

УТВЕРЖДАЮ



И.о. директора Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки «Федерального  
исследовательского центра химической физики  
им. Н.Н. Семенова» Российской Академии Наук,  
Доктор физико-математических наук

А.В. Чертович

«10» ноября 2024 г.

## ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

**Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
«Федеральный исследовательский центр химической физики  
им. Н.Н. Семенова» Российской академии наук**

на диссертационную работу Савельевой Марии Сергеевны «Влияние наноструктурированных материалов на основе карбоната кальция и поликапролактона на регенеративные процессы *in vivo*», представленной на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук по научной специальности 1.5.2. – Биофизика.

### **Актуальность темы исследования**

Восстановление дефектов костной ткани, возникающих в результате травм, инфекционных и воспалительных процессов, хирургических вмешательств, является актуальной задачей современной медицины. На данный момент, вопрос разработки подходов и материалов для эффективной регенерации костной ткани и успешной реабилитации больных остается открытым. В данном контексте, исследование особенностей интеграции материалов в ткани организма, а также изучение биологической реакции тканей и организма в целом представляет огромное значение. Разработка новых функциональных композитных материалов с использованием биосовместимых и биомиметических компонентов, обладающих необходимыми биофизическими свойствами и исследование их воздействия на организм, являются актуальными задачами как с научной, так и с практической точки зрения, и представляют собой перспективное направление биофизических и биомедицинских исследований.

Диссертационное исследование Савельевой М.С. направлено на разработку, изучение свойств и практическое использование новых типов гибридных матриц, созданных на основе поликапролактонового нетканого материала и микрочастиц пористого карбоната кальция. Продемонстрирована возможность эффективного применения данных материалов для ускорения регенерации костной ткани у крыс

*in vivo*. Основной целью диссертации было исследование взаимосвязи между структурой и составом имплантируемых гибридных матриц, а также изучение биологической реакции тканей в зоне имплантации. Также целью работы было определение подходов к активации требуемой биологической реакции тканей при имплантации матриц с заданными характеристиками.

В связи с вышеизложенным можно заключить, что актуальность темы диссертационной работы Савельевой М.С. не вызывает сомнений.

### **Научная новизна**

1. Впервые разработана методика создания сплошных покрытий на основе карбоната кальция  $\text{CaCO}_3$  в полиморфной модификации ватерита на поверхности волокон нетканых матриц из поликапролактона (фактор заполнения волокон ватеритом  $92 \pm 2 \%$ ), с использованием ультразвуковой минерализации при частоте 35 кГц и плотности мощности  $0,64 \text{ Вт/см}^3$ , время ультразвуковой обработки 30 с

2. Выявлено, что наличие ватеритного покрытия в составе нетканых полимерных матриц способствует повышению выживаемости клеток линии нормальных дермальных фибробластов человека *in vitro*.

3. В ходе работы было установлено, что нетканые поликапролактоновые материалы, содержащие ватеритное покрытие, демонстрируют более высокий уровень биосовместимости при подкожной имплантации в область холки белым нелинейным крысам *in vivo*, по сравнению с неткаными поликапролактоновыми материалами без ватерита.

4. Показано, что нетканые поликапролактоновые матрицы с ватеритными покрытиями и таниновой кислотой при их подкожной имплантации в область холки белым нелинейным крысам *in vivo* способствуют нормализации интенсивности васкуляризации в области имплантации.

5. Имплантация нетканых поликапролактоновых матриц, содержащих ватеритное покрытие, в дефект бедренной кости белых нелинейных крыс *in vivo* способствует ускорению формирования новой костной ткани и регенерации дефекта по сравнению с неткаными поликапролактоновыми матрицами без ватеритного покрытия.

6. Щелочная фосфатаза, иммобилизованная в ватеритные покрытия нетканых поликапролактоновых матриц, позволяет дополнительно ускорить остеогенез при имплантации данных матриц в дефект бедренной кости белых нелинейных крыс *in vivo*.

7. Продемонстрировано, что ватеритные покрытия, модифицированные частицами серебра, на поверхности нетканых поликапролактоновых матриц



обеспечивают повышение коэффициента усиления сигнала гигантского комбинационного рассеяния.

### **Практическая значимость**

Были разработаны новые гибридные нетканые матрицы на основе поликапролактона и пористого карбоната кальция  $\text{CaCO}_3$  в полиморфной модификации ватерита, обладающие высокой степенью биосовместимости, способные стимулировать формирование и регенерацию костной ткани, а также поддерживающие эффективную остеоинтеграцию с костной тканью организма крыс *in vivo*. Данные свойства нетканого материала на основе поликапролактона обеспечиваются за счет ватеритных покрытий на поверхности волокон матрицы. Ватеритное покрытие выполняет роль биофизического стимула для адсорбции сигнальных белков и адгезии клеток костной ткани, а также обеспечивает возможность создания биохимических стимулов за счет иммобилизации биологически активных веществ, что позволяет инициировать желаемую биологическую реакцию в организме. Таким образом, иммобилизация биологически активных веществ в ватеритные покрытия позволяет значительно повысить регенеративный и функциональный потенциал данных матриц. Результаты, представленные в диссертационном исследовании, создают основу для разработки инновационных материалов, которые могут найти применение в регенеративной медицине и способствовать более эффективному лечению заболеваний опорно-двигательного аппарата. Кроме того, возможность усиления эффекта гигантского комбинационного рассеяния путём модификации данных матриц частицами серебра указывает на потенциал использования этих материалов в качестве платформ для идентификации и отслеживания молекул, участвующих в биологических процессах.

