

ОТЗЫВ

Официального оппонента Головановой Ольги Александровны на диссертационную работу Гречишниковой (Форысенковой) Анны Александровны «Биосовместимые композиционные материалы на основе альгинат-поливинилпирролидон-фосфаты кальция», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 2.6.14 - Технология силикатных и тугоплавких неметаллических материалов (технические науки)

Диссертация Гречишниковой (Форысенковой) А.А. посвящена актуальной задаче — созданию костнозамещающих материалов, сочетающих биоактивность неорганической фазы (фосфатов кальция) с пластичностью и регулируемой деградацией полимерной матрицы (альгинат-ПВП). Работа выполнена на стыке химии высокомолекулярных соединений и технологии неметаллических материалов. В работе показано, что композиты на основе альгината, поливинилпирролидона и фосфатов кальция рассматриваются как перспективная платформа для создания биосовместимых барьерных мембран и трехмерных высокопористых матриксов (скэффолдов) для направленной регенерации костной ткани. Потребность в эффективных остеопластических материалах остается высокой. Традиционные керамические имплантаты часто обладают избыточной хрупкостью, а полимерные — недостаточной биоактивностью. Анна Александровна предлагает оригинальное решение через создание гибридных композитов, что полностью соответствует приоритетным направлениям развития науки и технологий.

Научная новизна диссертационной работы заключается в разработке физико-химических основ получения нового поколения биосовместимых композитов в системе «органическая матрица — неорганический наполнитель».

К наиболее значимым результатам относятся:

- ✓ Впервые научно обоснован и реализован принцип формирования биodeградируемых композитов на основе комбинации природного полисахарида (альгината натрия), синтетического водорастворимого полимера (поливинилпирролидона) и биоактивных фосфатов кальция;
- ✓ Установлен характер синергетического влияния ПВП на структуру альгинатного гидрогеля. Показано, что введение поливинилпирролидона позволяет регулировать плотность сшивки полимерной сетки. Предложен и методами ЯМР и ЭПР подтвержден механизм сшивки альгината двухвалентными катионами. Ионы Ca^{2+} формируют редкую сетку поперечных связей (модуль упругости 1,2 ГПа), тогда как Mn^{2+} дают слабые взаимодействия с увеличенным расстоянием между ионами (модуль 0,5 ГПа). Катионы Sr^{2+} связываются как с карбоксильными, так и с гидроксильными группами, создавая более частую сетку (модуль 1,7 ГПа). Максимальную плотность сшивок обеспечивают ионы Cu^{2+} (модуль 4,2 ГПа).

✓ Раскрыта роль полимерной матрицы как темплата (матрицы-шаблона). автором установлена нелинейная зависимость вязкости суспензий поливинилпирролидон-альгинат-карбонатгидроксиапатит (КГА) от содержания неорганического наполнителя: при повышении доли КГА с 10 до 30 мас.% вязкость падает, а при дальнейшем увеличении до 50 мас.% – вновь возрастает. Это позволило предложить составы для синтеза пористых структур с заданными параметрами: при 10 мас.% КГА – пористость 85% и размер пор 320 мкм; при 30 мас.% – 71% и 170 мкм; при 50 мас.% – 84% и 300 мкм.

✓ Получены новые данные о скорости растворения композиционных материалов. Установлено, что скорость биodeградации и регенеративный потенциал композитных пленок зависят от их состава. Пленки ПВП/альгинат без наполнителя полностью резорбируются за 7 суток. Такой же срок деградации характерен для композитов с 5% КГА, при этом частицы фосфата кальция сохраняются, оставаясь окруженными здоровой грануляционной тканью. В отличие от них, пленки ПВП/альгинат, дополнительно сшитые ионами Ca^{2+} , не разрушаются в течение 7-дневного наблюдения.

✓ Все исследованные образцы продемонстрировали биосовместимость, активировали гены, связанные с репаративными процессами, и не индуцировали образование фиброзной ткани. Таким образом, показано, что варьирование соотношения состава материалов позволяет программировать сроки деградации имплантата в соответствии со скоростью регенерации костной ткани.

Практическая значимость диссертационного исследования заключается в разработке воспроизводимых технологических регламентов получения биосовместимых композиционных материалов с заданным комплексом физико-химических и эксплуатационных свойств.

