

ВИСНОВОК

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації Самохіна Євгена Олександровича на тему «Оцінка біосумісності та антибактеріальної ефективності тривимірних волокнистих матеріалів з інкорпорованими наночастинками», поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина»

Характеристика особистості здобувача

Самохін Євген Олександрович у 2019 році закінчив медичний інститут Сумського державного університету за спеціальністю «Лікувальна справа»; з 2019 по 2022 р. навчався в інтернатурі за спеціальністю "Хірургія" на базі СумДУ, Сумського медичного інституту післядипломної освіти та КНП «КЛ№5» Сумської міської ради з подальшою спеціалізацією «хірургія». З жовтня 2020 р. – почав навчання в аспірантурі на кафедрі морфології СумДУ. Під час студентських років він постійно займався науковою роботою у різних гуртках, де демонстрував зацікавленість до науково-дослідницької роботи та неодноразово приймав участь у олімпіадах та конференціях, що і стало передумовою зарахування його до аспірантури у 2020 році на кафедру морфології Сумського державного університету. Тема дисертаційної роботи була затверджена на засіданні Вченої ради Сумського державного університету Міністерства освіти і науки України (протокол №5 від 12.11.2020).

Основні результати дисертаційної роботи були отримані під час навчання в аспірантурі на базі кафедри морфології Сумського державного університету, а також у співпраці з міжнародними партнерами. Дисертант проявив глибокий інтерес до проблем обраної теми та продемонстрував високий методологічно обґрунтований рівень наукових досліджень, а також зарекомендував себе як сумлінний дослідник, який відзначається високою працездатністю, цілеспрямованістю, активністю, відповідальністю, наполегливістю, здатністю планувати та проводити дослідження, вирішувати наукові завдання, опрацьовувати літературу та публікувати отримані результати. Рівень володіння англійською мовою претендента високий. Індекс Гірша Самохіна Є.О. – 3, а кількість цитувань – 12. Під час роботи над дисертаційною роботою, здобувач був виконавцем 3 науково-дослідницьких тем з фінансуванням за рахунок державного бюджету. Аспірант як особисто, так і в співавторстві, опублікував результати дисертаційного дослідження у 11 наукових працях: 3 статті у закордонних журналах, що індексується наукометричною базою Scopus (2 статті відносяться до 1-го квартилю, 1 – до 4 квартилю), 8 тез доповідей у матеріалах міжнародних науково-практичних

конференцій, з яких 2 тез індексується наукометричною базою Scopus, де і апробував основні результати дисертації. Питання, які висвітлені в публікаціях, можуть слугувати підґрунтям для розробки тривимірних волокнистих матеріалів з інкорпорованими наночастинками. Дисертант провів всі заплановані дослідження, завершив написання дисертаційної роботи, виконав всі вимоги необхідні для захисту результатів з наступним присудження ступеня доктора філософії.

Актуальність теми

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.

Зв'язок роботи з науковими програмами та темами

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 ендодонтитах та периімплантитах» та № 0124U000552 «Визначення оптимальних параметрів нових нановолокнистих біоматеріалів з гемостатичними властивостями для невідкладної та військової медицини».

Біоетична експертиза дисертаційних досліджень

Комісія з питань дотримання біоетики при проведенні експериментальних та клінічних досліджень Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету в результаті перевірки наданих матеріалів дисертаційного дослідження «Оцінка біосумісності та антибактеріальної ефективності тривимірних волокнистих матеріалів з інкорпорованими наночастинками», виконане аспірантом кафедри морфології Сумського державного університету Самохіним Євгеном Олександровичем, погодила експериментальний дизайн (протокол № 2/04 від 9.04.2024 р.) та ухвалила, що дане наукове дослідження відповідає вимогам Європейської конвенції по захисту хребетних тварин (Страсбург, 18.03.1986 р.), директиви Європейського парламенту та ради ЄС від 22.09.2010 р. та «Загальним етичним принципам експериментів на тваринах» ухваленими Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.), закону України «Про лікарські засоби», 1996, ст. 7, 8, 12, керівництву ICH GCP (2008 р.), GLP (2002 р.), відповідно до вимог та типових положень з питань етики МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. Більш того, від початку та до кінця експерименту, всі поводження з тваринами та експериментальні процедури проводились відповідно до керівних принципів з догляду та використання лабораторних тварин без порушень морально-етичних норм, які повністю відповідали рекомендаціям 2.0 «Дослідження на тваринах: Звітування про експерименти *in vivo*» (ARRIVE). Окрім цього, при формуванні експериментальної моделі було дотримано всі аспекти концепції 3Rs, зокрема заміна, скорочення та удосконалення.

Особистий внесок здобувача у виконання дисертаційної роботи

Автором вивчено дані літератури і проведено їх аналіз, визначені мета і задачі дослідження, обґрунтована актуальність, розроблена програма досліджень, виконана обробка отриманих результатів та їх інтерпретація з наступним формулюванням висновків і практичних рекомендацій, виконано

оформлення дисертації.

