

## **ВІДГУК**

### **офіційного опонента**

**доктора біологічних наук, професора, завідувача відділу фізіології рухів**

**Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України**

**Костюкова Олександра Івановича**

**на дисертаційну роботу Ван Наня**

**на тему «Вплив C<sub>60</sub> фулеренів на динаміку скорочення**

**musculus soleus щурів після хронічної алкоголізації», поданої до**

**офіційного захисту в разову спеціалізовану вчену раду при**

**Волинському національному університеті імені Лесі Українки на**

**здобуття наукового ступеня доктора філософії із галузі знань 09**

**Біологія за спеціальністю 091 Біологія**

### ***Актуальність теми дослідження***

Хронічна алкогольна міопатія є однією з найчастіших прояви алкогольної хвороби. Незважаючи на часту появу в популяції, патогенез і перебіг лишаються недостатньо вивчені. Загалом, ступінь і тяжкість алкогольної міопатії пропорційний кількості та тривалості вживання алкоголю

Доведено, що вживання алкоголю впливає на склад і метаболізм м'язових волокон як I, так і II типу. Тривале вживання алкоголю призводить до зниження синтезу м'язового білка та його вмісту у волокнах обох типів. Дослідження спостерігали більш значний вплив на волокна типу II, викликаючи їх перехід до більш окислювального фенотипу, подібного до характеристик волокон типу I. Ця трансформація волокон, викликана алкоголем, пов'язана зі зменшенням кількості волокон типу IIb і збільшенням кількості волокон типу IIa. Волокна типу II переважно беруть участь в анаеробних або інтенсивних навантаженнях, характеризуються швидкою швидкістю скорочення та нижчою окислювальною здатністю. Тривале вживання алкоголю призводить до змін у профілі експресії ізоформ МНС у волокнах типу II, сприяючи експресії ізоформи типу IIa та зменшуючи присутність ізоформи типу IIb. Дослідження показують, що цей перехід типу волокон може бути опосередкований змінами в експресії генів скелетних м'язів.

Міопатія, пов'язана з алкоголем, може виникнути незалежно від стану харчування чи нестачі вітамінів. Однак більшість досліджень показують, що підвищений рівень прооксидантів скелетних м'язів та зниження антиоксидантної здатності, ймовірно, посилюють симптоми, пов'язані з алкогольною міопатією. Тим не менш, вплив хронічного зловживання алкоголем на окислювально-відновний стан скелетних м'язів і окисно-відновні сигнальні шляхи, які приводять до клінічної картини алкогольної міопатії (наприклад, атрофії) залишаються погано визначеними. Тому, пошук нових субстанцій-протекторів м'язової міопатії щодо вільних радикалів є важливою проблемою сучасної фізіології, зокрема патологічних станів, пов'язаних з дисфункціями опорно-рухового апарата людини. Підтвердження позитивного (терапевтичного) впливу водорозчинних C<sub>60</sub> фулеренів на механокінетичні

параметри скорочення м'язів стане підґрунтям для розробки нових лікарських засобів проти м'язових патологій, а також сприятиме розробці ефективної терапії ранніх етапів ішемічного пошкодження скелетних м'язів людини.

Враховуючи вищезазначене, можна вважати, що дисертаційне дослідження Ван Наня присвячене актуальній і з теоретичної, і з практичної точок зору наукового завдання, яке стосується дослідження особливостей скорочення скелетних м'язів при алкоголізмі.

### ***Зв'язок теми дисертації з державними та галузевими науковими програмами***

Дисертація Ван Наня виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Волинського національного університету імені Лесі Українки та є частиною наукового дослідження в рамках науково-дослідної тематики кафедри фізіології людини і тварин ВНУ ім. Лесі Українки, а також виконана в межах проекту науково-технічної (експериментальної) розробки МОН України «Розробка технології застосування водорозчинних  $C_{60}$  фулеренів для зменшення втоми скелетних м'язів» (№ державної реєстрації 0121U109986).