### **Структура и содержание диссертационной работы**

Диссертация Савельевой М. С. состоит из введения, 5 глав, заключения и списка использованных источников (219 наименований). Оформление работы соответствует требованиям ВАК и отвечает системе стандартов РФ по информации, библиотечному и издательскому делу ГОСТ 7.0.11-2011.

Во **введении** определены цель и задачи исследования, обоснована актуальность, научная новизна и практическая значимость работы. Были сформулированы основные защищаемые положения.

В **первой главе** представлен анализ литературных источников по теме диссертационного исследования. Проанализировано современное состояние исследований и разработок в области биоматериалов для восстановления дефектов костной ткани, а также биофизических аспектов регенерации тканей за счет имплантации функциональных гибридных материалов.



Во **второй главе** представлены методы, которые были применены для создания и модификации нетканых полимерных матриц. Описаны методы характеристики полученных матриц. Описаны материалы, использованные в работе. Представлены методы исследования биосовместимости разработанных матриц на культуре клеток нормальных дермальных фибробластов человека *in vitro*. Также описаны методы исследования биосовместимых, osteoconductive и функциональных свойств матриц с привлечением лабораторных животных – белых нелинейных крыс в условиях *in vivo*. Описаны модели подкожной имплантации и имплантации в дефект бедренной кости белых нелинейных крыс *in vivo*.

В **третьей главе** описывается методика создания однослойных нетканых матриц на основе поликапролактона, включая способ их модификации путём формирования на волокнах матрицы покрытия из пористого карбоната кальция  $\text{CaCO}_3$  в полиморфной модификации ватерита. Детально описывается процесс ультразвуковой минерализации волокон ватеритом, основанный на воздействии ультразвука на рабочий раствор в процессе кристаллизации и осаждения  $\text{CaCO}_3$  на волокнах матрицы. Благодаря данной методике, можно получить сплошные покрытия на основе ватерита в виде оболочек на волокнах нетканого полимерного материала. Было продемонстрировано, что модификация полимерной матрицы ватеритом улучшает адгезию и способствует пролиферации клеток линии нормальных дермальных фибробластов человека в матрице. Также, было показано, что дополнительная модификация частицами серебра полученных матриц с ватеритными покрытиями обеспечивает усиление сигнала гигантского комбинационного рассеяния на матрицах, и тем самым, позволяет осуществлять обнаружение биологических молекул на матрицах. Кроме того, методика ультразвуковой минерализации была успешно применена для модификации частицами ватерита гидрогелей на основе желатиновой камеди.

В **четвертой главе** приведено исследование биологической реакции тканей на имплантацию поликапролактоновых матриц с ватеритными покрытиями при их имплантации подкожно в область холки нелинейным белым крысам. В ходе исследования была детально проанализирована биосовместимость материала, а также процесс регенерации тканей в зоне имплантации, включая васкуляризацию. Установлено, что поликапролактоновые матрицы с ватеритными покрытиями не вызывают воспалительной реакции, и активно колонизируются фибробластами и соединительноткаными элементами при подкожной имплантации, что свидетельствует о их высокой степени биосовместимости.

На примере матриц, содержащих таниновую кислоту, было показано, что ватеритные покрытия на волокнах матриц позволяют иммобилизовать биологически активные вещества и доставлять их в область имплантации, что



обеспечивает инициацию необходимой биологической реакции со стороны окружающих тканей и организма. Таниновая кислота в составе матриц позволила достичь стабилизации новообразованной сосудистой системы в области имплантации матриц.

В пятой главе были созданы комбинированные двухслойные нетканые поликапролактоновые матрицы, состоящие из матрицы-основы (диаметр волокон  $9.7 \pm 2.5$  мкм) и матрицы из тонких волокон ( $0.7 \pm 0.3$  мкм) поликапролактона. Данные матрицы обладают сочетанием хорошей устойчивости к деформации и высокой степени биосовместимости, что является критически важным для имплантации в костную ткань. Щелочная фосфатаза была успешно иммобилизована в данные матрицы с ватеритным покрытием; была исследована кинетика высвобождения щелочной фосфатазы из данных матриц в воде. Была изучена биологическая реакция прилежащих тканей в зоне дефекта бедренной кости белых нелинейных крыс в ответ на имплантацию двухслойных поликапролактоновых матриц с ватеритными покрытиями. Установлено, что поликапролактоновые матрицы, содержащие ватеритные покрытия, ускоряли формирование новой костной ткани в месте дефекта по сравнению с матрицами без ватерита. Имплантация матриц, содержащих ватеритное покрытие с щелочной фосфатазой, позволило ещё больше ускорить процесс остеогенеза в 1,7 раз по сравнению с матрицами, содержащими только ватеритное покрытие, и примерно в 4 раза по сравнению с матрицами, не содержащими ватеритное покрытие.

