

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора технических наук, профессора Чешковой Анны Владимировны на диссертационную работу Фидоровской Юлии Сергеевны на тему: «*Разработка лечебных материалов на биополимерной основе комплексного действия для лечения инфицированных ран*», представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.17.06 – Технология и переработка полимеров и композитов

Актуальность работы. Важнейшей задачей нашей страны в прежние годы и на сегодняшний день является сохранение здоровья и улучшение качества жизни людей, оказание медицинской и профилактической помощи населению. В современной медицине проблема лечения ран решается как хирургическими манипуляциями так и (или) применением современных ранозаживляющих материалов. Задача своевременного лечения ран, полученных в экстремальных, в т.ч. военно-полевых ситуациях, в производственных условиях и в быту остается актуальной задачей, требующей поиска новых решений, основанных на использовании современных знаний и практик. Усовершенствованных, современных подходов требует лечение гнойных ран с резистентной микрофлорой, в т.ч. вследствие осложнений при хирургических вмешательствах. Одним из путей решения данных задач возможно путем создания новых материалов на полимерной основе с пролонгированным лечебным действием. Поэтому разработка лечебных полимерных изделий, полученных с использованием «зеленых технологий», биополимеров и других природных компонентов является **актуальной** научно-исследовательской и практической **задачей**.

Выполненная Ю.С. Фидоровской научно-исследовательская работа, представленная в качестве диссертационной, заключается в разработке научно-обоснованной полимерной композиции для лечения гнойных ран на I-II стадиях раневого процесса и технологии получения как самой композиции, так и медицинских изделий, основой которых она является, а именно гидрогелевых материалов, которые ее содержат в своем составе, и текстильных аппликаций (текстильных салфеток) с нанесенной по технологии печати лечебной композицией. Особенность этой лечебной композиции и **новизна** подхода к ее созданию, предложенная диссертантом, заключается в комплексном одновременном использовании в составе компонентов и лекарств, необходимых для лечения каждой стадии раневого процесса, а именно I стадии (протеолитический фермент), I - II стадии-фермент и антимикробный препарат, III-(I-III)-биополимер с лечебными свойствами, способствующий восстановлению (регенерации) тканей.

Таким образом, можно констатировать, что диссертантом с целью повышения качества жизни и эффективности лечения пациентов хирургического профиля, имеющих гнойные раны, представлена научно-обоснованная технологическая схема получения медицинских изделий. Они включают лечебную текстильную салфетку и гидрогель, содержащие полимерную композицию с лечебными свойствами, которая позволяет одновременно сохранить с целью лизиса (растворения) белкового содержимого раневого отделяемого протеолитическую активность ферментного препарата папаина (в работе обосновано его использование) и стабилизировать антимикробный эффект препарата на основе нитрата серебра, за счет формирующихся под действием восстановителя биополимера альгината натрия наночастиц, что основано на использовании такого

технологического приема как предварительная раздельная иммобилизация активных компонентов в биополимерах. Этот подход определяет как **научную новизну, так и практическую значимость** представленной диссертационной работы.

Цель работы – создание нового лечебного полимерного композиционного состава и технологии получения медицинских изделий, содержащих созданную композицию. Для достижения максимального лечебного эффекта в результате применения разработанных изделий предполагаются две выпускные формы – лечебная аппликация (салфетка) на текстильной основе и гидрогель, включающие протеолитический фермент и антимикробный компонент - нитрат серебра для лечения гнойных ран на I-II стадии, а также биополимер альгинат натрия для регенерации поврежденных тканей и иммобилизации указанных лечебных компонентов.

Структура и объем работы. Диссертационная работа построена по классической схеме и имеет в своей структуре введение, литературный обзор, обсуждение результатов, выводы и список цитируемой литературы, состоящий из 175 источников. Работа изложена на 176 страницах, включает 50 рисунков и 32 таблицы.

Во введении автор обозначает основную цель и актуальность представленного исследования, характеризует научную новизну и практическую значимость работы.