### ***Ступінь обґрунтованості наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації***

Кваліфікаційними ознаками відповідності дисертаційної роботи Ван Наня є відповідність теми та змісту рукопису дисертації тим напрямкам виконаних досліджень, які відповідають паспорту спеціальності, обґрунтованість актуальності дослідження, новизна одержаних науково обґрунтованих результатів у галузі знань – Біологія, рівень визначальної участі аспіранта в отриманні наукових положень, висновків і в спільних публікаціях, ступінь апробації наукових результатів шляхом їх використання в практиці, публікаціях і виступах на науково-практичних конференціях.

Наукові положення та 6 висновків дисертаційної роботи Ван Наня є достовірними, оскільки базуються на достатньому матеріалі. Комплекс досліджень, які пов'язані з біомеханічними і біохімічними показниками, застосований здобувачем, та проведений статистичний аналіз отриманих даних повною мірою відповідають меті та завданням дослідження, що дозволило здобувачу отримати взаємодоповнюючі факти і дати їм комплексну оцінку. Висновки дисертаційної роботи відображають суть розв'язання поставлених завдань і досягнення основної мети дослідження.

Обсяг проведених досліджень, їх дизайн та адекватний якісний і кількісний склад матеріалу забезпечили правильне тлумачення отриманих результатів. Нові наукові дані є цілком очікуваними, пов'язані логічними причинно-наслідковими зв'язками з визначеними дисертантом актуальністю, метою, завданнями, застосованими методами, які у свою чергу, забезпечують відтворюваність результатів досліджень. Дисертаційна робота Ван Наня документована 13 рисунками і 1 таблицею, що сукупно є доказовим підтвердженням проведених ним досліджень біомеханічних, біохімічних та гістологічних показників, наочно демонструють фактичний матеріал,

отримані аспірантом наукові дані підкреслюють високу ступінь обґрунтованості дисертаційних положень.

### ***Достовірність і наукова новизна результатів дослідження***

Дисертація Ван Наня є самостійною науковою кваліфікаційною роботою, в якій наведено нове рішення актуального завдання сучасної фізіології м'язів.

У дослідженні Ван Наня новими є дані про те, що при розвитку хронічної алкогольної міопатії, застосування водорозчинного  $C_{60}$  фулерену в оптимальній дозі 1 мг/кг покращує процеси відновлення механокінетики скорочення після припинення алкоголізації. Всі описані зміни підтверджується аналізом біохімічних маркерів плазми крові, які відповідають за якість скорочувального процесу. Пріоритетним результатом є виявлена оптимальна схема застосування водорозчинного  $C_{60}$  фулерену для одержання найбільш вагомих позитивних результатів, зокрема, вживання  $C_{60}$  фулерену разом з алкоголем приводить до зменшення негативних ефектів хронічної алкогольної інтоксикації на 12-15% більше в порівнянні з схемою введення фулерену через годину після вживання алкоголю або за годину до його введення.

Автором уперше доведено, що схема спільного введення алкоголю та  $C_{60}$  фулерену приводить до віддалення часу виникнення процесів втоми при розвитку хронічної алкогольної міопатії, та покращує якість відновлення механокінетики скорочення скелетного м'яза і є ефективною саме при тривалому розвитку алкогольної міопатії.

Із практичної точки зору пріоритетним у дослідженні є розробка інноваційних фармакологічних препаратів на основі  $C_{60}$  фулеренів для покращення реабілітаційних процедур при міопатичних розладах, викликаних алкогольною інтоксикацією.

Таким чином, належний науковий рівень кваліфікаційної роботи здобувача Ван Наня, забезпечений дотриманням усіх вимог до дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії як на етапі її планування, так і на етапі її безпосереднього виконання – від обрання актуальної теми, визначення мети і конкретних завдань роботи, обрання комплексу методів дослідження бімеханічних, біохімічних та гістологічних показників, ретельною обробкою та аналізом результатів досліджень з їх порівнянням із сучасними даними наукових джерел, статистичним аналізом та узагальненням отриманих результатів.

### ***Теоретичне і практичне значення результатів дослідження.***

Одержані здобувачем дані є теоретичним науковим підґрунтям для використання описаного алгоритму на інших моделях, а також потребує додаткових досліджень із залученням додаткових методів.

