

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора физико-математических наук, профессора Ю.П. Шаркеева на диссертацию и автореферат диссертации **Филипповой Екатерины Олеговны «Разработка полимерных кератоимплантатов для лечения буллёзной кератопатии»**, представленную на соискание ученой степени доктора технических наук по специальности 2.2.12. – «Приборы, системы и изделия медицинского назначения»

Представленная к защите диссертация посвящена одной из актуальных проблем современной офтальмологии - созданию кератоимплантатов на основе полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты для лечения буллёзной кератопатии.

Актуальность темы

Буллёзная кератопатия является прогрессирующим заболеванием роговицы глаза, связанным с декомпенсацией эндотелиального слоя клеток. После повреждения эндотелия и утраты им функции полупроницаемой мембраны между стромой роговицы и влагой передней камеры постепенно развивается отек и рецидивирующие эрозии роговой оболочки, что проявляется в снижение зрения, светобоязни, слезотечение и сильными для пациента болевыми ощущениями. При лечении буллёзной кератопатии широко используются различные методы, применение которых не всегда обеспечивает высокие клинико-функциональные результаты. Одним из новых направлений в лечении данного заболевания является применение кератоимплантатов на основе полупроницаемых мембран, способных к нормализации движения жидкости в роговичной ткани вследствие их избирательной проницаемости и поддержанию роговицы в слабо дегидрированном состоянии. Наиболее перспективными мембранами для создания из них роговичного имплантата являются трековые мембраны, обладающие уникальными характеристиками как возможность варьирования размеров пор и их количества в зависимости от функционального назначения, узкое распределение пор по размерам, низкий уровень дефектности, высокая селективность. Соответственно проведение исследований по выбору материалов для трековых мембран, оптимизации процесса их изготовления и стерилизации, выполнение исследований изменений морфологии роговицы после имплантации разработанных изделий, а также разработка рекомендаций по их применению являются актуальными для лечения буллёзной кератопатии. Именно этой проблеме и посвящена представленная работа

Обоснованность и достоверность результатов

Положения, рекомендации, выводы обоснованы и соответствуют содержанию диссертации. Достоверность результатов обеспечивается использованием современного стандартизированного оборудования и методов исследования, большим массивом данных и их статистической обработкой, а также

сопоставлением полученных результатов с имеющимися литературными источниками.

Основные научные результаты и практическая значимость

По результатам работы определены технические требования к параметрам кератоимплантатов для хирургического лечения буллёзной кератопатии, разработаны технологии получения кератоимплантатов резорбируемого и нерезорбируемого типов, созданы прототипы имплантатов из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты с заданными характеристиками. Установлено, что имплантация кератоимплантата из полиэтилентерефталата в слои роговой оболочки животных с индуцированной буллёзной кератопатией способствует уменьшению отека стромы, толщины переднего эпителия и нормализации строения эпителиоцитов роговицы по сравнению с показателями до имплантации.

Проведенные исследования и полученные результаты, описанные в диссертационной работе, могут быть напрямую использованы в экспериментальной и клинической медицине в лечении буллёзной кератопатии. Разработанная методика получения сквозных пор при помощи тяжелых ионов ксенона в пленках биodeградируемого полимера – полимолочной кислоты – имеет важное значение для мембранных технологий.

Научная новизна

В диссертации получен ряд новых практически значимых и теоретически важных результатов.

1. Определены конструктивные особенности кератоимплантатов, позволяющие нормализовать движение жидкости в роговичных тканях и поддерживать роговицу в слабо дегидрированном состоянии.
2. Предложена 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. Определены параметры и режимы обработки кератоимплантатов из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты низкотемпературной плазмы, что обеспечивает бактерицидное действие, способствует гидрофилизации поверхности и оказывает наименьшее деструктивное действие на имплантаты по сравнению с обработкой γ -излучением или при автоклавировании.
4. Предложены методы кератопластики с использованием кератоимплантатов из полиэтилентерефталата и полимолочной кислоты для лечения буллёзной кератопатии.
5. Доказано на примере экспериментальных животных, что введение разработанного кератоимплантата из полиэтилентерефталата в слои роговой оболочки с индуцированной буллёзной кератопатией способствует уменьшению

отека стромы до 32%, толщины переднего эпителия до 28% и нормализации строения клеток переднего эпителия роговицы.

