

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 091 - Біологія, 03.00.02 – Біофізика

Актуальність дисертаційної роботи.

Канонічною проблемою біофізики було і ще тривалий час буде з'ясування іонних, молекулярних, мембранних та клітинних механізмів процесів електро- та фармакомеханічного Ca^{2+} -залежного спряження в скелетних м'язах. Дійсно, ми б хотіли зрозуміти – яким чином м'язова клітина функціонує як високоефективний ізотермічний Ca^{2+} -залежний механохімічний двигун, для якого властивий достатньо високий (у порівнянні з технічними пристроями) коефіцієнт корисної дії. Очевидно, що така постановка питання віддзеркалює фундаментальний (науково-теоретичний) аспект проблеми.

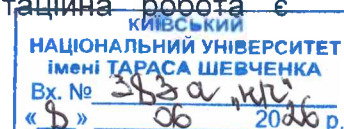
Втім, в практичному плані нагальною є задача з'ясування біофізичних та біохімічних закономірностей порушення скоротливої активності скелетних м'язів за патологічних станів, зокрема за хронічної алкогольної міопатії. Як відомо, смертність від алкоголізму та пов'язаних з ним патологій займає третє місце у світі (після смертності від серцево-судинних захворювань і злоякісних новоутворень). Багаточисельні експериментальні дані свідчать на користь того, що хронічна алкогольна міопатія при тривалій алкогольній інтоксикації спряжена із сукупністю складних біохімічних, фізіологічних та морфологічних змін скелетного м'яза, які призводять до втрати сили його скорочення та зменшення м'язової маси.

І тут природно зразу ж виникає питання розробки ефективних фармакологічних препаратів, створених, зокрема, на підставі використання наносполук, з метою корекції такої міопатії для нормалізації скоротливої функції скелетного м'язу.

Треба відзначити, що на теперішній час науковцями, зокрема в Україні, досягнуті суттєві результати у галузі нанобіотехнології. Взагалі нанотехнологія, зокрема нанобіотехнологія, має свої витоки з колоїдної хімії. Цілком очевидно, що вирішення фундаментальних проблем нанобіотехнології потребує залучення теоретичних та методичних підходів, уявлень, бачень, концепцій, гіпотез та теорій, притаманних не лише біології та біомедицині, але й хімії (неорганічна, органічна, фізична) та фізиці (термодинаміка та статистична фізика, квантова механіка). Наразі у світі та, зокрема, в Україні активно розробляються нанотехнології для медицини та різних галузей промисловості. Втілення відповідних технологій в практику спряжене з інтенсивним впровадженням в медичну галузь, людський побут, промисловість різноманітних наноматеріалів (наночастинок, зокрема, наночастинок металів, наноточок та нанокристалів, а також нанопоруватих структур, фулеренів, каліксаренів, нанотрубок, нановолокон, нанострічок, нанодисперсій, наноструктурованих плівок, нанокластерів тощо).

Тому, в контексті вищезазначеного, привертає до себе увагу дисертаційна робота Олександра Петровича Мотузюка, що присвячена дослідженню основних біомеханічних параметрів скоротливої активності скелетних швидких та повільних м'язів, біохімічних показників м'язової тканини та крові, а також гістології м'язів та печінки щурів за тривалої алкогольної інтоксикації і за дії водорозчинних C_{60} фулеренів.

Отже, є вагомі підстави стверджувати, що ця дисертаційна робота є актуальною як в фундаментальному, так і в практичному аспекті.



Перед тим, як написати цей Відгук, опонент:

1. Прочитав текст дисертації;
2. Ознайомився з вибраними друками дисертанта;
3. Мав з ним особисті зустрічі, під час яких він надав мені додаткові роз'яснення щодо результатів своєї роботи.

На підставі вищезазначеного формую своє враження від дисертаційної роботи О.П. Мотузюка.

Структура та обсяг дисертації.

Дисертаційна робота у вигляді наукової доповіді викладена на 63 сторінках, складається зі «Вступу», чотирьох експериментальних «Розділів», «Узагальнення», «Висновків» і «Додатка». Отже, по-суті, дисертацією є текст наукової доповіді та сукупність відбитків наукових статей, які вміщують в себе аналіз сучасного стану наукової проблеми та фактаж щодо її експериментального вирішення. Треба відзначити, що дисертація є самостійною науковою працею, в якій автор висловлює свої творчі ідеї, що спрямовані на вирішення сформульованої проблеми. Робота містить теоретичні та методичні положення і висновки, сформульовані здобувачем особисто. Використані у дисертації ідеї та гіпотези інших авторів мають відповідні посилання.

