

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Мотузюка Олександра Петровича

«Скоротлива активність скелетних м'язів за хронічної алкогольної міопатії та її корекція водорозчинними C_{60} фулеренами»,

представлену на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.02 - біофізика

Актуальність дослідження. Проблема ураження скелетних м'язів за хронічної алкогольної інтоксикації залишається однією з актуальних у сучасній експериментальній та клінічній медицині, що зумовлено значною поширеністю алкогольної залежності та високою частотою розвитку пов'язаних з нею міопатій. Хронічна алкогольна міопатія характеризується прогресуючим зниженням сили та витривалості скелетних м'язів, розвитком м'язової атрофії, порушенням енергетичного метаболізму та дисбалансом між процесами вільнорадикального окиснення та антиоксидантного захисту. Вказані зміни істотно знижують якість життя пацієнтів, призводять до розвитку певних захворювань, зокрема серцево-судинних і метаболічних захворювань. У цьому контексті особливого значення набуває пошук нових ефективних засобів, здатних впливати на ключові ланки патогенезу м'язового ушкодження за алкогольної інтоксикації. Одним із перспективних напрямів може бути використання біосумісних та біодоступних наноструктур, наприклад, C_{60} фулеренів, які характеризуються унікальними фізико-хімічними властивостями, зокрема здатністю ефективно нейтралізувати активні форми кисню (АФК), що дозволяє розглядати їх як потенційні міопротектори.

Таким чином, актуальність дисертаційної роботи зумовлена необхідністю поглибленого вивчення патофізіологічних механізмів порушення скоротливої активності скелетних м'язів за хронічної алкогольної інтоксикації та обґрунтування нових підходів до їх корекції із застосуванням водорозчинних C_{60} фулеренів. Отримані результати можуть мати важливе теоретичне значення для розвитку уявлень про механізми м'язової

дисфункції, а також практичне значення для подальшої розробки ефективних засобів профілактики та лікування алкогольної міопатії та споріднених патологічних станів.

Метою роботи було проаналізувати скоротливу активність скелетних м'язів за хронічної алкогольної міопатії та її корекцію водорозчинними C_{60} фулеренами.

Дисертаційна робота складається зі вступу, опису матеріалів та методів досліджень, чотирьох оригінальних розділів, узагальнення, висновків та додатку, де представлені основні публікації за темою дисертації.

У **першому розділі** дисертаційної роботи автором на основі власних експериментальних підходів обґрунтовано ключові патогенетичні механізми розвитку алкоголь-індукованого ураження м'язової тканини, серед яких провідну роль відіграють оксидативний стрес, дисфункція мітохондрій, порушення кальцієвого гомеостазу та активація катаболічних процесів. Показано, що хронічна алкогольна міопатія супроводжується вираженим зниженням скоротливої здатності скелетних м'язів, особливо швидких м'язових волокон (*musculus gastrocnemius*), що проявляється зменшенням сили скорочення, зміною часових характеристик скоротливої відповіді та підвищеною втомою.

У розділі детально охарактеризовано зміни біохімічних показників, зокрема активацію процесів перекисного окиснення ліпідів, підвищення рівня продуктів оксидативного ушкодження та зниження активності ферментів антиоксидантного захисту, що узгоджується із сучасними уявленнями про ключову роль дисбалансу про- та антиоксидантних систем у патогенезі алкогольної міопатії. Окрему увагу приділено морфологічним і гістологічним змінам у м'язовій тканині, які включають атрофію м'язових волокон, їх дегенерацію, структурну дезорганізацію міофібрил і порушення ультраструктури клітин.

Важливим також в розділі є обґрунтування доцільності застосування водорозчинних C_{60} фулеренів як перспективних антиоксидантів і

цитопротекторів, здатних нейтралізувати АФК, стабілізувати клітинні мембрани та покращувати функціональний стан м'язової тканини. Автор демонструє, що зазначені наноструктури можуть впливати на ключові ланки патогенезу алкогольної міопатії, однак їх дія на біомеханічні параметри скорочення м'язів, біохімічні показники та гістологічні зміни потребує комплексного експериментального вивчення.

У другому розділі дисертаційної роботи представлено результати власних експериментальних досліджень, присвячених вивченню впливу водорозчинних C_{60} фулеренів на флуктуаційні коливання сили скорочення *musculus gastrocnemius* щурів за хронічної алкогольної міопатії. Автором детально проаналізовано один із малодосліджених аспектів функціонального стану скелетних м'язів — варіабельність та нестабільність силової відповіді (так званий «тремор»), що є чутливим показником порушень нейром'язової передачі, енергетичного забезпечення та координації скоротливого процесу. Показано, що тривала алкоголізація тварин супроводжується достовірним зростанням амплітуди флуктуацій сили скорочення, що свідчить про дестабілізацію механізмів формування гладкого тетанусу та порушення узгодженої роботи м'язових волокон.