К основным практическим результатам относятся: режимы получения пористых композитов (концентрации исходных золь, параметры сублимационной сушки и режимы химической сшивки), что позволяет получать материалы с воспроизводимой микроструктурой и открытой пористостью. Предложены разные составы материалов с регулируемым периодом биodeградации, это дает возможность подбирать конкретный тип материала в зависимости от клинической задачи: от заполнения небольших дефектов до использования в качестве носителей лекарственных веществ.

Результаты работы могут быть использованы при разработке ТУ (технических условий) на новые виды костнопластических материалов.

Личный вклад автора выражается в разработке дизайна исследования, непосредственном проведении экспериментов, обработке и интерпретации полученных данных, подготовке публикаций и патента.

Достоверность результатов обеспечена использованием комплекса взаимодополняющих физико-химических методов, воспроизводимостью

экспериментальных данных и их согласованностью с опубликованными литературными данными.

Структура и объем диссертации. Работа состоит из введения, шести глав (включая аналитический обзор, экспериментальную часть, изложение и обсуждение результатов), заключения и списка литературы из 201 наименования. Диссертация изложена на 116 страницах, содержит 38 рисунков и 12 таблиц.

Содержание работы:

Во введении обоснована актуальность, сформулированы цель и задачи, отражены научная новизна и практическая значимость, приведены защищаемые положения.

Первая глава (обзор литературы) освещает современное состояние исследований в области композиционных минерал-полимерных материалов медицинского назначения: свойства биосовместимых полимеров, методы получения, структуру гидроксиапатита (ГА) и карбонатгидроксиапатита (КГА), а также аргументирует выбор ПВП и альгината натрия в качестве полимерной матрицы.

Во второй главе приведены сведения об исходных веществах, подробно описана методика синтеза КГА осаждением, способы получения пленочных и объемных пористых композитов, включая формование, сушку, сшивку в растворах солей Ca^{2+} , Ba^{2+} , Sr^{2+} , Cu^{2+} (для пленок) и последующую лиофилизацию (для пористых образцов).

Третья глава посвящена фазовому и химическому анализу КГА и композитов на его основе, исследованию вязкости суспензий, а также механизмам сшивания альгината ионами Ca^{2+} , Sr^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} с применением ЯМР и ЭПР. Показано, что вязкость растворов альгината экспоненциально растет с концентрацией (выше 2,5 мас.% измерение невозможно из-за электростатического набухания), тогда как для ПВП зависимость линейная. При добавлении 10–40 мас.% КГА кинематическая вязкость суспензии снижается (вероятно, за счет экранирования зарядов), а при 50 мас.% – возрастает. Динамическая вязкость суспензий с 10 и 50% КГА близка (1290 и 1308 Па·с), тогда как для 30% КГА она значительно ниже (780 Па·с). Спектральные методы показали, что Ca^{2+} связывается преимущественно с COO^- -группами, тогда как Sr^{2+} – дополнительно с OH -группами; Cu^{2+} , благодаря малому ионному радиусу, образует максимально плотную сшитую сетку.

В четвертой главе рассмотрено влияние состава и наличия поперечных связей на микроструктуру, набухание, механические свойства при растяжении и термическую стабильность пленок. Степень набухания для композита с 5% КГА составила 325%; сшитые Ca^{2+} пленки набухают лишь на 150% (что коррелирует с уменьшением пористости по данным СЭМ). Присутствие ПВП в смесевых пленках снижает модуль упругости и увеличивает относительное удлинение, делая материал более гибким. В случае сшивки Mn^{2+} добавление ПВП не меняет модуль, но удваивает прочность и удлинение. Сшивание

нетоксичными и биоактивными катионами Ca^{2+} и Sr^{2+} позволяет получать влажные пленки, обладающие прочностью, сопоставимой с коммерческими аналогами, и одновременно хорошей эластичностью.