Литературный обзор позволяет сформировать полное представление об изучаемой проблеме, а именно, об особенностях лечения гнойных ран, имеющих резистентность к широкому спектру применяемых антибиотиков, разнообразию применяемых ферментных препаратов и изделий на биополимерной основе, используемых с указанной целью. Большой интерес представляет анализ биополимеров и современных изделий с использованием природных и синтетических полимеров. Обозначены актуальные вопросы, возникающие в ходе разработки технологического процесса получения лечебных изделий с комбинированным составом.

В **методической части** представлены изучаемые препараты и сырье, отражены современные методики, с помощью которых получены экспериментальные данные, формирующие основные параметры разработанных изделий, необходимые соотношения активных компонентов и полимеров для создания эффективных лечебных изделий. Методы реологической оценки позволили остановиться на выборе оптимальной концентрации основного полимера в композиции-альгината натрия, а также установить влияние на его вязкость введения активных и вспомогательных компонентов. Особый интерес представляют данные по изучению взаимодействия биополимера альгината натрия с ферментом папаином, представленные распределением сформированных комплексов в зависимости от размера при применении метода динамического светорассеяния. В методической части освещена методика подтверждения наличия наночастиц серебра в структуре альгината натрия, что сделано с применением такого современного метода исследования, как зондовая микроскопия как в присутствии фермента папаина, так и без него. Среди описанных методик исследования целесообразным следует считать применение методики спектрофотометрии при оценке изменений в системе альгинат натрия-нитрат серебра как в присутствии щелочного агента 1% Na_2CO_3 , так и без него с целью подтверждения формирования кластеров Ag_8^{2+} .

Разработанная автором методика моделирования раневого содержимого композицией из гидролизата животного коллагена и введением морского коллагена с приближенным к человеческому аминокислотным составом, позволяет наглядно оценить действие ферментного препарата в присутствии металла. Методика представляется очень интересной, доказательной и ранее не используемой при проведении подобных экспериментов.

Использование Ю.С. Фидоровской методики Лоури по оценке содержания белка в рамках массопереноса фермента из готового изделия позволяет оценить как эффективность готового изделия, так и временные рамки его использования, что необходимо при разработке лечебного изделия. Важным является применение различных методов, а именно Кунитца и Ансона для определения активности фермента. Интересной следует считать методику Ансона для анализа диссертантом активности папаина с использованием гемоглобина в качестве субстрата, который является одним из компонентов раневого содержимого, а также позволяющую получить данные по протеолитической активности папаина в присутствии металла (серебра). Таким образом, данные по использованию двух методов определения протеолитической активности – Кунитца и Ансона позволяют более точно и доказательно оценить поведение фермента как в нативной форме, так и при десорбции в белковую раневую среду из лечебного материала, что существенно повышает доверие к полученным результатам и их значимость. При выборе текстильного материала в качестве основы для создания лечебных салфеток анализируются такие показатели, как привес, pH водной вытяжки текстильной основы по установленным ГОСТам, анализируются гемостатические свойства согласно нормативам доклинических исследований Минздрава России.

В методической части диссертации приведены методы исследования как соответствующие ГОСТам, так и специально разработанные автором для проведения исследования, что позволяет получить широкий спектр воспроизводимых результатов для их дальнейшего анализа.

В экспериментальной части Ю.С. Фидоровская, хорошо понимая цель работы и владея методологией и методиками проведения научных исследований, поэтапно решает задачи, необходимые для получения желаемого конечного результата. В частности, обоснован выбор протеолитического фермента растительного происхождения, выбрана оптимальная его концентрация. С учетом особенностей технологии создания лечебных изделий, накладываемых на раны, а именно, необходимости стадии стерилизации материалов, понимая возможность инактивации фермента под действием гамма-стерилизации (ионизирующего облучения), диссертант ищет пути стабилизации протеолитической активности. Автором рассмотрены варианты иммобилизации фермента в различных полимерах и выбраны биополимеры и методы физической, а не химической иммобилизации. Аргументировано доказана целесообразность использования для целей физической иммобилизации натриевой соли альгиновой кислоты (альгината натрия), что связано с реологическими свойствами этого полимера и его функциями пролекарства.