Дисертантом проведено дослідження, спрямоване на вивчення ступеня протекторного впливу  $C_{60}$ ФВР на механокінетичні параметри тетанічного скорочення м'яза хронічно-алкоголізованих щурів з різною тривалістю

алкоголізації і виявити, коли терапевтичне втручання є найбільш ефективним. Тому результати цього дослідження доповнять вже відомий фактичний матеріал про механізми розвитку силової відповіді скелетних м'язів за умов алкогольної інтоксикації організму, а також стануть підґрунтям для розробки ефективної терапії різних стадій міопатичних скелетних м'язів людини за використання С<sub>60</sub>ФВР.

Отримані результати та висновки можуть бути використані в освітньому процесі для планування подальших наукових досліджень на кафедрі фізіології людини і тварин, Волинського національного університету імені Лесі Українки, при написанні наукових монографій, навчальних посібників та підручників, а також можуть стати базою для вдосконалення викладання матеріалу здобувачам освіти на кафедрі фізіології людини та дотичних кафедр медико-біологічного спрямування.

### ***Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій.***

Наукові положення та висновки, сформульовані в дисертації, є достовірними, оскільки базуються на достатньому фактичному матеріалі. Методи дослідження, застосовані автором, статистичний аналіз отриманих даних цілком відповідають меті та завданням дослідження. Це дозволило автору отримати взаємодоповнюючі факти і дати їм комплексну оцінку. Висновки дисертаційної роботи відображають суть виконання поставлених завдань і досягнення основної мети дослідження.

Обсяг проведених досліджень, адекватний вибір матеріалу забезпечили правильну інтерпретацію отриманих результатів. Нові наукові дані є цілком очікуваними, а використані методи дозволяють відтворювати результати досліджень. Наукова робота достатньо повно і якісно проілюстрована.

### ***Огляд результатів та висновків дисертації, аналіз дисертації за розділами.***

Дисертаційна робота є завершеною науковою працею, яка побудована в традиційному стилі. Матеріали дисертації викладені на 121 сторінці (100 сторінок основного тексту) і складається із анотацій, переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, опису методів дослідження, розділу результатів дослідження та узагальнення, висновків, списку використаних джерел. Автор посилається на 155 джерел. Роботу ілюстровано 13 рисунками і таблицею.

У «Вступі», який викладений на 4 сторінках (стор. 11-15), автор логічно обґрунтовує актуальність теми наукової роботи та необхідність вирішення завдань. У цьому розділі чітко визначені мета і завдання дослідження, вказані наукова новизна і практична цінність дисертаційної роботи, наведені матеріали апробації роботи до її офіційного захисту та публікації за темою дослідження.

Розділ 1 «Огляд літератури» викладений на 24 сторінках (стор. 16-40). Розділ має 9 підрозділів. Автор детально і критично проаналізував сучасні

вітчизняні і зарубіжні наукові першоджерела, присвячені фізіології скорочення алкоголізованих м'язів, причини розвитку у них процесів втоми, антиоксидантні системи організму та C<sub>60</sub> фулеренів.

Розділ 2 «Матеріали та методи дослідження» написаний на 27 сторінках (стор. 41-68). Здобувач в цьому розділі детально описує процедури індукції хронічної алкоголізації у лабораторних тварин, реєстрації параметрів скорочення камбалоподібного м'язу, методику приготування водного розчину C<sub>60</sub> фулеренів та біохімічного аналізу. Статистичне опрацювання отриманих результатів проводилося із урахуванням приналежності числових значень нормальному закону розподілу.

Дослідження виконані згідно з правилами «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986) і відповідно до норм біомедичної етики згідно із Законом України №: 3446 - IV 21.02.2006 р., м. Київ, «Про захист тварин від жорстокого поводження» з проведенням медико-біологічних досліджень. Комісією з питань біоетичної експертизи Волинського національного університету імені Лесі Українки (протокол № 3 від 15 грудня 2020 р.) не виявлено порушень морально-етичних норм при виконанні дисертаційної роботи.