6. Получены положительные результаты по имплантации кератоимплантата из полимолочной кислоты в переднюю камеру и последующего наслоения аутологичных моноклеарных 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, толщины переднего эпителия и нормализации строения клеток переднего эпителия роговой оболочки.

Полученные результаты являются новыми и имеют большое научное значение.

Полнота опубликования результатов работы

Основные результаты достаточно полно приведены в опубликованных работах. По теме диссертации опубликовано 88 научных работ, в том числе 23 в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации результатов диссертационных исследований, 17 публикаций в зарубежных изданиях, входящих в базы Scopus и Web of Science. По теме исследования получено 4 патента РФ на изобретения.

Основные результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на международных и всероссийских конференциях.

Автореферат диссертации полностью отражает содержание и положения диссертации.

Содержание работы

Диссертация содержит 339 страниц и состоит из введения, пяти глав, заключения, списка цитируемой литературы из 470 наименований, списка сокращений и условных обозначений и трех приложений. Содержание и структура диссертации выстроены логично, соответствует поставленной цели и задачам исследования.

Во **введении** представлена актуальность темы диссертации, сформулирована цель и задачи исследований, изложены основные положения, выносимые на защиту, отражены научная новизна и практическая ценность, приведены общая характеристика работы и данные об апробации.

Первая глава посвящена обзору литературы о проблеме лечения буллёзной кератопатии. Показаны распространённость, этиопатогенез заболевания, современные принципы терапии буллёзной кератопатии и недостаточная эффективность принятых методов лечения. В главе приведена обоснованность выбора полимера и трековых мембран в качестве корнеальных имплантатов, а также необходимость модифицирования исходных свойств материала. Описаны наиболее широко используемые в практическом здравоохранении методы стерилизации

медицинских изделий, а также показана необходимость применения щадящей стерилизации корнеальных имплантатов.

Во **второй главе** описаны методы получения пленок полимолочной кислоты, трековых мембран, стерилизации, модификации поверхности полимера низкотемпературной плазмой, испытания на стерильность. Описаны методы исследования образцов и разработанных изделий, методики определения цитотоксичности и биосовместимости *in vitro*, а также методика оценки влияния имплантации прототипов кератоимплантатов на структуры глазного яблока. Рассмотрены методы статистической обработки экспериментальных данных.

Третья глава посвящена описанию результатов по разработке кератоимплантата из полиэтилентерефталата (ПЭТФ). Согласно приведенным в главе результатам, воздействие низкотемпературной плазмы приводит к изменению параметров шероховатости, краевого угла смачивания и свободной энергии поверхности трековой мембраны из ПЭТФ. Показано, что γ -излучение модифицированных в плазме трековых мембран не влияет на шероховатость материала, однако повышает значения краевого угла смачивания и снижает свободную энергию поверхности. Автоклавирование оказывает заметное влияние на мембрану из ПЭТФ и не может быть выбрано для стерилизации кератоимплантата из рассматриваемого полимера.

В **четвертой главе** представлена разработка кератоимплантата из полимолочной кислоты. Показано, что 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 течение 15 минут позволяет создать кератоимплантат со сквозными порами диаметром 0,65мкм и геометрией сквозного канала, приближенной к цилиндрической. Показано, что модификация в низкотемпературной плазме полученных мембран снижает краевой угол смачивания материала, увеличивает значение свободной энергии поверхности. Стерилизация γ -облучением сохраняет полученные в ходе модификации гидрофильные свойства поверхности материала, в отличие от стерилизации горячим паром под давлением, которое деформирует и разрушает изделие.