Ступінь обґрунтованості, достовірності наукових положень, висновків, рекомендацій.

Достовірність одержаних у роботі результатів забезпечена, як я вважаю, перш за все, використанням адекватних експериментальних підходів та методів, а також надійною статистичною обробкою кількісних результатів, що були одержані.

Щодо методів. Важливо, що при виконанні роботи був залучений їхній широкий спектр. Так, мова йде, зокрема, за використання методів реєстрації електрофізіологічних сигналів та тензометрії, атомно-силової мікроскопії та динамічного розсіювання світла, вимірювання дзета-потенціалу, цифрової мікрофотографії. Був задіяний широкий спектр біохімічних методів (у випадку визначення креатиніну, лактата, пероксида водню, відновленого глутатіона, карбогідрат-дефіцитного трансферина, а також активності креатинфосфокінази, лактатдегідрогенази, каталази, селен-залежної глутатіонпероксидази, супероксиддисмутази, аланін-амінотрансферази, аспартат-амінотрансферази та гамма-глутамілтрансферази). Активно використовувалися підходи щодо визначення різноманітних механокінетичних параметрів, і я це відверто вітаю. Значну увагу було приділено моделюванню *in silico* (молекулярна динаміка). Результати, що були одержані, були статистично оброблені - насиченим є статистичний аналіз експериментальних результатів (використовували програмний паке Statistica 8.0, дисперсійний аналіз ANOVA зі змішаним дизайном, тести Шапіро-Уїлка, Левена та *post-hoc* тест Бонферроні).

Повнота викладення результатів роботи в опублікованих працях.

За матеріалами дисертації опубліковано 18 статей у вітчизняних та закордонних фахових виданнях. 17 статей вийшли у періодичних наукових виданнях, проіндексованих у базі даних Scopus, з них 10 статей у виданнях, віднесених до

першого і другого кuartилів (Q1 і Q2) відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank. Результати роботи викладені у 20 тезах доповідей.

Наукова новизна отриманих результатів.

При виконанні роботи О.П.Мотузюком були одержані нові фундаментальні знання стосовно розуміння закономірностей скоротливої активності скелетних м'язів у випадку хронічної алкогольної міопатії, корекції її водорозчинними C_{60} фулеренами при різних дозах, способах та схемах застосування цих наноматеріалів. І я б, перш за все, відзначив наступні блоки авторських пріоритетних експериментальних та концептуальних результатів, що були одержані при виконанні дисертації:

1. Було встановлено покращення біомеханічних параметрів скорочення скелетних м'язів щурів на тлі тривалої алкоголізації тварин за умов застосування запропонованої автором терапевтичної схеми введення водорозчинних C_{60} фулеренів (мова йде за щоденну пероральну дозу 1 мг/кг ваги разом з алкоголем упродовж експерименту). Одержаний результат корелює з даними біохімічного та гістологічного аналізів.

2. Вперше було продемонстровано, що C_{60} фулерен знижує рівень флуктуаційних коливань сили скорочення м'язів та подовжує час до настання їх втоми за хронічної алкогольної міопатії. Ці наноматеріали зменшують тяжкість перебігу патологічних процесів у печінці щурів на тлі тривалої алкогольної інтоксикації, що свідчить про гепатопротекторну дію фулерену.

3. І ще один дуже цікавий результат. В межах рамок комп'ютерного експеримента вперше було встановлено, що C_{60} фулерени утворюють стабільні нанокластери, які містять 5 і більше молекул, розміром 2,2 нм і більше у водному середовищі. Показано, що такі нанокластери C_{60} фулеренів здатні адсорбувати на своїй поверхні молекули етанолу, причому тим більшу кількість, чим більший їхній розмір.

І я не можу не привітати той факт, що при виконанні цього біофізичного дослідження автор активно використовував кількісні підходи (механокінетичний аналіз).

І тут я хотів би звернути увагу на наступне. Ця робота цілком слушно захищається за спеціальністю – 091 «Біологія» (03.00.02 – біофізика), втім, вона по-суті, є міждисциплінарною. Не важко побачити, що, як в методичному, так і в методологічному аспекті, дисертацію виконано «на перехресті» **Біологія (біофізика, біохімія, біомеханіка) + Біомедицина + Фізична хімія + Токсикологія + Фармакологія + Нанобіотехнологія + .** Я вітаю таку «суперпозицію»: вона цілком віддзеркалює тенденцію розвитку сучасних Наук про Життя в XXI сторіччі.

