

ВІДГУК

офіційного опонента

на дисертаційну роботу Ван Наня
на тему: «Вплив C_{60} 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.

1. Актуальність дисертаційної роботи обумовлена проблемою адекватного визначення рівня ушкоджень скелетних м'язів при розвитку алкогольної міопатії, проблемою стандартизації контролю якості її терапії та реабілітаційних процедур, а також необхідності пошуку якісних методів відновлення пошкоджених м'язових структур. Тому, дослідження змін динаміки механокінетичних параметрів скорочення м'язів щурів, під час розвитку міопатії, та використання ін'єкцій фулеренів C_{60} (речовини із значними антиоксидантними властивостями), у різних часових проміжках та дозових діапазонах, дає можливість визначити основні механокінетичні маркери м'язової відповіді, на основі змін амплітудно-часових параметрів, завдяки яким можливо визначити ступінь перебігу патологічних станів м'язової системи. Отже, важливість проведення даного комплексу досліджень не викликає сумнівів.

Метою дисертаційної роботи Ван Наня було визначити вплив фулеренів C_{60} на динаміку скорочення *musculus soleus* щурів під час розвитку хронічної алкоголізації.

2. Зв'язок теми дисертації з державними та галузевими науковими програмами

Дисертаційна робота виконана у Волинському національному університеті імені Лесі Українки МОН України. Наукове дослідження Ван НАНЯ є частиною планової науково-дослідної роботи кафедри фізіології

людини і тварин «Динаміка м'язового скорочення при хронічній та гострій алкоголізації. Використання наночастинок фулеренів як антиоксилантів при ішемії та алкогольній міопатії» та виконана в межах проєкту науково-технічної (експериментальної) розробки МОН України «Розробка технології застосування водорозчинних C_{60} фулеренів для зменшення втоми скелетних м'язів» (№ державної реєстрації 0121U109986).

Тема дисертації була затверджена на засіданні Вченої ради Волинського національного університету імені Лесі Українки 11 листопада 2020 (протокол № 12).

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота за своєю структурою є достатньо канонічною і складається із класичних частин: «АНОТАЦІЯ, «ПЕРЕЛІК ОСНОВНИХ УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ», «ВСТУП», «ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ», «МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ», «РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ», «ВИСНОВКИ».

У Розділі 1 автор абсолютно слушно підкреслює складність аналізу отриманих механограм силової відповіді м'яза як у нормі, так і під впливом зовнішніх факторів на м'язове скорочення. Відмічається, що розвиток різноманітних м'язових патологій на різних стадіях може призводити до зміни різних механокінетичних параметрів, наприклад: зниження рівня утримання максимальної досягнутої силової позиції у процесі скорочення (за сталої миттєвої максимальної сили), збільшення часу досягнення максимальної сили, появи флуктуаційних складових на фазах утримання досягнутої цільової позиції, неспроможності утримувати досягнутий рівень скорочення упродовж усього періоду стимуляції, збільшення часу відновлення м'яза до початкового рівня, часової розбіжності за розвитку втоми і зміни часу досягнення гладкого тетанусу та інші. Тому пошук адекватних біомеханічних параметрів/маркерів розвитку м'язової патології хоча є складним, але абсолютно необхідним завданням.

Детально описані фізіологічні, біофізичні та біохімічні методи, які

використовували в роботі. Усі експерименти проводили на лабораторних щурах з дотриманням міжнародних принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986), та статті 26 Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№3447- 1V, 21.02.2006), а також усіх загальноприйнятих норм біоетики та біологічної безпеки.

Для реєстрації електрофізіологічних сигналів використовували аналого-цифровий та цифро-аналоговий перетворювач (АЦП-ЦАП). М'язові зусилля вимірювали за допомогою напівпровідникових тензодатчиків. В основному досліди проводили на камбалоподібному м'язі (*muscle soleus*), деякі на литковому (*muscle gastrocnemius*) м'язі щурів.