На підставі тензометричного аналізу встановлено, що за хронічної алкогольної інтоксикації відбувається не лише зниження абсолютних показників сили скорочення, але й значне підвищення нерегулярності силової відповіді, що відображає глибокі порушення у системі «збудження — скорочення». Обґрунтовано, що такі зміни можуть бути пов'язані з дисфункцією саркоплазматичного ретикулума, порушенням кальцієвого гомеостазу, зниженням ефективності мітохондріального енергозабезпечення та розвитком оксидативного стресу.

Особливу увагу приділено оцінці коригуючого впливу водорозчинних C_{60} фулеренів. Отримані результати свідчать, що їх застосування призводить до зменшення амплітуди флуктуацій сили скорочення, стабілізації тетанічної відповіді м'яза та покращення узгодженості роботи м'язових волокон.

Встановлено, що C_{60} фулерени сприяють зниженню проявів «тремору», що можна розглядати як прояв відновлення функціонального стану м'язового апарату на тлі хронічної алкогольної інтоксикації.

Узагальнюючи отримані дані, автор робить обґрунтований висновок про те, що зменшення флуктуаційних коливань сили скорочення за дії C_{60} фулеренів пов'язане з їх антиоксидантними властивостями, стабілізацією мембранних структур та покращенням внутрішньоклітинних механізмів регуляції скорочення. Цей розділ відзначається науковою новизною, що суттєво доповнює сучасні уявлення про функціональні порушення скелетних м'язів за алкогольної міопатії та можливі шляхи їх корекції.

У **третьому розділі** дисертаційної роботи висвітлено результати дослідження впливу водорозчинних C_{60} фулеренів на розвиток патологічних процесів у печінці за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Автор обґрунтовано розглядає печінку як ключовий орган-мішень токсичної дії етанолу, ураження якого відіграє важливу роль у формуванні системних метаболічних порушень, що опосередковано впливають і на функціональний стан скелетних м'язів. У розділі наведено результати комплексного аналізу біохімічних показників крові та морфологічних змін печінкової тканини, що дозволяє оцінити ступінь гепатоцелюлярного ушкодження та ефективність коригуючого впливу досліджуваних наноструктур.

Показано, що тривала алкоголізація тварин супроводжується розвитком характерних змін у печінці, зокрема дистрофічними процесами у гепатоцитах, порушенням їх структурної організації та активацією ферментних маркерів ушкодження печінки (аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази, гамма-глутамілтрансферази тощо), що свідчить про прогресування токсичного ураження органа. Водночас встановлено, що застосування водорозчинних C_{60} фулеренів сприяє зниженню рівня зазначених біохімічних маркерів, що вказує на зменшення ступеня цитолізу та покращення функціонального стану печінки.

Результати гістологічних досліджень підтверджують отримані біохімічні дані та демонструють зменшення прояву дистрофічних змін у печінковій тканині за дії C_{60} фулеренів, зокрема зниження проявів жирової дистрофії гепатоцитів. Отримані результати свідчать про наявність гепатопротекторного ефекту досліджуваних наноструктур, що, ймовірно, реалізується через їх антиоксидантні властивості, здатність зменшувати інтенсивність перекисного окиснення ліпідів та стабілізувати клітинні мембрани.

Таким чином, дані цього розділу логічно доповнюють попередні результати дослідження, розширюючи уявлення про системний характер дії водорозчинних C_{60} фулеренів за хронічної алкогольної інтоксикації. Це має важливе значення для розуміння взаємозв'язку між ураженням печінки та функціональними порушеннями скелетних м'язів і демонструє перспективність використання C_{60} фулеренів, як один із можливих засобів комплексної корекції алкоголь-індукованих патологічних змін в організмі.

У **четвертому розділі** дисертаційної роботи автором представлено результати дослідження механізмів дії водорозчинних C_{60} фулеренів за хронічної алкогольної міопатії, що є логічним узагальненням отриманих експериментальних даних та важливим етапом у розкритті молекулярних і біофізичних основ їх протекторного ефекту. Розділ вирізняється комплексним підходом, який поєднує аналіз експериментальних результатів з використанням методів молекулярної динаміки, що дозволяє поглибити розуміння взаємодії C_{60} фулеренів з біологічними системами.