В цілому ж хочу відзначити, що експериментальні дослідження О.П.Мотузюка виконані на високому науково-методичному рівні, а експериментальні методи (зокрема фізико-хімічні, біофізичні та біохімічні), що були ним застосовані, цілком є адекватними науковим завданням. Одержані дані кваліфіковано проаналізовані. Наукові положення та висновки, сформульовані на підставі аналізу одержаного фактичного матеріалу, базуються на достатній кількості експериментів, вони є цілком обґрунтованими та достовірними, та, безперечно, відображують основний зміст дисертаційної роботи.

Практична цінність дисертації.

Безперечно, дисертантом були одержані змістовні експериментальні результати у галузі біофізики м'язів, для яких є властивою наочна практична спрямованість. Я маю на увазі цикл досліджень *in vivo*, результати яких вказують на можливість використання наночастинок водорозчинних C_{60} фулеренів для корекції патологічних станів скелетних м'язів та супутніх метаболічних порушень, викликаних алкогольною інтоксикацією. Безперечно, остаточне вирішення зазначеної проблеми потребує подальших клінічних випробувань.

Запитання та зауваження.

1. Відповідно до даних, одержаних автором, є підстави стверджувати, що для препарату C_{60} фулерену у C_{60} ВРФ властива суттєва гетерогенність за таким показником, як ефективний гідродинамічний діаметр: у складі препарату маємо як поодинокі молекули C_{60} (діаметр $\sim 0,7$ нм), так і їх нанокластери (діаметр $\sim 1,4 - 2,0, 2,8 - 3,5$ нм), а також великі нанокластери з (діаметр $64 - 75$ та $82 - 106$ нм). Чи не ускладнювала така гетерогенність (за розміром) препарату наночастинок авторську інтерпретацію експериментальних результатів ?

2. Що, на теперішній час, відомо за шляхи та механізми трансмембранного проникнення C_{60} ВРФ в клітини (зокрема, в міоцити) ?

3. Як стверджує автор, значення дзета-потенціалу для C_{60} ВРФ складало $-25,3$ мВ, що свідчить про негативний заряд поверхні наночастинок у розчині та його високу стабільність, тобто вказує на низьку ступінь агрегації наночастинок з часом. Втім, якщо мова йде за проникнення C_{60} ВРФ в клітину, то як можна уявити собі механізм цього проникнення, якщо внутрішня поверхня плазматичної мембрани незбудженого міоциту також негативно заряджена ?

4. Автор відзначає, що C_{60} ВРФ (цитую буквально) «... легко (пасивна дифузія або ендоцитоз) проникають всередину клітин та накопичуються переважно в мітохондріях». Втім, виникають запитання: а/. Якщо від'ємно заряджені наночастинок фулеренів C_{60} водорозчинні, то як вони долають шляхом пасивної дифузії гідрофобний ліпідний бішар плазматичної мембрани, який до того ж заряджений від'ємно з цитоплазматичного боку ? б/. Які докази має автор того, що атака C_{60} ВРФ відбувається саме на мітохондрії ? А на ядро чи на саркоплазматичний ретикулум, чи на інші внутрішньоклітинні мембранні структури така атака не може відбуватися ?

5. Чому при стартовому описі методики вивчення механокінетики м'язового скорочення автор не вказує, який режим реєстрації цього скорочення буде задіяний – ізометричний чи ізотонічний ? Судячи з наведених в роботі експериментальних результатів автор досліджував саме ізометричне скорочення м'язів. А ізотонічне скорочення не цікавило дисертанта ?

6. Автор розраховував абсолютні значення механокінетичних силових та імпульсних параметрів. Але чому не розраховувалися їх відносні значення (визначаються шляхом нормування абсолютних параметрів на амплітуду F_{max} ізометричної скоротливої відповіді) ? Адже саме величини відносних механокінетичних силових та імпульсних параметрів не залежать від величини наважки м'язового препарату, значення якої обирається дослідником достатньо довільно, тобто не залежать від суб'єктивізму дослідника.

7. Чому в табличному матеріалі, в якому наведені кількісні параметри, що визначалися в експериментах, не наведено інформацію за кількість проведених експериментів (в термінах $M \pm m; n = ?$) (табл. 1 - 3; рис. 1, 3, 4, 6, 7, 10, 12, 13, 15) ?

8. Автор стверджує, що (цитую буквально) «...наслідком алкогольної міопатії є погіршення скоротливої активності м'язів». Але відомі факти, коли людина, яка систематично вживає алкоголь, чи знаходиться безпосередньо у стані сп'яніння, навіть сильного, може здійснити значно більшу м'язову механічну роботу, ніж у нормальному стані (недарма кажуть «п'яничці море по коліно...»). Як бути з цим ?

