularization and the utility of topical VEGF inhibition: ranibizumab (Lucentis) vs bevacizumab (Avastin) / Stevenson. William, Cheng. Sheng-Fu, H. Dastjerdi. Mohammad, Ferrari. Giulio, Dana. Reza // *The Ocular Surface*. – 2012. – Vol. 10 (2). – P. 67-83.
461. Pacella, E. Pacella, F. De Paolis, G. Romana Parisella, F. Turchetti, P. Anello, G. Cavallotti, C. Glycosaminoglycans in the human cornea: age-related changes / E. Pacella, F. Pacella, G. De Paolis, F. Romana Parisella, P. Turchetti, G. Anello, C. Cavallotti // *Ophthalmol. Eye Dis*. – 2015. – Vol. 7. – P. 1-5.
462. Milligan, E. D. Sloane, E. M. Langer, S. J. Cruz, P. E. Chacur, M. Spataro, L. Wieseler-Frank, J. Hammack, S. E. Maier, S. F. Flotte, T. R. Forsayeth, J. R. Leinwand, L. A. Chavez, R. Watkins, L. R. Controlling neuropathic pain by adeno-associated virus driven production of the anti-inflammatory cytokine, interleukin-10 / E. D. Milligan, E. M. Sloane, S. J. Langer, P. E. Cruz, M. Chacur, L. Spataro, J. Wieseler-Frank, S. E. Hammack, S. F. Maier, T. R. Flotte, J. R. Forsayeth, L. A. Leinwand, R. Chavez, L. R. Watkins // *Mol. Pain*. – 2005. – P. 1-9.
463. Uçeyler, N. Valenza, R. Stock, M. Schedel, R. Sprotte, G. Sommer, C. Reduced levels of antiinflammatory cytokines in patients with chronic widespread pain / N. Uçeyler, R. Valenza, M. Stock, R. Schedel, G. Sprotte, C. Sommer // *Arthritis Rheum*. – 2006. – Vol. 54. – P. 2656–2664.
464. Roberts, A. B. Sporn, M. B. Physiological actions and clinical applications of transforming growth factor-beta (TGF-beta) / A. B. Roberts, M. B. Sporn // *Growth Factors*. – 1993. – Vol. 8. – P. 1–9.

465. Eisenstein, E. M. Williams, C. B. The Treg/Th17 Cell Balance: A New Paradigm for Autoimmunity / E. M. Eisenstein, C. B. Williams // *Pediatr. Res.* – 2009. – Vol. 65. – P. 26R–31R.
466. Kubiczkova, L. Sedlarikova, L. Hajek, R. Sevcikova, S. TGF- $\beta$  – an excellent servant but a bad master / L. Kubiczkova, L. Sedlarikova, R. Hajek, S. Sevcikova // *J. Transl. Med.* – 2012. – Vol. 10. – P. 183.
467. Dong, F. Jia, Y. Du, H. Dong, N. Xu, Y. Wang, S. Wu, H. Liu, Z. Li, W. Notch signal regulates corneal endothelial-to-mesenchymal transition / F. Dong, Y. Jia, H. Du, N. Dong, Y. Xu, S. Wang, H. Wu, Z. Liu, W. Li // *Am. J. Pathol.* – 2013. – Vol. 183. – P. 786–795.
468. Nawshad, A. LaGamba, D. Polad, A. Hay, E. D. Transforming growth factor- $\beta$  signaling during epithelial-mesenchymal transformation: Implications for embryogenesis and tumor metastasis / A. Nawshad, D. LaGamba, A. Polad, E. D. Hay // *Cells Tissues Organs.* – 2005. – Vol. 179. – P. 11–23.
469. Usui, T. Takase, M. Kaji, Y. Suzuki, K. Ishida, K. Tsuru, T. Miyata, K. Kawabata, M. Yamasbita, H. Extracellular Matrix Production Regulation by TGF- $\beta$  / T. Usui, M. Takase, Y. Kaji, K. Suzuki, K. Ishida, T. Tsuru, K. Miyata, M. Kawabata, H. Yamasbita // *Invest. Ophthalmol.* – 1998. – Vol. 39. – P. 1981–1989.
470. Запускалов, И. В. Кривошеина, О. И. Хороших, Ю. И. Биомеханика «периферического сердца» в тканях глаза / И. В. Запускалов, О. И. Кривошеина, Ю. И. Хороших. – Томск: Иван Федоров, 2013. – 140 с.