Автором обґрунтовано, що ключовими ланками реалізації протекторної дії водорозчинних C_{60} фулеренів є їх виражені антиоксидантні властивості, здатність ефективно нейтралізувати АФК, стабілізувати клітинні мембрани та покращувати функціональний стан мітохондрій. Особливу увагу приділено впливу C_{60} фулеренів на процеси енергозабезпечення м'язового скорочення, регуляцію кальцієвого гомеостазу та підтримання структурної

цілісності міофібрил, що у сукупності сприяє відновленню скоротливої активності скелетних м'язів за алкогольної інтоксикації.

Важливим науковим результатом є встановлення здатності C_{60} фулеренів взаємодіяти з молекулами етанолу, що було продемонстровано за допомогою методів молекулярної динаміки. Показано, що така взаємодія може призводити до часткового «виключення» етанолу з метаболічних процесів, зменшуючи його токсичний вплив на клітини і тканини організму. Отримані дані суттєво розширюють сучасні уявлення про механізми детоксикаційної дії досліджуваних наноматеріалів.

Таким чином, цей розділ має високий рівень наукової новизни та теоретичного узагальнення, оскільки не лише пояснює отримані експериментальні результати, але й формує цілісну концепцію механізмів дії водорозчинних C_{60} фулеренів за хронічної алкогольної міопатії. Представлені дані мають важливе значення для розвитку нанобіомедицини та обґрунтовують перспективність подальших досліджень у напрямі створення нових ефективних засобів корекції патологічних станів, пов'язаних з оксидативним стресом.

Повнота викладення результатів у публікаціях. Основні результати дисертаційної роботи достатньо повно відображені у наукових публікаціях автора. Зокрема, за темою дисертації опубліковано 17 статей у періодичних наукових виданнях, що індексуються у наукометричній базі Scopus, з яких 10 — у журналах, віднесених до першого та другого квартилів (Q1 і Q2) за класифікацією SCImago Journal Rank, а також 10 статей у наукових фахових виданнях України та 1 стаття в іноземному фаховому виданні. Крім того, результати дослідження висвітлено у 20 тезах доповідей на міжнародних і всеукраїнських науково-практичних конференціях.

Такий обсяг публікацій свідчить про високий рівень апробації отриманих результатів, їх наукову значущість і відповідність вимогам до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук.

Достовірність отриманих результатів забезпечується аналізом значної кількості наявних літературних джерел і застосуванням сучасних експериментальних біофізичних, біохімічних та гістологічних методів досліджень, які доповнюють один одного. Таким чином, постановка мети і завдань дослідження формувалися з огляду на сучасні тенденції в галузі біофізики м'язового скорочення.

Практичне значення одержаних результатів полягає у розширенні можливостей корекції порушень функціонального стану скелетних м'язів за хронічної алкогольної інтоксикації при використанні водорозчинних C_{60} фулеренів як перспективних міопротекторних засобів. Отримані автором експериментальні дані свідчать про здатність водорозчинних C_{60} фулеренів нормалізувати біомеханічні параметри скорочення скелетних м'язів, зменшувати прояви м'язової втоми, стабілізувати показники про- та антиоксидантного балансу, а також знижувати прояв морфологічних змін у м'язовій тканині за тривалої алкоголізації.

Встановлений гепатопротекторний ефект досліджуваних наноматеріалів розширює перспективи їх можливого застосування як засобів комплексної корекції системних порушень, спричинених хронічною дією етанолу. Запропонована автором оптимальна терапевтична схема введення водорозчинних C_{60} фулеренів може бути використана як наукове підґрунтя для подальшої розробки нових фармакологічних препаратів, спрямованих на зниження оксидативного стресу та відновлення функціональної активності опорно-рухового апарату.

Результати дослідження можуть бути використані при розробці нових підходів до профілактики і лікування алкогольної міопатії та інших патологічних станів, пов'язаних з порушенням м'язової функції. Окрім того, одержані дані можуть бути застосовані у навчальному процесі закладів вищої освіти при викладанні дисциплін біофізичного, фізіологічного та медико-біологічного профілю.

Таким чином, результати дисертаційної роботи мають вагоме практичне значення та створюють передумови для подальшого розвитку нанобіомедичних технологій у лікуванні захворювань, асоційованих з оксидативним стресом.

Наукова новизна одержаних результатів полягає у комплексному дослідженні біомеханічних, біохімічних та морфологічних особливостей функціонування скелетних м'язів за умов хронічної алкогольної міопатії та обґрунтуванні ефективності їх корекції за використання водорозчинних C_{60} фулеренів.