В **пятой главе** приведены результаты применения разработанных и полученных прототипов кератоимплантатов из ПЭТФ и полимолочной кислоты в лечении буллезной кератопатии на биологических моделях *in vitro*, *in vivo*. В результате проведенных цитологических испытаний установлено, что разработанные образцы не оказывают цитотоксического действия на культуру моноклеарных клеток. Результаты *in vitro* реакции культуры фибробластоподобных клеток на клеточно-молекулярную биосовместимость прототипов кератоимплантатов из ПЭТФ и полимолочной кислоты свидетельствуют об их относительной биоинертности в отношении стромальных клеток человека.

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. Имплантиция прототипа кератоимплантата из полимолочной кислоты в переднюю камеру глаза с последующим наслоением суспензии аутологичных мононуклеарных лейкоцитов купирует альтеративную воспалительную реакцию и способствует эндотелиально-мезенхимальному переходу эндотелия.

Завершает работу **Заключение**, содержащее основные выводы и рекомендации по применению разработанных кератоимплантатов из полимолочной кислоты и из полиэтилентерефталата. Необходимо отметить завершенность исследования и выполненной разработки. Автор прошла путь от выбора материала для кератоимплантатов до практических рекомендаций по применению разработанных кератоимплантатов в хирургическом лечении буллёзной кератопатии.

Имеются следующие **замечания**.

1. Автор приводит в ряде мест диссертации и автореферата среднюю величину в виде интервала значений, например, стр. 261, вывод 2, «средний диаметр пор 0,4–0,6 мкм» или «средний диаметр пор 0,4–1,5 мкм». Это неверно, среднее значение физической величины – это одно значение, может быть указано дополнительно среднее квадратичное отклонение. Правильно в выводе 2 указана «средняя плотность «пор» – $(3,2 \pm 0,4) \cdot 10^6$ пор/см²» или «плотность – 5×10^8 пор/см²», но это не плотность, а концентрация пор на поверхности.
2. На рисунках 3.3, и 3.7 и др. приведены распределения пор в трековых мембранах. Необходимо отметить, что на рисунках приведены не распределения, а гистограммы. Причем по вертикальной оси указана не доля пор, а количество пор, это неправильно. Более того, не ясно как определяли статистически значимое количество пор, использованных для измерения площади поры или концентрации пор на поверхности.

Отмеченные недостатки не снижают общую положительную оценку представленной диссертационной работы.

Таким образом, диссертационная работа Филипповой Екатерины Олеговны на тему «Разработка полимерных кератоимплантатов для лечения буллёзной кератопатии» является законченной, самостоятельной научно-квалифицированной работой и соответствует паспорту специальности 2.2.12. – Приборы, системы и изделия медицинского назначения, в частности пункту 1 «Исследование, разработка и создание медицинской техники, изделий, инструментов, методов и способов диагностики и лечения человека, которые рассматриваются как средства восстановления нарушенной поливариантной системы», и требованиям ВАК, установленным в пп. 9 – 14 Положения «О присуждении учёных степеней»,

утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842.

Диссертационная работа выполнена на высоком научном уровне, обладает научной новизной, практической ценностью, а её автор Филиппова Екатерина Олеговна заслуживает присуждения учёной степени доктора технических наук по специальности 2.2.12. – «Приборы, системы и изделия медицинского назначения».

Зав. лабораторией ИФПМ СО РАН,
доктор физ. – мат. наук по специальности
01.04.07 – физика конденсированного
состояния, профессор

Шаркеев Юрий Петрович

Собственноручно
удостоверяю:
ученый секретарь I
кандидат физ.-мат.

Матолыгина Наталья Юрьевна

9 марта 2022 г.

Шаркеев Юрий Петрович, доктор физико-математических наук, профессор, главный научный сотрудник и заведующий лабораторией физики наноструктурных биоконструктов, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физики прочности и материаловедения Сибирского отделения Российской академии наук (ИФПМ СО РАН), 634055, Томск, проспект Академический, 2/4, www.ispms.ru, тел. раб.: +7 (3822) 492850, сот. тел.: +7 9138062814, sharkeev@ispms.ru.

Отзыв получен 11.03.2022 *А. Степанов М.А.*
С отзывом ознакомлена 11.03.2022 *Филиппова Екатерина Е.О.*