

РЕЦЕНЗІЯ

доктора медичних наук, професора кафедри патологічної анатомії Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету, керівника Українсько-Шведського центру SUMEYA

Москаленко Романа Андрійовича

на дисертаційну роботу здобувача ступеня доктора філософії в галузі знань

22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина» Самохіна Євгена Олександровича «Оцінка біосумісності та антибактеріальної ефективності тривимірних волокнистих матеріалів з інкорпорованими наночастинками»

Актуальність теми дисертації.

Сьогодні існує великий інтерес науки до дослідження та використання природних полімерів, таких як хітозан. Цей полімер має багато корисних властивостей, високу біологічну активність та сумісність з тканинами людини, не забруднює навколишнє середовище, оскільки є повністю біодеградуючим, і може бути широко використаним в медицині. Проте, властивості хітозану залежать від структурної організації вихідного розчину полімеру, комбінації його з іншими протимікробними агентами, а також від способу виготовлення матеріалів на основі хітозану. Доведено, що волокнисті мембрани з хітозану демонструють вищу ефективність, ніж плівки, губки або гелі. У наш час електропрядіння стало одним із найпопулярніших методів отримання нановолокна з різних синтетичних та природних полімерів. Метод електроспіннінгу (електропрядіння) дозволяє створювати волокна з нанорозмірними діаметрами, що має важливе значення для біомедичних застосувань, таких як тканинна інженерія та доставка ліків. Таким чином, вивчення питання з використанням методу електроспіннінгу для створення нановолокон з хітозана має актуальність через потенційні переваги цих матеріалів у біомедичних застосуваннях, а також через поширення використання новітніх технологій у вирішенні сучасних проблем.

Зростаючий інтерес до створення нових матеріалів, які можуть бути використані в медичних застосуваннях, зокрема для створення антимікробних покриттів та матеріалів. Розвиток антимікробних матеріалів є критичним у зв'язку зі зростанням стійкості бактерій до існуючих засобів і лікарських препаратів.

Використання нановолокон з хітозану дозволяє створювати матеріали з великою площею поверхні, що може покращити ефективність антимікробних властивостей завдяки можливості навантаження наночастинками металів. Розвиток нових підходів у нанотехнологіях може призвести до створення нових гібридних матеріалів для застосувань у медицині та біотехнології.

Все це зумовило поставити цілком конкретну мету дисертаційної роботи, яка направлена на розробку тривимірних волокнистих матеріалів методом електропрядіння та модифікувати їх

наночастинками срібла, а також встановити їх структурні, фізико-хімічні та біологічні властивості.

Дисертаційна робота виконана на базі Центру колективного користування науковим обладнанням медичного інституту Сумського державного університету та виконана відповідно до плану наукових досліджень Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету в рамках проєктів за фінансуванням Міністерства освіти та науки України № 0120U101972 «Композитні нервові кондуїти для лікування критичних дефектів нервів на основі полімерних нановолокнистих матеріалів», № 0123U103300 «Впровадження 2D двошарових наномембран для керованої регенерації тканин при ендоперіодонтитах та періімплантитах» та № 0124U000552 «Визначення оптимальних параметрів нових нановолокнистих біоматеріалів з гемостатичними властивостями для невідкладної та військової медицини».

Біоетична експертиза дисертаційного дослідження.

Дисертаційне дослідження «Оцінка біосумісності та антибактеріальної ефективності тривимірних волокнистих матеріалів з інкорпорованими наночастинками», виконане аспірантом кафедри морфології Сумського державного університету Самохіним Євгеном Олександровичем було схвалене комісією з питань дотримання біоетики при проведенні експериментальних та клінічних досліджень Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету (протокол № 2/04 від 9.04.2024 р.).

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Дисертаційне дослідження Самохіна Євгена Олександровича виконано на високому методичному рівні з використанням комплексу сучасних методів дослідження, зокрема дослідження структурних та фізико-хімічних властивостей матеріалів (сканувальна електронна мікроскопія, аналіз інфрачервоної спектроскопії з перетворенням Фур'є, трансмісійна електронна мікроскопія, Раманівська спектроскопія, спектроскопія втрат енергії електронів, 3D візуалізація мембран, визначення контактного кута мембран, дослідження статичної та динамічної деградації (in vitro), біологічні властивості (визначення антибактеріальних властивостей, дослідження цитотоксичності) та статистичний аналіз.

Основні наукові здобутки, методи дослідження, висновки та практичні рекомендації, сформульовані в дисертації, логічно випливають з одержаних результатів, і є достатньо обґрунтованими та статистично доведеними. Вони відповідають поставленій меті і завданням дослідження.

Наукова новизна результатів дослідження.