Пятая глава посвящена объемным пористым композитам на основе матрицы ПВП:Алг (1:1) с добавлением 10–50 мас.% КГА. Материал имеет ячеистую структуру с порами неправильной формы размером 170–330 мкм и толщиной стенок 10–20 мкм; частицы КГА (≤ 20 мкм) равномерно распределены в стенках. Пористость исходного образца без наполнителя – 95 об.%, при увеличении содержания КГА до 40 мас.% она падает на 25 об.%, а средний размер пор сокращается с 325 до 166 мкм. Кажущаяся плотность закономерно растет с увеличением доли наполнителя. Кривые сжатия типичны для макропористых материалов: образцы легко деформируются, поры ориентируются перпендикулярно нагрузке, при этом после снятия нагрузки возможна полная или частичная обратимая деформация.

Шестая глава содержит результаты биологических испытаний *in vitro* и *in vivo*. Композиты не цитотоксичны: выживаемость клеток на поверхности пленок ПВП-Алг и композитов с КГА составляет $95 \pm 5\%$. Клетки фибробластов и пульпы зуба слабо адгезируют к чистым полимерам, но введение КГА улучшает адгезию и жизнеспособность. На модели брюшной спайки у мышей показано, что все исследованные материалы не только биосовместимы, но и стимулируют экспрессию генов, отвечающих за гемостаз, фибринолиз и пролиферацию здоровых клеток. Несшитые пленки полностью резорбируются из операционного поля.

Заключение. В выводах сформулированы главные результаты работы.

Публикации и апробация. Основные положения работы опубликованы в 7 статьях в ведущих рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, а также в 1 патенте РФ. Результаты представлены на 10 всероссийских и международных конференциях.

Автореферат Анны Александровны Гречишниковой (Форысенковой) полностью соответствует содержанию её кандидатской диссертации.

К работе имеются следующие вопросы и замечания:

1. В тексте диссертации отсутствует прямое сопоставление текстурных характеристик синтезированных композитов с морфологическими параметрами нативной костной ткани. Проведение такого сравнения позволило бы более обоснованно судить о биомиметическом потенциале разработанных материалов».
2. Автор утверждает, что в ходе жидкофазного синтеза *in situ* им был получен карбонатзамещенный гидроксиапатит (КГА). Однако в диссертации отсутствует строгое физико-химическое доказательство изоморфного замещения фосфатных группили ОН-групп на карбонат-ионы в решетке ГА. Приведенные ИК-спектры (рис. 9) не содержат

спектр ГА и лишь фиксируют наличие карбонатных групп, но не позволяют дифференцировать, произошло ли замещение типа А или Б.

3. В работе утверждается, что термическая обработка композиционных материалов проводилась при температуре 900 °С. Однако хорошо известно, что интенсивный процесс декарбонизации карбонатзамещенного гидроксиапатита (КГА) с удалением диоксида углерода из кристаллической решетки протекает в интервале температур 600–800 °С. В связи с этим возникает сомнение в возможности сохранения карбонат-иона в твердой фазе после отжига при 900 °С. Автору следовало экспериментально доказать (например, методом высокотемпературной ИК-спектроскопии или ТГА-МС), что полученный после термообработки продукт действительно является КГА, а не перешел в фазу стехиометрического гидроксиапатита или трикальцийфосфата».

4. Стр. 39 текст «Для сшивания высушенные пленки помещали в раствор CaCl_2 , BaCl_2 , SrCl_2 , CuSO_4 , $\text{Mn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ в концентрациях 0,5 М на 10 минут, после чего сшитые пленки промывали 2 раза в дистиллированной воде...» - автор использует растворы солей в весьма высокой концентрации. Известно, что ионы бария, меди и марганца обладают выраженной системной токсичностью и цитотоксичностью даже в следовых количествах. Двукратная промывка пленок в дистиллированной воде может быть недостаточной для полного удаления несвязанных ионов из объема пористой полимерной матрицы. В связи с этим в работе возникает явное противоречие между заявленной биосовместимостью композитов и потенциальной токсичностью агентов сшивания. Автору следовало представить данные по кинетике вымывания (десорбции) данных металлов в физиологический раствор.

5. Стр.45 - Использование деионизированной воды для оценки растворимости биомедицинских материалов в п. 2.3.12 является методологически некорректным, так как не моделирует физиологические среды организма и искажает реальную скорость резорбции. Эксперимент в деионизированной воде провоцирует неестественный гидролиз и вымывание компонентов, что требует обоснования цели теста (например, для технологического контроля вымывания избыточного ПВП) или использования физиологических растворов (PBS/SBF).