Интересен и доказателен материал, посвященный рассмотрению реологических свойств лечебной композиции на основе альгината натрия и фермента папаина, выборе концентрации полимера с точки зрения осуществления технологического процесса получения готовых изделий – лечебных гидрогелей и салфеток. При прочтении диссертации, в т.ч. рассматриваемого раздела, чувствуется четкое понимание автором принципов построения технологического процесса,

знание технологии, понимание технологических сложностей, возникающих в процессе создания материалов комплексного действия. Это очень важно, особенно учитывая, что Ю.С.Фидоровская является соискателем степени кандидата технических наук.

В научном плане наиболее интересен раздел, посвященный выбору антимикробного агента, в качестве которого использован нитрат серебра, оценка поведения нитрата серебра в гидрогеле альгината натрия и возможность его взаимодействия с ферментом папаином. Выбор AgNO_3 обусловлен широким спектром действия в отношении резистентных штаммов микроорганизмов, а также известным из научной литературы фактом образования при его восстановлении наночастиц, обладающих в низких концентрациях высокой антимикробной активностью. Автор обдуманно использует в качестве восстановителя альгинат натрия, который в этом случае приобретает дополнительные для осуществляемой технологии функции. Известно, что для перевода ионов серебра в наноформу нужна щелочная среда. Ю.С. Фидоровская, имея медицинское образование, учитывает, что для лечения рассматриваемых в диссертации ран желателен рН ран 6,5-7,5. Зная, что альгинат может в нужной степени не обеспечить эти показатели, она вводит в лечебную композицию Na_2CO_3 , добиваясь как перевода ионов серебра в наноформу, так и наилучших условий для лечения раневого процесса. Такие решения позволяют говорить о соискателе, как о специалисте, способном решать комплексные задачи и владеющем широкими знаниями как в полимерной химии и технологии получения лечебных материалов, так и в области их применения, в частности, в хирургической практике. Диссертант с помощью современных методов исследования (спектрофотометрия, зондовая микроскопия) подтверждает образование наночастиц серебра и доказывает наличие антимикробного эффекта композиции (с помощью оценки зоны задержки роста КОЕ). Зная о негативном влиянии металлов на протеолитическую активность ферментов, диссертант рассматривает этот важный вопрос и констатирует отсутствие серьезной потери протеолитической активности папаина в присутствии AgNO_3 . Также важно утверждение о наличии в композиции соли серебра как в ионной форме, так и в виде наночастиц, при этом оба состояния определяют антимикробный эффект, позволяя использовать AgNO_3 в низкой концентрации (0,05%).

Таким образом, диссертант четко обосновал состав лечебной композиции, в которую входят:

- протеолитический фермент папаин для лизиса белкового гнойного отделяемого (I -я стадия антираневого процесса)
- антимикробный препарат нитрат серебра (I-II стадия раневого процесса)
- биополимер альгинат натрия для регенерации (восстановления) поврежденных тканей и иммобилизации активных компонентов (фермента).

Однако, при осуществлении технологических операций приготовления композиции автор столкнулся с определенными трудностями, а именно с инактивацией фермента при приготовлении полимерной матрицы и при операции гамма-стерилизации (диссертант не изучает отдельно и не регулирует условия стерилизации, пользуясь рекомендованными Минздравом РФ значениями). Чтобы предотвратить падение активности фермента, Ю.С. Фидоровская предлагает интересный, оригинальный вариант (заявка на патент, приоритет от 10.08.2021). Она заранее иммобилизует фермент и соль серебра в гелях полимеров как в защитных коллоидах, выбор которых детально обосновывает, а уже потом

соединяет эти гидрогели в конечную композицию. Такой подход позволяет сократить потерю активности фермента. Диссертант на каждом этапе технологического процесса борется за результат – сокращение потери активности, сохранение свойств фермента и антимикробного препарата – и добивается этого, реализуя оптимальные с этих позиций условия приготовления композиции, нанесения на текстильную основу, сушки и т.д. Интересно, что для получения лечебных салфеток (аппликаций) с поверхностным альгинатным слоем, содержащим папаин и нитрат серебра, автор использует технологию текстильной печати, заранее объясняя, что хочет внедрять диссертационную работу на производстве ООО «Колетекс», использующем эту технологию.