Новизна дисертаційної роботи підтверджується основними положеннями:

Було вперше доведено, що електропрядені мембрани Ch-TFA/DCM забезпечують бактеріостатичну дію на планктонні форми бактерії та їх біоплівки, швидкість зменшення кількості бактерій була більшою для нановолокон, приготованих за допомогою системи співрозчинників TFA/DCM 9:1 завдяки включенню атомів фтору в ланцюг полімерного ланцюга хітозану. Крім того, результати випробувань показали, що морфологічні властивості електропрядених волокон можуть контролювати утворення біоплівки на нановолокнистих мембранах. Досліджувані матеріали можуть пригнічувати ріст мікроорганізмів до 6 годин, що свідчить про їх більш високий антиадгезивний потенціал і застосовність для антибактеріальних застосувань.

Вперше були виготовлені нові мембрани Ch, приготовані з двома співвідношеннями TFA/DCM (7:3 та 9:1) методом електропрядіння з подальшою обробкою водними 1 М NaOH, водними 1 М Na₂CO₃, NaOH-етанолом або Na₂CO₃-ethanol розчинами. Всі варіанти мембран (як виготовлені, так і після нейтралізації) підтримували клітинну адгезію та проліферацію протягом 6-денного періоду, але обробка етанолом мембран Ch, виготовлених з 9:1 TFA/DCM, продемонструвала зниження росту клітин. Мембрани Ch, виготовлені з 7:3 TFA/DCM, продемонстрували біосумісність поряд з помірною та більш ефективною антибактеріальною активністю проти *S. aureus* та *E. coli*.

Це дослідження розкрило про роль PEG у покращенні структурних і біологічних властивостей електропрядених мембран з включенням PLA і PEG як співрозчинника в модифікацію Ch, поряд з пост-обробкою для поліпшення стабільності нановолокон хітозану у водних розчинах, що дозволило отримати гібридні волокнисті матеріалів з помірною швидкістю деградації і зниженим рівнем гідрофобності.

Це дослідження виявило значний потенціал електропрядених хітозанових мембран як ефективних антимікробних покриттів для біомедичних застосувань. Довено, що інтеграція наночастинок срібла в ці мембрани підвищує і врівноважує їх дозозалежну антибактеріальну ефективність, починаючи з 25-50 мкг/мл проти *S. aureus* і *E. coli*. Була підтверджена антибіоплівкова активність мембран проти цих бактеріальних штамів.

Практичне значення отриманих результатів.

Результати дослідження можуть бути використані для створення нових матеріалів з вдосконаленою антимікробною активністю завдяки інкорпорованим наночастинкам металів. Це може мати застосування в створенні антимікробних пов'язок та інших матеріалів біомедичного

призначення, які можуть ефективно запобігати інфекціям, в тому числі і викликаними резистентними штамми патогенів.

Отримані результати можуть служити основою для подальших досліджень та вдосконалення матеріалів з антимікробними властивостями.

Матеріали дисертаційного дослідження впроваджені в навчальний та наукові процеси в центрі матеріалознавства (м. Київ), кафедрі патологічної анатомії НН МІ Сумського державного університету (м. Суми), кафедрі патологічної анатомії та судової медицини Полтавського державного медичного університету (м. Полтава).

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях, персональний внесок здобувача.

Результати дисертації отримано та опрацьовано за безпосередньої участі здобувача під керівництвом наукового керівника та опубліковано повному обсязі. Сукупність усіх публікацій відображає викладені в дисертації результати дослідження, що відповідає вимогам п. 8, 9 вимог до присудження ступеня доктора філософії «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44. Матеріали дисертаційної роботи опубліковано у 11 наукових працях: 3 статті у закордонних журналах, що індексується наукометричною базою Scopus, та 8 тез доповідей у матеріалах міжнародних науково-практичних конференцій, 2 з яких індексується наукометричною базою Scopus.

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Samokhin Y., Varava Y., Diedkova K., Yanko I., Husak Y., Radwan-Pragłowska J., Pogorielova O., Janus Ł., Pogorielov M., Korniienko V. Fabrication and Characterization of Electrospun Chitosan/Poly(lactic Acid) (CH/PLA) Nanofiber Scaffolds for Biomedical Application. *Journal of Functional Biomaterials*. 2023. №14. 414. DOI: 10.3390/jfb14080414. (Scopus)
2. Korniienko V., Husak Y., Radwan-Pragłowska J., Holubnycha V., Samokhin Y., Yanovska A., Varava Y., Diedkova K., Janus Ł., Pogorielov M. Impact of Electrospinning Parameters and Post-Treatment Method on Antibacterial and Antibiofilm Activity of Chitosan Nanofibers. *Molecules*. 2022. №27. 3343. DOI: 10.3390/molecules27103343. (Scopus)
3. Diedkova K., Roshchupkin A., Varava Y., Samokhin Y., Zahorodna V., Gogotsi O., Baginskiy I., Pogorielov M., Korniienko V., Kyrylenko S. The Multistep Process of Coating PCL Membranes with MXene Solution. *Proceedings of the 2022 IEEE 12th International Conference "Nanomaterials: Applications and Properties", NAP 2022 (2022)*. DOI: 10.1109/NAP55339.2022.9934231. (Scopus)