## ПРИЛОЖЕНИЕ «А» АКТЫ ВНЕДРЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

**ООО «Аквелит»**

Адрес: пр. Академический, 8/8, пом.36  
г. Томск, Россия  
Тел.: (3822) 57-19-97, 8-913-813-83-12  
E-mail: n.kirilova@vitavallis.com  
[www.vitavallis.com](http://www.vitavallis.com)

Исх. № 55/21 от 01 апреля 2021 г.  
[ использование результатов на производстве ]

### АКТ

об использовании результатов диссертационной работы Филипповой Екатерины Олеговны на тему “Разработка полимерных кератоимплантатов для лечения буллезной кератопатии”, представленной на соискание ученой степени доктора технических наук по специальности 2.2.12 – Приборы, системы и изделия медицинского назначения

Настоящим подтверждаем использование результатов диссертационной работы Филипповой Екатерины Олеговны и их внедрение в производстве мембран резорбируемого типа для систем фильтрации. Получены новые данные, касающиеся созданию резорбируемых трековых мембран на основе полимолочной кислоты, которые благодаря разработанным техническим параметрам готового изделия позволили применять мембраны данного типа в лечении заболеваний роговицы и в качестве фильтров для очищения любых жидкостей от загрязнений крупнее размеров пор мембраны (более 0,65 мкм).

Директор ООО «Аквелит»



Кирилова Н. В.

**ООО «Гранд Ретина»**

Ул. Мокрушина, д. 9, стр. 16, г. Томск,  
634045  
Телефон (3822) 902 901;  
+7 953 910 1331  
e-mail: info@zapuskalov-clinic.ru  
http://www.zapuskalov.pф  
ОКПО 67000558 ОГРН 1107017012156  
ИНН 7017265142 КПП 701701001

**АКТ**

об использовании результатов диссертационной работы Филипповой Екатерины Олеговны на тему “Разработка полимерных кератоимплантатов для лечения буллезной кератопатии”, представленной на соискание ученой степени доктора технических наук по специальности 2.2.12 – Приборы, системы и изделия медицинского назначения, в офтальмологической клинике профессора Запускалова

Настоящим, ООО «Гранд Ретина» в лице директора д.м.н. Ю.И. Хороших подтверждает использование результатов диссертационной работы Филипповой Екатерины Олеговны и внедрение в лечебный процесс офтальмологической клиники профессора Запускалова разработанной хирургической методики имплантации материалов при заболеваниях роговицы. Получены новые данные, касающиеся влияния полимерных имплантатов на течение буллезной кератопатии, которые позволили сделать вывод об уменьшении выраженности воспалительных процессов в роговой оболочке при данном заболевании.

Директор ООО «Гранд Ретина»  
д.м.н.



Ю.И. Хороших  
10.04.21

Минздрав России  
 Федеральное государственное бюджетное  
 образовательное  
 учреждение высшего образования  
 «Сибирский государственный медицинский  
 университет»  
 Министерства здравоохранения Российской  
 Федерации  
 (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России)

Утверждаю  
 Главный врач клиник СибГМУ  
 \_\_\_\_\_ А.Н. Левко

11.10.2016 г.



Московский тракт, д. 2, г. Томск, 634050  
 Телефон (3822) 53 04 23;  
 Факс (3822) 53 33 09  
 ОКПО 01963539 ОГРН 1027000885251  
 ИНН 7018013613 КПП 701701001

№ \_\_\_\_\_  
 На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

### АКТ

внедрения в клиническую практику офтальмологической клиники ФГБОУ ВО  
 СибГМУ Минздрава России  
 результатов диссертационной работы Филипповой Екатерины Олеговны

Мы, нижеподписавшиеся, комиссия в составе: председателя – заведующей офтальмологической клиникой канд. мед. наук Я.А. Мартусевич и членов: канд. мед. наук, врач-ординатор С.А. Жуйков, канд. мед. наук, врач-ординатор Н.А. Левченко удостоверяем, что результаты диссертационной работы Филипповой Е.О. внедрены в лечебный процесс клиники с 2016 г. Получены новые данные, касающиеся влиянию аутологичных мононуклеаров крови на регенераторные процессы при индуцированных повреждениях эндотелиального слоя роговицы, которые позволяют повысить эффективность комплексного лечения лечения эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговой оболочки с помощью локального применения мононуклеаров крови.