9. Яким чином (методично) визначали площу, що була зайнята сполучною тканиною ($\text{мкм}^2/\text{мкм}^2$), у випадку визначення морфометричних показників м'язових волокон в контролі, за алкоголізації щурів та при застосуванні $\text{C}_{60}\text{BPФ}$?

10. На рис. 9, 11 не наведені масштабні показники для сили f та часу t .

Але в цілому я повинен однозначно наголосити, що вищенаведені зауваження не стосуються основних результатів дисертаційної роботи, вони переважно мають рекомендаційний та профілактичний характер, «не б'ють» в коріння наукової роботи, а стосуються подальших наукових досліджень. Ці зауваження не впливають на мою загальну позитивну оцінку одержаних наукових результатів роботи та відповідних висновків.

Варто відзначити, що текст роботи написано зрозумілою науковою мовою, він добре оформлений.

На останок хочу підкреслити, що біофізики, біохіміки та фізіологи України завжди традиційно тримали у фокусі уваги наукові питання, що стосувалися вивчення біофізичних механізмів функціонування природних механохімічних двигунів - м'язів. У галузі біофізики м'язів відповідними науковими пошуками активно займалися такі визначні вчені, як академік НАН України П.Г.Богач (досліджував біофізичні процеси в м'язах), академік НАН України М.Ф.Шуба (фахівець у галузі фізіології, біофізики та фармакології гладеньких м'язів), проф. В.Л.Зима (дослідження в'язко-пружних властивостей м'язів як еластомерів). У розбудові уявлень щодо фізичних механізмів скорочення м'язів суттєвих успіхів досягли фізики-теоретики академік НАН України О.С.Давидов та член-кор. НАН України К.Б.Толпиго. У галузі біохімії м'язів ми повинні відзначити труди академіка НАН України О.В.Палладіна (вивчив особливості метаболічного обміну в скелетних м'язах при роботі, відпочинку і тренуванні, що стало основою теорії фізичної культури. Олександр Володимирович довів, зокрема, що утворення креатину відбувається головним чином у м'язах), та член-кореспондент НАН України Д.Л.Фердмана (він, зокрема, вивчав обмін фосфорних і азотних сполук в м'язовій тканині). Саме тому наразі я з приємністю хочу відзначити, що й на теперішній час в Україні зберігається увага до «м'язової» тематики, зокрема, з боку молодшої генерації вчених. Свідченням цього і є докторська дисертація О.П.Мотузяка.

Висновок.

Вважаю, що дисертація Мотузяка Олександра Петровича «Скоротлива активність скелетних м'язів за хронічної алкогольної міопатії та її корекція водорозчинними C_{60} фулеренами», що представлена на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 091 - Біологія, 03.00.02 – Біофізика, робить суттєвий внесок у розвиток уявлень про зміни механокінетичних параметрів скоротливої активності скелетних м'язів, а також біохімічних показників крові та м'язової тканини, гістології м'язів та печінки щурів за тривалої алкогольної інтоксикації та за дії водорозчинних C_{60} фулеренів, обґрунтовує використання зазначених вуглецевих наночастинок для корекції патологічних станів скелетних м'язів та відповідних метаболічних порушень, викликаних алкогольною інтоксикацією. Безперечно, ця робота має ознаки міждисциплінарного дослідження, бо її виконано «на стику» Біологія (біофізика, біохімія, біомеханіка) + Фізична хімія + Токсикологія + Фармакологія + Нанобіотехнологія. Для роботи як для біофізичного дослідження є властивою хороша кількісна інтерпретація одержаних результатів. Дисертація добре методично забезпечена. Наукові положення та висновки, що сформульовані на

підставі аналізу одержаного фактичного матеріалу, є цілком обґрунтованими та достовірними, та, безперечно, відображують основний зміст дисертаційної роботи.

За актуальністю та обсягом, новизною та науково-практичною значимістю ця робота відповідає усім вимогам щодо докторських дисертацій - п.п. 7 та 9 «Порядку присудження та позбавлення ступеня доктора наук», затвердженого Постановою КМУ № 1197 від 17.11.2021р., а її автор – Мотузюк Олександр Петрович заслуговує на присудження йому наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.02 - біофізика.

Офіційний опонент:

академік НАН України, доктор біологічних наук, професор,
заступник директора з наукової роботи,
завідувач відділу біохімії м'язів

Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України,
Лауреат Державної премії України в галузі науки і техніки,
Заслужений діяч науки і техніки України,
Лауреат премії ім. О.В.Палладіна НАН України,
Лауреат премії ім. П.Г.Костюка НАН України,
Лауреат премії ім. Тараса Шевченка

Сергій КОСТЕРІН

Київського національного університету імені Тараса Шевченка

5 червня 2026 р.