4. Korniienko V., Husak Ye., Yanovska A., Altundal S., Diedkova K., Samokhin Ye., Varava Y., Holubnycha V., Pogorielov M. Biological behavior of chitosan electrospun nanofibrous membranes after different neutralization methods. *Prog. Chem. Appl. Chitin and its Deriv.* 2022. No 27. P. 135 – 153. DOI: 10.15259/PCACD.27.010. (Scopus)
5. Varava Y., Samokhin Y., Savchenko A., Diedkova K., Kyrylenko S., Korniienko V. Antimicrobial Electrospun Chitosan Nanofibrous Membranes Functionalized with Silver Nanoparticles. *Proceedings of the 2021 IEEE 11th International Conference "Nanomaterials: Applications and Properties"*, NAP 2021, 2021. doi: 10.1109/nap51885.2021.9568584. (Scopus)

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

6. Samokhin Y., Varava Y. Antibacterial activity of electrospun chitosan/polylactic acid nanofibers loaded with silver nanoparticles. *ABSTRACT BOOK BIOMEDICAL PERSPECTIVES International Medical Conference; 2024.*
7. Samokhin Y., Diedkova K., Varava Y., et al. Fabrication and Characterization of Electrospun Chitosan/Polylactic Acid (CH/PLA) NanoFiber Scaffolds for Biomedical Application. *Book of Abstracts of International conference "YUCOMAT-2023"*. Herceg Novi. Montenegro. September 4-8, 2023.
8. Korniienko V., Husak Y., Samokhin Y., Varava J., Diedkova K. Chitosan electrospun nanofibers: surface morphology and hydrophobicity after different crosslinking. *80th International Scientific Conference of the University of Latvia. Latvian University. Riga, Latvia, February 10 - 11, 2022.* p.19.
9. Korniienko V., Samokhin Y., Varava Y., Diedkova K. Processing and characterization of hybrid chitosan (Ch)/polylactic acid (PLA) composite nanofibrous scaffolds for biomedical application. *Book of Abstracts of International conference "YUCOMAT-2022"*. Herceg Novi. Montenegro. August 29 – September 2, 2022. p. 153.
10. Samokhin Y., Varava Y., Savchenko A., Korniienko V. Chitosan electrospun membranes with antibacterial properties biomedical applications. *18th International Medical Scientific Conference for Students and Young Doctors. Medical University. Pleven, Bulgaria. 13-th -18-th September, 2021.* p. 78.
11. Samokhin Y., Diedkova K., Varava Y. Characteristics of electrospun chitosan nanofibrous membranes with different solvents. *ABSTRACT BOOK BIOMEDICAL PERSPECTIVES III International Medical Conference; 2021.* p. 88.

Апробація одержаних результатів.

Основні здобутки дисертаційної роботи були апробовані на численних (загалом 8) конференціях у вигляді доповідей та публікацій тез, а саме: IEEE 11th International Conference on Nanomaterials: Applications & Properties. NAP; IEEE 12th International Conference on Nanomaterials: Applications

& Properties NAP; «BIOMEDICAL PERSPECTIVES III» International Medical Conference (Sumy, October 26-28, 2021); XVIII International medical scientific conference for students and young doctors, Medical university – Pleven, Bulgaria, 13-th – 18-th September, 2021; «Twenty-third annual conference - YUCOMAT 2022 & Twelfth world round table conference on sintering - XII WRTCS 2022», Herceg Novi, August 29 – September 2, 2022; 80th International Scientific Conference of the University of Latvia, Latvian University – Riga, Latvia, February 10 - 11, 2022; Twenty-fourth YUCOMAT 2023 Conference Herceg Novi, Montenegro, September 4-8, 2023; "BIOMEDICAL PERSPECTIVES IV" International Medical Conference (Sumy, April 24-25, 2024).

Структура та обсяг дисертації.