Председатель:

Заведующая офтальмологической клиникой  
 канд. мед. наук

 Я.А. Мартусевич

Члены комиссии:

канд. мед. наук, врач-ординатор

 С.А. Жуйков

канд. мед. наук, врач-ординатор

 Н.А. Левченко



Минздрав России

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
«Сибирский государственный медицинский  
университет» Министерства здравоохранения  
Российской Федерации  
(ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России)  
Московский тракт, д. 2, г. Томск, 634050  
Телефон (3822) 53 04 23;  
Факс (3822) 53 33 09  
e-mail: office@ssmu.ru  
http://www.ssmu.ru  
ОКПО 01963539 ОГРН 1027000885251  
ИНН 7018013613 КПП 701701001

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе  
д-р мед. наук, профессор  
А.И. Мирошниченко  
1 марта 2021



№ \_\_\_\_\_  
На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

### АКТ

внедрения в учебный процесс кафедры офтальмологии результатов диссертационной работы Филипповой Екатерины Олеговны на тему «Разработка полимерных кератоимплантатов для лечения буллезной кератопатии», представленной на соискание ученой степени доктора технических наук по специальности 2.2.12 – Приборы, системы и изделия медицинского назначения

Мы, нижеподписавшиеся, комиссия в составе: председателя – профессора кафедры офтальмологии, д-ра мед. наук Кривошеиной О.И. и членов – доцента кафедры офтальмологии, канд. мед. наук Сергеевой Т.М., доцента кафедры офтальмологии, канд. мед. наук Крыловой А.А. удостоверяем, что результаты диссертационной работы Филипповой Екатерины Олеговны внедрены в учебный процесс кафедры офтальмологии в разделе «Патология роговицы» с 2021 г. Получены новые данные, касающиеся разработки мембран полимерного типа в качестве имплантатов для роговицы в лечении буллезной кератопатии. Предложенный метод хирургического лечения буллезной кератопатии с использованием мембран из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты позволяет стабилизировать патологический процесс и заслуживает дальнейшего его изучения в клинических условиях.

Председатель: профессор кафедры офтальмологии,  
д-р мед. наук

О.И. Кривошеина

Члены:

1. Доцент кафедры офтальмологии,  
канд. мед. наук
2. Доцент кафедры офтальмологии,  
канд. мед. наук

Т.М. Сергеева

А.А. Крылова

# ПРИЛОЖЕНИЕ «Б» ПАТЕНТЫ НА ИЗОБРЕТЕНИЯ

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2674237

**СПОСОБ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ  
ЭНДОТЕЛИАЛЬНО-ЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСТРОФИИ  
РОГОВИЦЫ**

Патентообладатели: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Сибирский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России) (RU), Кривошеина Ольга Ивановна (RU), Дениско Марьяна Сергеевна (RU), Филиппова Екатерина Олеговна (RU)*

Авторы: *см. на обороте*

Заявка № 2017127350

Приоритет изобретения 31 июля 2017 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 05 декабря 2018 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 31 июля 2037 г.

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

*Г.П. Излиев* Г.П. Излиев





## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2594447

## СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ЭНДОТЕЛИАЛЬНО-ЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСТРОФИИ РОГОВИЦЫ

Патентообладатель(ли): *Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Сибирский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России) (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2015131871

Приоритет изобретения **30 июля 2015 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации **22 июля 2016 г.**

Срок действия патента истекает **30 июля 2035 г.**

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

*Г.П. Ивлиев*





## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2601317

## СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ЭНДОТЕЛИАЛЬНО-ЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСТРОФИИ РОГОВИЦЫ

Патентообладатель(ли): *Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Сибирский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России) (RU), Запускалов Игорь Викторович (RU), Филиппова Екатерина Олеговна (RU), Кривошеина Ольга Ивановна (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2015131869

Приоритет изобретения **30 июля 2015 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации **10 октября 2016 г.**