У наступному розділі викладені результати власних досліджень та їх обговорення. Розділ 3 має шість підрозділів, викладений на 39 сторінках рукопису (стор. 69-97). Перший підрозділ «Використання механокенетичних маркерів для аналізу впливу водного розчину C<sub>60</sub> фулерену на динаміку м'язового скорочення хронічно-алкоголізованих щурів» продемонстрував, що використання такого маркеру як зміна часу початку силової відповіді м'яза дозволяє встановити тяжкість перебігу алкоголізації досліджуваних тварин та рівень міотичних пошкоджень нервово-м'язового препарату. Отримані у цьому розділі данні, показують наявність виражених захисних властивостей C<sub>60</sub> фулерену при терапії алкогольної міопатії.

Підрозділ 3.2 «Аналіз змін флуктуаційних коливань м'язової сили при терапії водорозчинним фулереном C<sub>60</sub> хронічно алкоголізованих щурів» містить результати про значний терапевтичний ефект дії застосованого фулерену на формування гладкого тетанічного скорочення, що в свою чергу впливає на зменшення рівня флуктуаційних коливань при скороченнях алкоголізованого м'язу, а також тут проаналізовані біохімічні маркери крові які є показниками фізіологічних порушень в м'язовій тканині внаслідок розвитку втоми, яка також відіграє значну роль в формуванні треморних реакцій м'язової системи. Зокрема показано зменшення рівня креатиніну, лактату, активності креатинфосфокінази та лактатдегідрогенази при використанні C<sub>60</sub> фулеренів як антиоксидантів при алкогольній міопатії. Підрозділ документований 3 інформативними рисунками.

У підрозділі 3.3. «Аналіз розвитку втомних процесів при розвитку алкогольної міопатії» проведено аналіз розвитку процесів втоми при розвитку алкогольної міопатії та після 2-х місяців реабілітаційного періоду, при застосуванні 1 Гц стимуляції. У підрозділі 3.4. «Вплив C<sub>60</sub> фулеренів на

відновлення динаміки скорочення *musculus soleus* щурів після хронічної алкоголізації» проаналізовано силу скорочення *musculus soleus* щурів через 1 місяць після припинення 9-ти місячної алкоголізації при застосуванні 1Гц стимуляції тривалістю 600с та біохімічні показники плазми крові, які є маркерами м'язових міопатій, зокрема, зміни рівнів креатиніну, креатинфосфокінази, лактату та лактатдегідрогенази. Також у даному розділі проаналізовано рівень про- та антиоксидантного балансу у гомогенаті *musculus soleus* алкоголізованих щурів.

У підрозділі 3.6 подається детальний аналіз гістологічних характеристик м'язових волокон алкоголізованих тварин та здійснено морфометричний аналіз товщини поперечного перерізу волокон камбалоподібного м'язу та прошарку сполучної тканини. Підрозділ містить таблицю із морфометричними даними та рисунок із поздовжнім та поперечним перерізом досліджуваних м'язових волокон.

У підрозділі Узагальнення отриманих результатів» автором проведено глибокий і детальний аналіз власних даних, отриманих в біомеханічних, біохімічних та гістологічних дослідженнях та здійснено порівняння їх із відомими положеннями з наукових джерел. Цей розділ викладений на 4 сторінках (стор. 98-101), достатньо інформативний, містить результати статистичного аналізу.

Завершенням дисертаційної роботи є п'ять висновків, які відповідають завданням дослідження, висвітлюють новизну проведеного наукового пошуку. Висновки повністю відображають матеріали дисертаційної роботи і ґрунтуються на отриманому автором фактичному матеріалі. Вони достатньо обґрунтовані, а їхня достовірність не викликає сумнівів.

Бібліографічний список використаної літератури містить 155 джерел; оформлений згідно з чинними стандартами.