Автором особисто було проведено виконання експериментальних досліджень, включаючи виготовлення тривимірних нановолокон з інкорпорованими наночастинками металів, встановлення параметрів електроспінінгу. Здобувач провів дослідження біодеградації мембран, опрацював та проаналізував отримані дані. За безпосередньої участі дисертанта було проведено визначення токсичності та біосумісності, а також дослідження антибактеріальних властивостей. Мікробіологічні дослідження виконанні під керівництвом наукового керівника к. мед. наук, доц. В.В.Корнієнко. Основна частина досліджень була виконана на базі Центру біомедичних досліджень ННМІ СумДУ. Гістологічні та імуногістохімічні дослідження були виконані у співпраці ТОВ «CSD LAB», Київ, Україна. Вимірювання контактного кута було проведене на базі хімічного факультету Сільського технологічного університету, м. Глівіце, Польща. Інфрачервона спектроскопія з перетворенням Фур'є була проведена на базі кафедри біотехнології та фізичної хімії факультету хімічної інженерії та технології Краківського технологічного університету, м. Краків, Польща. Дослідження фізико-хімічних характеристик, скануючу електронну мікроскопію нановолокон було проведено в Центрі колективного користування науковим обладнанням «Лабораторія матеріалознавства геліоенергетичних, сенсорних та наноелектронних систем» (Сумський державний університет, м. Суми, Україна). Дисертантом особисто проведені експериментальні дослідження на щурах, які виявили значний потенціал електропрядених хітозанових мембран як ефективних антимікробних покриттів для біомедичних застосувань. Здобувач самостійно виконував хірургічну обробку гнійних ран експериментальних тварин та їх планіметричний і загально-клінічний аналіз, проводив забір матеріалу з ран для бактеріологічного та гістологічного досліджень. Здобувач написав усі розділи та висновки дисертації. Разом з науковим керівником проведені узагальнення проведених досліджень та їх результати, обговорення, підсумки.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків та рекомендацій, що сформульовані в 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, Раман-спектроскопія, спектроскопія втрат енергії електронів, 3D візуалізація мембран, визначення контактного кута мембран, дослідження

статичної та динамічної деградації (in vitro)), біологічних властивостей (визначення антибактеріальних властивостей, дослідження цитотоксичності) та статистичний аналіз.

Результати були піддані статистичному аналізу з використанням програмного пакету GraphPad Prism 9.1.1. Результати виражені у вигляді середнього значення \pm стандартної похибки. Статистично значущими вважали відмінності при $p < 0,05$.

Основні наукові здобутки, методики 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.

Дисертаційне дослідження Самохіна Євгена Олександровича виконано на високому методичному рівні. Матеріали повністю відповідають вимогам щодо оформлення документації при виконанні дисертацій. Основні наукові положення та висновки логічно випливають з одержаних результатів та є достатньо обґрунтованими. Висновки та положення дисертації відповідають поставленій меті та завданням дослідження.

Наукова новизна результатів

Новизна дисертаційної роботи підтверджується основними положеннями:

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 або Na₂CO₃ спиртовими розчинами. Всі варіанти мембран (як щойно 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*.

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.

Це дослідження розкрило 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 матеріали з помірною швидкістю деградації і зниженим рівнем гідрофобності.

Це дослідження виявило значний потенціал електропрядених хітозанових мембран як ефективних антимікробних покриттів для біомедичних застосувань. Довело, що інтеграція наночастинок срібла в ці мембрани підвищує і зрівноважує 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.

Вперше на моделі гнійної рани у лабораторних щурів було встановлено, що мембрани Ch/PLA-AgNPs забезпечують швидше загоєння гнійних ран та ефективнішу епітелізацію порівняно з Ch/PLA мембранами. На 15-й день епітелізація була завершена у щурів з PLA-хлоргексидин та Ch/PLA-AgNPs мембранами, тоді як з Ch/PLA мембранами це відбулося на 17-й день. Мікробіологічне дослідження показало, що мембрани Ch/PLA-AgNPs ефективніше знижують рівень бактеріальної колонізації (на 14 добу ці мембрани повністю звільнили ранову поверхню від *P. aeruginosa*). Ch/PLA-AgNPs зразки показали найкращі результати на 21 добу щодо зниження рівня запальних маркерів, що вказує на їх ефективність у прискоренні загоєння та зменшенні запалення.

Практичне значення отриманих результатів

Результати дослідження можуть бути використані для створення нових матеріалів із вдосконаленою антимікробною активністю завдяки інкорпорованим наночастинок 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 у 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 англійською мовою, а саме: 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. 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)**

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

4. 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)

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 засвідчують апробацію матеріалів 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.

Оцінка мови та стилю дисертації

Матеріали дисертаційної роботи викладено академічною державною мовою чітко і зрозуміло, послідовно за формально-логічною структурою з дотриманням наукового стилю написання, змісту, структури, обсягу та оформлення. Матеріали ілюстровані численними рисунками і таблицями.

Відповідність фаху

Дисертаційна робота повністю відповідає спеціальності 222 «Медицина» з галузі знань 22 «Охорона здоров'я».

Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності.

За результатами перевірки та аналізу матеріалів дисертаційної роботи Самохіна Євгена Олександровича на тему «Оцінка біосумісності та антибактеріальної ефективності тривимірних волокнистих матеріалів з інкорпорованими наночастинками», поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина» 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 з посиланнями на першоджерела, і не мають ознак плагіату чи навмисних спотворень. Подані до захисту наукові досягнення є власним напрацюваннями аспіранта Самохіна Євгена Олександровича та не мають ознак порушення академічно доброчесності.

Загальний висновок

Дисертаційна робота Самохіна Євгена Олександровича на тему «Оцінка біосумісності та антибактеріальної ефективності тривимірних волокнистих матеріалів з інкорпорованими наночастинками» за актуальністю завдання, методичними підходами, обсягом, ґрунтовністю аналізу та інтерпретацією отриманих даних, повнотою викладу принципів наукових положень, науково-теоретичним та практичним значенням повністю відповідає вимогам п. 6, 7, 8, 9 «Про затвердження 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 № 44 від 12.01.2022 року, а дисертант, з урахуванням виконання у повному обсязі освітньої складової освітньо-наукової програми та індивідуального плану наукової роботи, заслуговує присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

Голова апробаційної ради,
Навчально-наукового,
Медичного інституту Сумського
Державного університету МОН України

Юрій Олександрович
Атаман