Для моделювання алкогольної міопатії використовували хронічну алкоголізацію, що призводила до системного прояву патологічних змін у м'язі. Втому м'язів викликали за допомогою послідовних електричних імпульсів. Для оцінки відповіді м'яза аналізували такі зміни біомеханічних параметрів (які слугували маркерами дисфункцій певної ланки у ланцюзі «збудження–відповідь») як:

1. рівень мінімальної сили скорочення;
2. час досягнення максимальної силової відповіді;
3. рівень максимальної сили скорочення;
4. імпульс м'язової сили;
5. час зменшення сили скорочення м'яза на 50% від початкового рівня;
6. час початку силової відповіді м'яза (зміна латентного періоду).
7. час виходу силових параметрів на початковий рівень.

Для отримання водного колоїдного розчину C_{60} фулеренів був застосований метод, який ґрунтується на переведенні молекул C_{60} фулерену з толуолу у воду з подальшим обробленням ультразвуком. Для перорального введення C_{60} фулеренів були використані дози 0,5, 1 і 2 мг/кг ваги у профілактичній (за 1 год до ініціації патології) і терапевтичній (після ініціації

патології) схемах введення та у суміші із алкоголем.

Розмір частинок C_{60} фулерену у водному розчині визначали методами атомно-силової мікроскопії (АСМ) та динамічного розсіювання світла (ДРС).

Рівень вмісту креатиніну, креатинфосфокінази, лактату, лактатдегідрогенази, реактивних речовин тіобарбітурової кислоти, пероксиду водню, відновленого глутатіону та активність каталази у крові піддослідних тварин, як маркерів пошкодження м'язів, визначали за допомогою гемоаналізаторів RNL-200 та JN-1101-TR2 (Нідерланди).

Статистичний аналіз отриманих результатів проведено за допомогою програми Statistica 10.0. Статистичну достовірність різниці між різними експериментальними групами визначали за t-критерієм Стьюдента. Експериментальні дані відповідали нормальному розподілу та мали ідентичні стандартні відхилення. Біохімічні дані представлені як середнє значення та стандартна похибка середнього для кожної групи. Значення $P \leq 0,05$ вважали значущими.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ. Результати досліджень представлені у шести підрозділах:

Використання механокенетичних маркерів для аналізу впливу водного розчину C_{60} фулерену на динаміку м'язового скорочення хронічно-алкоголізованих щурів

- Аналіз змін флуктуаційних коливань м'язової сили при терапії водорозчинним фуллереном C_{60} хронічно алкоголізованих щурів
- Аналіз розвитку втомних процесів при розвитку алкогольної міопатії
- Вплив C_{60} фулеренів на відновлення динаміки скорочення *musculus soleus* щурів після хронічної алкоголізації
- Концентрація алкоголю у крові піддослідних щурів

Список публікацій оформлено за встановленим стандартом.

Висновки логічно випливають з одержаних результатів, науково обгрунтовані, відповідають меті та завданням дослідження.

Ступінь обґрунтованості, достовірності наукових положень, висновків, рекомендацій. Достовірність одержаних у роботі результатів забезпечена, перш за все, використанням адекватних експериментальних підходів та методів, надійною статистичною обробкою кількісних результатів. Хочу відзначити, що при виконанні роботи був задіяний широкий спектр різноманітних експериментальних методів. Мова йде, перш за все, за методи тензометрії та механокінетичного аналізу, атомно-силової мікроскопії, динамічного розсіювання світла, а також за низку біохімічних методів (вони були залучені при визначенні рівня креатиніну, лактату, пероксиду водню, відновленого глутатіону, активностей каталази, креатинфосфокінази, лактатдегідрогенази у крові піддослідних тварин).

Повнота викладення результатів роботи в опублікованих працях. Основні результати дисертації достатньо повно відображено у фахових наукових виданнях, апробовано на вітчизняних і міжнародних спеціалізованих наукових форумах, а також запатентовано. В цілому ж мова йде за 6 статей, та 3 тез доповідей на наукових конференціях.