У роботі вперше на експериментальній моделі хронічної алкогольної інтоксикації проведено системний аналіз змін скоротливої активності скелетних м'язів (швидких і повільних) залежно від тривалості алкоголізації та схеми введення водорозчинних C_{60} фулеренів. Встановлено, що тривала дія етанолу призводить до виражених порушень біомеханічних параметрів скорочення м'язів, зокрема зниження сили скорочення, зміни часових характеристик формування тетанусу та підвищення стомлюваності, що відображає глибоку дисфункцію системи «збудження – скорочення».

Вперше доведено, що застосування водорозчинних C_{60} фулеренів у терапевтичній схемі (пероральне введення разом з етанолом упродовж тривалого періоду) сприяє нормалізації біомеханічних показників скоротливої активності скелетних м'язів, зменшенню флуктуаційних коливань сили скорочення («тремору») та подовженню часу до настання м'язової втоми.

Встановлено нові закономірності змін біохімічних показників крові та м'язової тканини за хронічної алкогольної міопатії, зокрема порушення протаксидантного балансу, а також їх корекцію за дії водорозчинних C_{60} фулеренів. Отримано нові дані щодо зменшення прояву дистрофічних і некротичних змін у м'язових волокнах за умов застосування цих наноматеріалів.

Уперше продемонстровано гепатопротекторний ефект водорозчинних C_{60} фулеренів за хронічної алкогольної інтоксикації, що проявляється у зниженні рівня ферментів-маркерів ушкодження печінки та зменшенні морфологічних ознак дистрофії гепатоцитів.

Принципово новим є встановлення на основі молекулярно-динамічного моделювання здатності C_{60} фулеренів взаємодіяти з молекулами етанолу, що може призводити до зниження їх токсичного впливу на організм.

Таким чином, отримані результати суттєво доповнюють сучасні уявлення про патогенез алкогольної міопатії та відкривають нові перспективи можливого застосування наноматеріалів у біомедицині як ефективних засобів корекції патологічних станів, пов'язаних з оксидативним стресом.

Зауваження до дисертаційної роботи:

1. Потребує додаткового обґрунтування вибір перорального способу введення водорозчинних C_{60} фулеренів піддослідним тваринам. Зокрема, доцільно було б розглянути можливість застосування альтернативних шляхів введення (внутрішньом'язового або внутрішньочеревного) та порівняти їх ефективність.
2. У роботі продемонстровано виражену антиоксидантну дію водорозчинних C_{60} фулеренів за алкогольної інтоксикації, проте відсутній порівняльний аналіз їх ефективності з іншими відомими антиоксидантами, що дещо обмежує оцінку їх переваг та практичної значущості.
3. Відомо, що хронічна алкогольна інтоксикація може супроводжуватися розвитком ниркової недостатності. У зв'язку з цим доцільним було б більш детально висвітлити чи враховували цей аспект при проведенні експериментальних досліджень, зокрема при аналізі біохімічних показників крові та можливих морфологічних змін у тканинах.
4. Використання методів молекулярної динаміки у роботі є безсумнівною перевагою, однак потребує уточнення критеріїв оцінки стабільності або нестабільності досліджуваних комплексів « C_{60} фулерен-етанол».

Водночас, зроблені зауваження не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи. Сформульовані у ній наукові узагальнення та висновки ґрунтуються на великому обсязі експериментального матеріалу, отриманого з використанням комплексу сучасних біофізичних методів дослідження, та відповідають поставленій меті і завданням роботи.

Заклучна оцінка роботи. Таким чином, за обсягом проведених досліджень, актуальністю поставлених і вирішених завдань, високим рівнем наукової новизни, обґрунтованістю та достовірністю одержаних результатів, їх теоретичним і практичним значенням, а також повнотою висвітлення у наукових публікаціях, у тому числі у виданнях, що індексуються у міжнародній наукометричній базі Scopus та віднесені до першого і другого кuartилів (Q1 і Q2), вважаю, що дисертаційна робота *«Скоротлива активність скелетних м'язів за хронічної алкогольної міопатії та її корекція водорозчинними C₆₀ фулеренами»* повністю відповідає вимогам п.п. 7 та 9 «Порядку присудження та позбавлення ступеня доктора наук», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 1197 від 17 листопада 2021 року, а її автор — **Мотузок Олександр Петрович** — заслуговує на присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика.

Офіційний опонент:

завідувач відділу клітинної біології та біотехнології
ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки
НАН України», член-кореспондент НАН України,
доктор біологічних наук, професор

Алла ЄМЕЦЬ

Підпис чл.-кор. НАН України А. Ємець засвідчую:
Вчений секретар Інституту,
д.б.н., с.н.с.



Ярослав ПІРКО