6. Стр. 70 – текст «Это связано с устранением отталкивания заряженных цепочек альгината: описана возможность контроля размера пор полиэлектролитных мембран за счет добавления соли, которая снимает взаимное отталкивание заряженных полимерных молекул...» - о какой конкретно соли идет речь, по тексту не понятно.

7. Стр. 81 – текст «Чем больше содержание КГА, тем более выражена деформация и измерение ориентации пор, наиболее это заметно для композитов, содержащих от 25 мас.% КГА...» - каким методом определялась ориентация пор?

8. Погрешности в оформлении диссертации: стр. 12 – 13, два одинаковых абзаца текста «Диссертационная работа выполнена при поддержке гранта РНФ по теме «Пористые

композиционные материалы на основе биорезорбируемых биосовместимых полимеров медицинского назначения, содержащих фосфаты кальция, для регенеративной медицины» (№ 22-23-00278), а также грантом «УМНИК» по теме «Разработка биodeградируемого минерал-полимерного материала для восстановления костной ткани»; стр. 48 – оформление ссылок; стр. 66 – выравнивание текста; погрешности в списке литературы, оформление не по ГОСТу Р 7.0.5-2008 / ГОСТ Р 7.0.11-2011 и др.

Указанные замечания не снижают общего благоприятного впечатления о работе.

Диссертационная работа Гречишниковой А.А. по своей актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований, практической значимости полученных результатов является завершенной научно-квалификационной работой и соответствует требованиям п. 9 Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 №842 (в действующей редакции) «О порядке присуждения ученых степеней (вместе с Положением о присуждении ученых степеней), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Тема и содержание диссертационной работы соответствуют паспорту специальности 2.6.14 – Технология силикатных и тугоплавких неметаллических материалов, а автор работы, Гречишникова Анна Александровна, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата технических наук по специальности 2.6.14 – Технология силикатных и тугоплавких неметаллических материалов.

Официальный оппонент,

Д. г.-м. н. (25.00.05 - минералогия, кристаллография), профессор, зав. кафедрой неорганической химии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Омский государственный университет им. Ф.М. Достоевского»

(ОмГУ им. Ф.М. Достоевского)

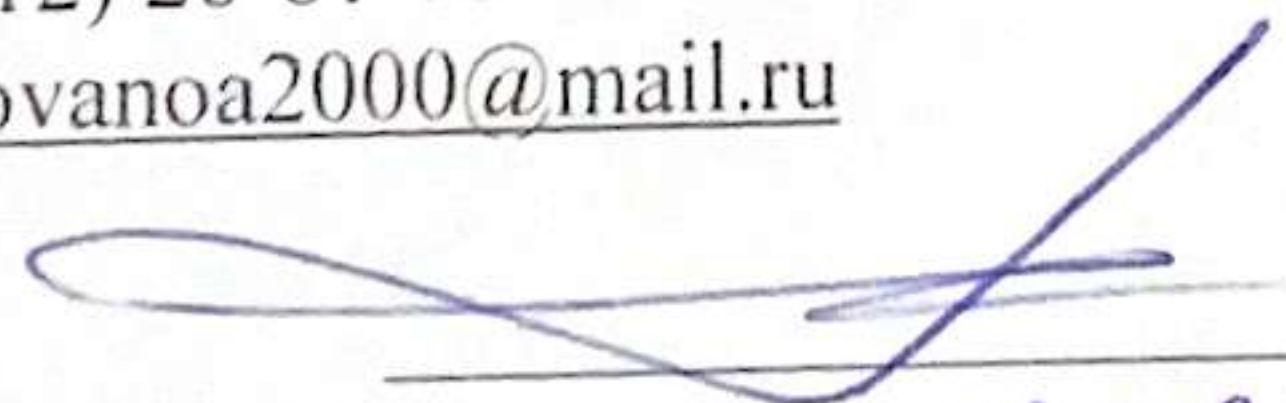
Контактная информация:

644077, г. Омск,

ул. Пр. Мира 55А

тел. +7 (3812) 26-81-99

e-mail: golovanoa2000@mail.ru



Голованова Ольга Александровна

18.08.26

Подпись О.А. Головановой заверяю

Ученый секретарь ученого совета

ФГАОУ ВО «ОмГУ им. Ф.М. Достоевского»



О.С. Рогалева