Для осуществления этого процесса и создания аппликаций Ю.С.Фидоровская провела большую исследовательскую работу, выбрав текстильный материал с учетом свойств, необходимых для предлагаемой технологии и области использования аппликаций (салфеток), таких как влагоемкость, прилегаемость и т.д. Как технологом ею рассмотрены условия нанесения композиции через шаблон, вязкость композиции, число проходов ракля, температура сушки. Используя фермент папаин, «работающий» при температуре до 60°C, предложено увеличить температуру и скорость сушки, тем самым снизить потерю протеолитической активности фермента за счет гидролиза. Все сказанное выше позволило разработать две технологические схемы получения лечебных материалов для лечения гнойно-некротических вялотекущих ран, а именно гидрогелевого материала на основе альгината натрия, фермента и соли серебра и текстильной салфетки, содержащей эту композицию.

Технологические схемы создания указанных изделий детально проработаны, автором создан и утвержден технологический регламент получения указанных материалов-гидрогеля и лечебной салфетки. Бесспорно, положительным моментом представленной диссертации является тот факт, что после проведения регламентированного токсикологического изучения и клинических апробаций созданные материалы допущены для реализации в РФ и уже сегодня успешно используются пациентами и врачами для лечения гнойных ран.

Научная новизна рецензируемой работы отражена в получении новых медицинских изделий с разработанным и научно обоснованным в диссертации комплексным составом, включающим протеолитический фермент папаин и соль серебра, а также в возможности сохранения активности фермента в присутствии металла (AgNO_3) посредством раздельной иммобилизации активных компонентов в полимерах (папаина-в гидроксипропилметилцеллюлозе, нитрата серебра – в альгинате натрия). Научно обоснован состав полимерной композиции, проанализировано соотношение полимеров, обеспечивающие необходимые вязкостные параметры лечебного гидрогеля после этапа гамма-стерилизации и свойства лечебной аппликации. Диссертантом, с целью обеспечения расширенного антимикробного эффекта, проанализировано и обосновано применение нитрата серебра, а также создание необходимых условий для формирования наночастиц серебра в среде восстановителя альгината натрия. Доказано, что антимикробный эффект обеспечивает как частицы серебра в ионной форме, так и наночастицы серебра. Продemonстрировано сохранение протеолитической активности фермента папаина в среде полимеров при одновременном присутствии ионов и наночастиц серебра. Подтверждает данный аспект заявка на патент (приоритет от 10.08.2021),

Практическая значимость очевидна и заключается в том, что разработанные лечебные изделия позволяют увеличить ассортимент на отечественном рынке лечебных салфеток и гидрогелевых средств на основе биополимеров, предназначенных для лечения инфицированных ран. Полученные документы Росздравнадзора позволяют осуществлять выпуск и реализацию готовой продукции.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений, поскольку полученные данные основаны на применении современных методов анализа, таких как зондовая микроскопия, реологические исследования полимеров, спектрофотометрический анализ, метод светорассеяния и другие гостированные методы, используемые для анализа свойств полученных лечебных материалов и взаимодействия активных компонентов.

Апробация работы. Автор диссертации представил результаты исследования на российских и международных конференциях, а именно, на XXII Международном научно-практическом форуме «Физика волокнистых материалов» Smartex-2019, XXIII Международном научно-практическом форуме «Физика волокнистых материалов» Smartex-2020, XI Международной конференции «Биоматериалы и нанобиоматериалы»-2020, Национальной молодежной научно-технической конференции 2021. Работа Ю.С.Фидоровской получила 1 место на Всероссийском конкурсе научно-технических проектов «Легпромнаука»-2021.

Публикации. Основное содержание работы достаточно полно отражено в публикациях, изложено в виде 9 печатных работ, из них 3 опубликованы в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, и 6 работ представлены в материалах научных конференций различных уровней.

Результаты, научные положения, выводы и рекомендации, представленные в диссертационной работе, соответствуют поставленной цели. Разделы диссертации имеют четкую структуру, характеризуются последовательностью изложения и логичностью выводов. Автореферат соответствует содержанию диссертации, в полной мере отражает основные результаты, научные и практические положения диссертационной работы.

