

ОТЗЫВ

официального оппонента Мелик-Нубарова Николая Сергеевича

на диссертацию Бардаковой Ксении Николаевны на тему:

«Влияние структуры и физико-механических свойств трехмерных биodeградируемых полимерных материалов на их биосовместимость и клеточную адгезию»,
представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 1.4.7 – Высокомолекулярные соединения.

Тканевая инженерия прочно вошла в клиническую практику и является одной из бурно развивающихся областей медицины. Неотъемлемым элементом искусственного органа является полимерная матрица, формирующая органический каркас и способствующая дифференциации клеток данного органа. Первые попытки пересадки клеток на полимерные импланты сопровождались отторжением или серьезными осложнениями. Было даже обнаружено, что имплантация жестких пластиков или керамических деталей может приводить к малигнизации окружающих тканей и возникновению рака. Обнадешивающие результаты были получены при использовании инертных металлов, таких как золото или титан. Однако их стоимость и недостаточная пластичность требовало поиска новых материалов для матриц искусственных органов. В 1980-х годах внимание специалистов по тканевой инженерии было привлечено к коллагену, который практически неиммуногенен и нетоксичен, обеспечивает дифференцировку стволовых клеток и поддерживает жизнеспособность нормальных клеток различного происхождения. Однако механические свойства этого материала делают его мало пригодным для формирования участков скелета. Поэтому в литературе идет активный поиск композитов, способных формировать основу искусственных органов и обеспечить поддержание жизнеспособности клеток в импланте.

Работа Ксении Николаевны Бардаковой посвящена разработке нового поколения композитных материалов на основе биосовместимых компонентов – хитозана, коллагена и полилактида, соединенных в единый материал с помощью фотоиницированной радикальной полимеризации аллиловых и виниловых фрагментов, ковалентно присоединенных к хитозану и полилактиду, соответственно. Выбор заведомо нетоксичных компонентов, позволяющих в широких пределах менять модуль упругости, напряжение при разрыве и предельную деформацию материала, а также высокая доступность и низкая цена использованных компонентов убеждают читателя в очевидной актуальности данной работы.

Диссертационная работа К.Н. Бардаковой построена традиционным образом. В 1 главе автор приводит обзор литературы, посвященный материалам для тканевой инженерии. В первой части обзора автор обсуждает требования к материалам для тканевой инженерии, далее переходит к обсуждению химической природы наиболее широко применяемых в тканевой инженерии материалов и, в том числе, хитозана, коллагена и полиэтиленгликоля, использованных в диссертационной работе. В 3 части обзора литературы автор приводит необходимые сведения о фотополимеризации и типах фотоинициаторов. В этой же части дается краткий обзор стереолитографических подходов. Наконец, в 4 части обзора литературы автор приводит классификацию подходов к формированию различных материалов для тканевой инженерии.

Отдельно следует выделить исключительно подробное описание методов исследования. К чести автора следует отметить, что в разделе материалов упомянуты все исходные компоненты, из которых формировались в дальнейшем композитные материалы, причем с подробной ссылкой на автора данного материала.

Производит сильное впечатление большое количество и разнообразие использованных в работе методов. В работе были использованы и дифракционные методы, и механика, и фотолитография в трехмерном пространстве, и пост-обработка в сверхкритической углекислоте, и измерение набухаемости гелей, и атомно-силовая и электронная микроскопия, и ИК-спектроскопия, и морфологический анализ клеточных культур, количественные измерения их выживаемости, и т.д. Все методы описаны достаточно подробно.

Собственные результаты автора изложены в последних 4 главах диссертации. В Главе 3 автор останавливается на получении материалов на основе хитозана. Для их получения гидрофобизованный аллилхитозан смешивали со сшивателем, в качестве которого использовали диакрилат полиэтиленгликоля.

Пленочные изделия из аллилхитозана почти не меняли своих механических характеристик после облучения, однако интенсивность рассеяния при исследовании рентгеновской дифрактографией заметно снижалась, свидетельствуя о снижении упорядоченности в пленке после облучения лазером.

Существенного изменения механических свойств материалов на основе аллилхитозана удается добиться при добавлении ПЭГ диакрилата. Добавление сшивателя, очевидно, с одной стороны способствовало полимеризации за счет повышения концентрации двойных связей в образце, а с другой – за счет повышения активности мономера. При этом автору удалось получить прозрачные материалы, восстанавливающие форму после деформации.

При набухании полученных материалов в воде их объем увеличивался в 4-6 раз, причем изменения были совершенно обратимыми. Высокая совместимость с тканями организма, отсутствие токсичных экстрагируемых веществ и высокая гидрофильность, делают эти материалы перспективными для имплантации в мягкие ткани. Облучение лазером после введения в материал фотоинициатора позволило вызвать отверждение материала, что привело к созданию материалов, восстанавливающих форму после деформации.