Срок действия патента истекает **30 июля 2035 г.**

*Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности*

*Г.П. Ивлиев*





## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2637230

СПОСОБ ФОРМОВАНИЯ ПОЛИМЕРНОЙ ТРЕКОВОЙ  
МЕМБРАНЫ С ПОЛОСТЬЮ ЗАДАННОЙ КРИВИЗНЫ И  
УСТРОЙСТВО ДЛЯ ЕГО ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

Патентообладатель: *Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Национальный исследовательский Томский политехнический университет" (RU)*

Авторы: *Филиппова Екатерина Олеговна (RU), Филиппов Андрей Владимирович (RU), Кудияров Виктор Николаевич (RU)*

Заявка № 2016142238

Приоритет изобретения 26 октября 2016 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 01 декабря 2017 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 26 октября 2036 г.

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

*Г.П. Ивлиев* Г.П. Ивлиев





## ПРИЛОЖЕНИЕ «В» ЗАКЛЮЧЕНИЯ ЭТИЧЕСКОГО КОМИТЕТА

Государственное бюджетное образовательное  
учреждение высшего профессионального образования  
«Сибирский государственный медицинский университет»  
Минздрава России

### Этический комитет

634050, г. Томск, Московский тракт, 2г, стр.18, ПНИЛ телефон: 52-96-19  
Этический комитет ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России действует в соответствии с нормами ИСН ГСР.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Регистрационный номер: 3898  
Дата регистрации: 10 ноября 2014 г.  
Дата проведения заседания: 24 ноября 2014 г.

**Название исследования:** «Применение аутологичных мононуклеаров крови в лечении эпителиально-эндотелиальной дистрофии роговицы»

**Место проведения исследования:** кафедра офтальмологии СибГМУ  
**Главный исследователь:** Филиппова Е.О.  
**Рецензент:** Алябьев Ф.В. – д.м.н., профессор

**Присутствовали:** Букреева Е.Б., Жукова Н.Г., Байков А.Н., Алябьев Ф.В., Ваизова О.Е., Терентьева А.А., Карзилов А.И., Комкова Т.Б., Кошмелева М.В.

**Были рассмотрены следующие материалы данного исследования:**

1. Протокол клинического исследования
2. Протокол планируемой НИР
3. Аннотация кандидатской диссертации
4. Заявка
5. Информированное согласие пациента
6. Информационный лист для пациента
7. Гарантийное обязательство
8. Справка о НИР

**Решение:** Одобрить проведение исследования «Применение аутологичных мононуклеаров крови в лечении эпителиально-эндотелиальной дистрофии роговицы». Документы соответствуют требованиям Этического Комитета

Председатель  
д-р. мед. наук, профессор

Секретарь

  
 Е.Б. Букреева  
М.В. Кошмелева  
Дата: 24.11.2014 г.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
(ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России)

Этический комитет

634034, г. Томск, ул. Котовского, 15, каб. №3 (цокольный этаж) телефон 901-101 (1957)  
*Этический комитет ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России действует в соответствии с нормами ICH GCP.*

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Регистрационный №: 7892

Дата регистрации: 13 мая 2019 г.

Дата проведения заседания: 27 мая 2019 г.

Название протокола:

«Влияние имплантации тонких пленок на основе полимолочной кислоты и пЭтф на морфологию роговой оболочки при буллезной кератопатии»

Место проведения исследования: Центр доклинических исследований ЦНИЛ ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России

Исполнитель: Филиппова Е.О.

Рецензент: Ваизова Ольга Евгеньевна

Присутствовали: Букреева Е.Б., Комкова Т.Б., Терентьева А.А., Байков А.Н., Лукашова Л.В., Ваизова О.Е., Лаптева Е.В., Самойлова Ю.Г., Кошмелева М.В., Ковалев Е.В.

Были рассмотрены документы по исследованию:

1. Аннотация,
2. гарантинное обязательство,
3. протокол планируемой научно-исследовательской работы,
4. справка о выполненном объеме НИР.

**Заключение:** Одобрить научно-исследовательскую работу по теме «Влияние имплантации тонких пленок на основе полимолочной кислоты и пЭтф на морфологию роговой оболочки при буллезной кератопатии». Документация представлена полностью и не противоречит требованиям Этической экспертизы

Председатель,

Профессор:

Секретарь:



Е.Б. Букреева

М.В. Кошмелева