Дисертація побудована за стандартним зразком, за обсягом і змістом відповідає вимогам, що висуваються до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії. Дисертаційна робота викладена на 163 сторінках загального обсягу (112 сторінках основного тексту) та складається з анотацій українською та англійською мовами, переліку публікацій (11 найменувань), змісту, переліку умовних скорочень, вступу, розділу «Огляд літератури» (3 підрозділи), розділу «Матеріали та методи досліджень» (3 підрозділи), розділу «Результати власних досліджень» (4 підрозділи), розділу «Аналіз та обговорення результатів дослідження», висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел та додатків. Дисертація містить 43 рисунка, 1 таблицю та 3 додатки, а перелік літературних джерел містить 214 найменувань. Текст дисертації як за змістом, так і редакційно, в цілому викладено та оформлено якісно. Слід визнати, дисертанту вдалося досконало проаналізувати літературні джерела. У цілому, в розділах власних досліджень автор детально на високому методичному рівні наводить виявлені морфологічні зміни та надає цифрові морфологічні показники, які кваліфіковано зіставляє. Показником зрілості дисертанта є те, що він у розділах власних досліджень наводить тільки дані, що отримані при виконанні дисертаційної роботи та не намагається робити висновки або припущення, логічно доводячи свої думки у фінальній частині кожного підрозділу. Аналіз результатів написано з високим професіоналізмом, що переконує в широкій обізнаності автора в досліджуваній проблемі та вмінні аналізувати отримані дані. Таким чином, Самохіним Євгеном Олександровичем виконано багатопланове дослідження на високому методичному рівні та на кількості матеріалу достатньому для отримання вірогідних даних. Назва роботи відповідає меті та основному змісту дисертації. Викладення основних положень за стилем та термінологією заслуговує позитивної оцінки.

Оцінка мови та стилю дисертації. Дані про відсутність текстових запозичень та порушень академічної доброчесності.

Дисертація написана академічною державною мовою чітко і зрозуміло, послідовно за формально-логічною структурою з дотриманням наукового стилю написання. Матеріали ілюстровані численними рисунками і таблицями. За результатами перевірки та аналізу матеріалів дисертації не було виявлено ознак академічного плагіату, автоплагіату, фальсифікації (протокол перевірки роботи на плагіат системою StrikePlagiatism Sumy State University від 11.06.2024 р.). Запозичення, виявлені у роботі, оформлені коректно, і не мають ознак плагіату. Подані до захисту наукові досягнення є власним напрацюваннями аспіранта Самохіна Євгена Олександрович.

Зауваження та рекомендації:

1. Розділи «Огляд літератури» та «Матеріали і методи» розділені на чисельні підрозділи, що утруднює сприйняття матеріалу.
2. В розділі «Огляд літератури» автор приділяє забагато уваги технічним та інженерним деталям, зокрема особливостям методу електропрядіння. На мій погляд треба було більше уваги приділити саме біологічній ефективності матеріалів, які отримані за допомогою даного метода.
3. Автор використовує три різні культури клітин для оцінки біосумісності, при цьому не всі вони є похідними клітин шкіри.
4. При описі статистичних методів дослідження автор вказує, що «всі дослідження проводилися у трьох повторях», при цьому у деяких розділах вказується більша кількість повторів.
5. В підписах до малюнків (3.33 – 3.35) вказане лише забарвлення гематоксилін-еозином, хоча в панелях представлені також світлини імуногістохімічного дослідження.
6. Не зважаючи на ґрунтовний аналіз отриманих результатів, в розділі «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» бажано було б представити узагальнюючу схему механізму дії мембрани в процесі загоєння рани.

Запитання:

1. Чому саме хітозан був обраний як основний полімер для виготовлення мембран?
2. На чому ґрунтується вибір антитіл при проведенні імуногістохімічного дослідження?
3. Існують дослідження щодо використання наночастинок срібла в складі різних мембран для лікування гнійних ран. В чому є новизна Вашого дослідження?
4. Чому Ви не проводили візуалізацію клітин при дослідженні біосумісності, наприклад за допомогою флуоресцентної мікроскопії? Лише в одному дослідженні Ви використали СЕМ з метою візуалізації клітин на мембрані.

Загальний висновок.

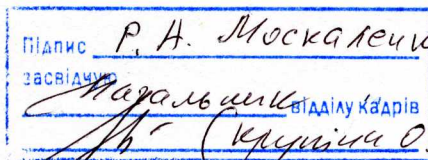
Дисертаційна робота Самохіна Євгена Олександровича на тему: «Оцінка біосумісності та антибактеріальної ефективності тривимірних волокнистих матеріалів з інкорпорованими

наночастинками» є завершеною науковою роботою, що стосується актуальності завдання, методичних підходів, обсягу, обґрунтованості аналізу та інтерпретації отриманих даних, повного викладу принципів наукових положень, теоретичним та практичним значенням повністю відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 р. «Порядок присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої загальної ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», а дисертант у повному обсязі заслуговує присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

Рецензент:

д.мед.н., професор кафедри патологічної анатомії
Навчально-наукового медичного інституту
Сумського державного університету

Р.А. Москаленко



23.08.2024р.