Наукова новизна отриманих результатів.

1. Ідентифіковані зміни механокінетичних параметрів скорочення м'язів та біохімічних показників крові щурів у випадку хронічної алкоголізації різної тривалості (три, шість та дев'ять місяців); 2. Накопичені дані щодо зміни механокінетичних параметрів скорочення скелетних м'язів та біохімічних показників крові щурів за хронічної алкоголізації і дії водорозчинних C₆₀ фулеренів у різних дозових діапазонах в залежності від схеми застосування фулеренів (до та після ініціації м'язової патології); 3. При виконанні роботи були встановлені важливі кореляційні зв'язки. Так, було встановлено кореляцію в системі «біомеханіка–біохімія» у випадку біомеханічних відповідей/механокінетичних параметрів та біохімічних показників крові щурів; в цьому аспекті механокінетичні параметри в певному ступені можна розглядати як потенційні показники розвитку патологічних процесів у алкоголізованому м'язі. З іншого боку, було встановлено кореляцію між

біомеханічними відповідями м'язів та біохімічними показниками крові щурів і дії водорозчинних фулеренів C_{60} . Цей результат є перспективним для оцінки рівня м'язового пошкодження при контролі ефективності різноманітних терапевтичних і реабілітаційних процедур.

Практична цінність дисертації. Очевидно, що дисертантом були одержані оригінальні експериментальні результати у галузі біофізики м'язів, які мають й практичну спрямованість. Дійсно, зареєстровані параметри скорочення м'язів та ефекти дії водорозчинних наночастинок фулеренів C_{60} , що були продемонстровані у дослідях на експериментальних тваринах у випадку різних схем застосування зазначених сполук, є перспективними для створення ефективних терапевтичних і реабілітаційних процедур та лікарських засобів, наприклад, при визначенні рівня м'язового пошкодження у випадку алкогольної міопатії.

Зауваження до дисертаційної роботи:

1. Доцільно було приділити більшу увагу можливій токсичній дії досліджуваного водного розчину C_{60} фулерену та біобезпечності його застосування.
2. Яким чином оцінювалась стабільність водного розчину фулеренів C_{60} ?
3. Чому у представленому дослідженні визначали саме такі біохімічні показники, адже існує низка інших маркерів?
4. Як ви вважаєте, дія водного розчину фулеренів C_{60} відбувається на центральному чи периферійному рівнях. І звідси, чи може даний розчин проникати через гематоенцефалічний бар'єр?

Зауваження і питання до здобувача головним чином торкаються інтерпретації отриманих даних, не применшують цінність і значення виконаної роботи та не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи. Сформульовані в дисертації наукові положення та висновки науково обґрунтовані та повністю викладені в опублікованих працях. Достовірність підтверджується змістом опублікованих робіт та оприлюдненням матеріалів

дисертації на наукових форумах. Робота виконана на адекватному методичному рівні і містить нові науково обґрунтовані факти.

Висновки про відповідність дисертації встановленим вимогам. На основі вищевикладеного вважаю, що дисертаційна робота «Вплив C₆₀ фулеренів на динаміку скорочення *musculus soleus* щурів після хронічної алкоголізації» є завершеним оригінальним науковим дослідженням, яке за актуальністю, новизною, важливістю, достовірністю, а також практичною цінністю одержаних наукових результатів відповідає усім вимогам щодо дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії: 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» та 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», а її автор – Ван Нань заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

Офіційний опонент:

кандидат біологічних наук
кафедри теорії спорту та
рухової активності людини
Гданського університету
фізичної культури і спорту
ім. Єнджея Снядецького

Андрій Мазниченко

Zakład Teorii Sportu i
Motoryczności Człowieka,
Akademia Wychowania
Fizycznego i Sportu
im. Jędrzeja Śniadeckiego w Gdańsku

dr Andrii Maznychenko