В заключении были подведены итоги и сделаны обобщающие выводы.

### **Вопросы и замечания по диссертации**

1. В актуальности необходимо представить более подробное объяснение выбора поликапролактона для формования нетканых матриц. Стоит уточнить, упоминается ли поликапролактон в Государственной фармакопее XV издания. Необходимо также добавить более детальную информацию о деградации поликапролактона в костной ткани. Возможно ли использовать другие биосовместимые полимеры в качестве матрицы, например, наноцеллюлозу, которая демонстрирует множество преимуществ по сравнению с поликапролактоном?

2. В работе автор говорит о том, что нетканые ПКЛ-матрицы на основе субмикронных волокон обладают меньшим модулем упругости по сравнению с матрицами на основе волокон микронного размера. Необходимо объяснить зависимость модуля упругости матрицы от диаметра волокон.

3. В работе автор упоминает о том, что матрицы на основе субмикронных волокон проявляют свойства биосовместимости при подкожной имплантации экспериментальным животным. В то время, как матрицы на основе волокон



микронного размера провоцируют воспалительную реакцию. Необходимо дать более детальное объяснение зависимости реакции тканей на имплантацию матриц от их структуры, в особенности, от размера волокон.

4. Глава 3 посвящена формированию матриц ПКЛ с ватеритными покрытиями, однако отсутствует описание варьирования и оптимизации условий процесса получения данных материалов. Задача оптимизации процесса имеет существенное значение, но в данной главе она не озвучена.

5. В работе не раскрыты причины, по которым происходит формирование гидрофильных ватеритных покрытий на поверхности волокон из поликапролактона, который, в свою очередь, является гидрофобным полимером.

6. В качестве замечания по оформлению диссертации следует отметить наличие опечаток в тексте. Например, в разделе «Основные результаты и выводы» в п.5 опечатки в описании волокон микронного и субмикронного размера.

Однако, сделанные замечания носят в значительной степени второстепенный характер, а отмеченные недостатки не снижают научной ценности диссертации.

### **Степень достоверности полученных результатов**

Достоверность результатов исследования, представленных в диссертации, а также сделанных на их основе выводов, обсуждений и заключения, подтверждается следующими факторами: 1) Использование современного научного оборудования и проверенных методов обработки результатов измерений. 2) Объемом использованного материала и применением надежных статистических методов обработки данных. 3) Воспроизводимостью экспериментальных и расчётных данных, а также их соответствием литературным данным и результатам других научных групп. 4) Публикацией результатов в рецензируемых российских и международных научных журналах и апробацией на международных конференциях.

### **Заключение**

Объем выполненных исследований, актуальность поставленных и решенных задач и уровень научной значимости свидетельствуют о том, что диссертация Савельевой М.С. является законченным, самостоятельным и логически цельным научным исследованием. Научные положения и результаты диссертации четко обоснованы. Автореферат дает полное представление о содержании диссертации.

Результаты исследований, представленные в диссертационной работе, их новизна, актуальность, достоверность и практическая значимость вносят существенный вклад в биофизические аспекты исследования применения имплантируемых материалов и регенерации тканей. Данные результаты опубликованы в четырнадцати публикациях, в том числе входящих в ведущие журналы высокого уровня Q1-Q2.

Диссертационная работа Савельевой М.С. «Влияние наноструктурированных материалов на основе карбоната кальция и поликапролактона на регенеративные процессы *in vivo*» соответствует требованиям п. 9-11, 13, 14, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук действующим Положением о присуждении ученых степеней. Автор диссертационной работы Савельева М.С. заслуживает присуждения степени кандидата физико-математических наук по специальности 1.5.2. – Биофизика.

Диссертация и отзыв обсуждены и одобрены на заседании ученого совета отдела «Кинетики и катализа» Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова» Российской академии наук (протокол № 11 от 14 ноября 2024 года).

Заведующий лабораторией химической физики биосистем (0152)  
отдела «Кинетики и катализа»  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
«Федеральный исследовательский центр химической физики  
им. Н.Н. Семенова» Российской академии наук  
д.ф.-м.н.

«20» ноября 2024 года  Стовбун Сергей Витальевич

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова» Российской академии наук.

Почтовый адрес: 119991, Москва, ул. Косыгина, 4.

Телефон: +7 499 137-29-51; +7 495 939-72-03.

e-mail: [icp@chph.ras.ru](mailto:icp@chph.ras.ru)

Официальный сайт организации: <https://www.chph.ras.ru/>

Подпись д.ф.-м.н. Стомбуна С.В. заверяю:

Ученый секретарь ФИЦ ХФ РАН,  
д.ф.-м.н.

 Михалева М.Г.