Замечания по работе:

1. Чем обусловлен выбор соли серебра как антимикробного компонента? На сегодняшний день существуют разные формы препаратов, содержащих ионы различных металлов.
2. Почему из всех множества эндопротеаз выбран именно папаин? Существует ли отечественный ферментный препарат микробного происхождения аналог выбранному препарату?
3. Каким образом происходит взаимодействие фермента с катионами серебра?
4. Каков типичный состав патогенной микрофлоры гнойной раны? С чем придется «бороться» с помощью создаваемых лечебных материалов? Не будут ли мешать друг другу фермент папаин и антимикробный препарат на основе серебра в процессе ранозаживления?
5. С чем связано падение вязкости альгината натрия во время технологического процесса получения гелей?
6. Каким образом будет влиять pH среды раневого экссудата на активность фермента эндопротеазы папаина и диффузию лечебного компонента из текстильной салфетки на целевой субстрат? Насколько устойчив выбранный фермент к изменением pH среды?

7. Желательно объяснить более четко за счет чего обеспечивается пролонгированный эффект создаваемого медицинского изделия? В диссертационной работе отсутствует подробное и обоснованное объяснение этого эффекта.

8. Желательно более четко и доказательно обосновать роль вспомогательных компонентов, вводимых в разрабатываемую композицию (глицерин, эуксил, ГПМЦ)?

9. Не достаточно объяснен выбор конкретных параметров текстильных материалов как для реализуемой технологии (получения лечебных аппликаций), так и для эффективного использования этих материалов.

10. Желательно подробнее осветить результаты клинических испытаний созданных материалов, что позволяет уже сегодня более обосновано говорить об актуальности и практической значимости диссертационной работы.

Отмеченные замечания носят рекомендательный характер, не снижают значимости представленных в диссертационной работе результатов и не влияют на корректность полученных выводов и научных положений.

Соответствие диссертации паспорту специальности. Диссертация Фидоровской Ю.С. «Разработка лечебных материалов на биополимерной основе комплексного действия для лечения инфицированных ран» соответствует паспорту специальности 05.17.06 – «Технология и переработка полимеров и композитов», а именно: п.2 «Физико-химические основы технологии получения и переработки полимеров, композитов и изделий на их основе, включающие стадии синтеза полимеров и связующих, смешение и гомогенизацию композиции, изготовление заготовок или изделий, их последующей обработки с целью придания специфических свойств и формы».

Заключение. Диссертация Фидоровской Юлии Сергеевны «Разработка лечебных материалов на биополимерной основе комплексного действия для лечения инфицированных ран» является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решены важные научные и практические вопросы, касающиеся разработки технологии получения лечебных изделий на биополимерной основе, включающих папаин и соль серебра для комплексного лечения инфицированных ран, имеющей значение для развития научных основ переработки биополимеров.

Диссертация Фидоровской Юлии Сергеевны «Разработка лечебных материалов на биополимерной основе комплексного действия для лечения инфицированных ран» по актуальности, новизне, объему, обоснованности научных результатов отвечает всем требованиям ВАК РФ, предъявляемых к кандидатским диссертациям. Работа соответствует требованиям п.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного правительством РФ №842 от 24 сентября 2013 г. в редакции с изменениями, утвержденными постановлениями Правительства РФ №335 от 21 апреля 2016 г. и №426 от 20 марта 2021 г., а автор диссертации Фидоровская Юлия Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.17.06 – «Технология и переработка полимеров и композитов».

Официальный оппонент: доктор технических наук (05.19.02 –Технология и первичная обработка текстильных материалов и сырья), профессор кафедры химической технологии волокнистых материалов ФГБОУ ВО «Ивановский государственный химико-технологический университет»

 Чешкова Анна Владимировна

« 16 » мая 2022 г.

Контактные данные:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ивановский государственный химико-технологический университет» (ФГБОУ ВО «ИГХТУ»). Почтовый адрес: 153000, ЦФО, г. Иваново, пр. Шереметьевский, д. 7. Тел.: +7(4932)32-92-41

Тел. +7(962) 163-29-01, E-mail: a_cheshkova@mail.ru, gordina@isuct.ru

Подпись Чешковой А.В. заверяю
МП


Подпись Чешковой А.В. заверяю
Генеральный секретарь уч. совета Д212.063.07
(Малесова А.С.)