Обработка материалов на основе хитозана сверхкритической углекислотой позволило очистить материал от незаполимеризованных компонентов, что на 1-2 порядка увеличивает модуль упругости материала. При этом отверждение материала в направлении лазерного луча позволяет создавать уникальный рельеф, вкладывая в материал направление роста клеток. Автором показано, что материалы на основе аллилхитозана со степенями замещения 10-20% поддерживали рост клеток и ни некротические, ни воспалительные реакции при имплантации не наблюдались. Таким образом, описанный в работе материал может быть применим для имплантации пациентам, причем его резорбция начинается через примерно 60 дней.

В четвертой главе автор переходит к описанию материалов на основе коллагена: УФ-облучение коллагеновых губок вызывало появление в них спинов, по всей видимости, за счет армирования тройной спирали коллагена. При этом дополнительное увеличение модуля упругости таких сеток можно было добиться за счет введения полилактида с концевыми метакрилатными группами. Интересно, что площадь отвержденного материала увеличивалась с ростом времени воздействия лучом лазера. Было установлено, что введение полилактида с концевыми метакрилатными группами улучшает механические свойства почти на порядок и практически не влияет на цитотоксичность полимерного материала. Была показана способность этого материала поддерживать пролиферацию мезенхимальных стволовых клеток костного мозга человека, что дает возможность надеяться на дальнейшее использование таких материалов в тканевой инженерии.

В пятой главе автор рассматривает пленочные материалы на основе композиций коллагена и метакрилоилированных производных разветвленного полилактида. Автору удалось проследить модификацию коллагенового основания после воздействия лазерного луча. Фотополимеризация приводила к армированию материала с образованием очень прочных участков с модулем упругости в 4 раза больше, чем у исходного коллагена. Полученные пленки характеризовались прекрасной совместимостью с клетками и также могли использоваться в тканевой инженерии.

В 6 главе диссертации автор ставит перед собой задачу добиться микроструктурирования, т.е., используя программируемое движение лазерного луча, добиться образования в материале ячеек определенной формы, пригодных для решения конкретных медицинских задач. Для этих целей автору пришлось использовать сополимеры хитозана с уже предварительно привитыми к нему олиголактидами и производные хитозана, содержащие, так же, как и в предыдущей части работы, аллильные группы. Полученные материалы характеризовались очень привлекательными механическими свойствами. Была обнаружена хорошая совместимость трехмерных структур с первичной культурой гиппокампа и формирование на поверхности материалов морфологически полноценной нейронной сети. Таким образом, полимерные структуры обладают хорошей совместимостью с дифференцированными клетками нервной системы и могут быть использованы при нейротрансплантации.

Несмотря на то, что в процессе выполнения работы все поставленные перед диссертантом задачи были полностью решены, работа не свободна от некоторых недостатков.

- 1) При написании работы автор обнаружил прекрасное владение материалом и всеми деталями работы, но не счел необходимым провести обобщения и попытаться взглянуть на свою работу с точки зрения общенаучного контекста. Работа бы сильно выиграла, если бы в начале каждой новой части автор подробно обсуждал, как устроен тот тип материалов, которые используются в данном разделе и что удалось выяснить нового.
- 2) Новые и вторичные результаты излагаются вперемешку, автор не пытается вычлнить новые результаты и сравнить полученные в работе результаты с материалами недавно опубликованных работ других авторов.
- 3) На стр. 111 при обсуждении возможных побочных процессов при получении пленочных гибридных материалов полоса при 879 см^{-1} интерпретируется как эпоксидная группа. Меня удивила эта трактовка, поскольку образование эпоксида в водной среде представляется несколько сомнительным.
- 4) Из текста работы я не понял, каким образом водонерастворимый полилактид смешивали с коллагеновой губкой для достижения его равномерного распределения по образцу?

Несмотря на перечисленные замечания, рецензируемая диссертационная работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденных постановлением Правительства Российской Федерации № 842

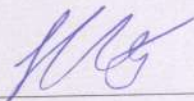
от 24 сентября 2013 г., предъявляемым ВАК России к кандидатским диссертациям, а её автор, Бардакова Ксения Николаевна, заслуживает присвоения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.7 – Высокомолекулярные соединения.

Официальный оппонент:

Ведущий научный сотрудник Химического факультета Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова

Доктор химических наук (1.4.7 – Высокомолекулярные соединения)

Мелик-Нубаров Николай Сергеевич



Н.С. Мелик-Нубаров

«30» сентября 2024 г.

119234, г. Москва, лабораторный корпус «А», Ленинские горы, д. 1, корп. 40

Тел.: (495) 939-31-27, e-mail: melik.nubarov@belozersky.msu.ru

Подпись д.х.н. Мелик-Нубарова Николая Сергеевича заверяю