### ***Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях***

Результати та основні наукові положення дисертаційного дослідження аспіранта Ван Наня повністю висвітлені та оприлюднені у восьми публікаціях, зокрема: дві статті у фахових виданнях, рекомендованих ВАК України; чотири статті у виданнях, що внесені до міжнародної наукометричної бази Scopus; троє тез у збірниках матеріалів конференцій. Питання, які висвітлюються у публікаціях, відображають зміст усіх розділів дисертації.

Вищенаведене дозволяє оцінити одержані результати, їх аналіз та сформульовані основні наукові положення і висновки як достовірні й такі, що не викликають сумнівів.

### ***Рекомендації щодо використання результатів дисертації у практиці***

Отримані результати та висновки можуть бути використані в освітньому процесі для планування подальших наукових досліджень на кафедрі фізіології людини і тварин, кафедри гістології, кафедри анатомії людини Волинського національного університету імені Лесі Українки, а також можуть стати базою

для вдосконалення викладання матеріалу здобувачам освіти на вказаних кафедрах медико-біологічного спрямування.

Отримані результати та висновки можуть бути використані для планування подальших фізіологічних і патофізіологічних досліджень щодо вивчення розвитку силової відповіді міопатичних скелетних м'язів на фоні патологічних станів різного генезу, а також розробки комплексної методики з діагностики і терапії ранніх етапів пошкодження скелетних м'язів людини за використання C<sub>60</sub>ФВР.

### **Дані про відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності**

Обґрунтованість результатів, висунутих дисертантом Ван Нанем засновується на узгодженості даних дослідження та наукових висновків. Достовірність наведених у рукописі та в публікаціях даних забезпечується використанням сучасних засобів і методів досліджень та виключною академічною доброчесністю автора. Публікації та дисертаційна робота Ван Наня не містить виявлених текстових та інших запозичень. У дисертації представлені посилання на першоджерела цитованої інформації.

### ***Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації***

Слід відмітити, що принципових і серйозних недоліків стосовно змісту дисертаційної роботи В. Наня не виявлено. Зауваження, які виникли при аналізі дисертації, не торкаються суті роботи і мають переважно редакційний та рекомендаційний характер. Зокрема:

1. Попри високу якість та інформативність рисунків деякі з них перевантажені графічним матеріалом, на деяких не пояснена достовірність змін, а позначення достовірності не уніфіковано.
2. У дисертаційній роботі не описано механізми потрапляння C<sub>60</sub> фулеренів всередину м'язових клітин та їх можлива побічна (токсична) дія на організм.
3. Дисертаційна робота демонструє ефективну антиоксидантну дію водорозчинних C<sub>60</sub> фулеренів проти дисфункції скелетного м'яза на тлі хронічної алкоголізації. А як у цьому випадку, на думку автора дисертації, можуть діяти інші відомі антиоксиданти? Чи проводилися таке порівняння?

### ***Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.***

На підставі вище зазначеного вважаю, що дисертаційна робота Ван Наня «Вплив C<sub>60</sub> фулеренів на динаміку скорочення musculus soleus щурів після хронічної алкоголізації», виконана самостійно і становить завершене наукове дослідження. В роботі дослідженню вплив водорозчинних C<sub>60</sub> фулеренів на динамічні параметри скорочення скелетних м'язів щурів після 3,6 та 9-ти місячної хронічної алкоголізації та зміни даних параметрів в процесі відновлення, через 1 та 2 місяці після припинення вживання алкоголю.

При написанні дисертації автор дотримався основних вимог наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 р. (із змінами згідно наказу МОН України № 759 від 31.05.2019 р.) «Про затвердження вимог до оформлення дисертації».

На підставі викладеного аналізу рукопису дисертації та публікацій автора за його темою, стверджую, що дисертаційна робота Ван Наня за актуальністю, методичним рівнем виконання, застосованими методами дослідження, науковою новизною і практичним значенням отриманих результатів, обґрунтованістю і достовірністю наукових положень і висновків відповідає Постанові Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44 «Порядок присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» щодо дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії, а її автор Ван Нань заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

**Офіційний опонент:**

**доктор біологічних наук, професор,**

**завідувач відділу фізіології рухів**

**Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця**

**НАН України**

**Костюков Олександр Іванович**