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 Омельчука

Олександр Ярославовича

на тему «Вплив ін'єкцій С60 фулеренів на розвиток рабдоміолізу спричиненого м'язовою травмою та пов'язаною з нею гострою нирковою недостатністю», 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

Рабдоміоліз є тяжким патологічним станом, що виникає внаслідок ушкодження поперечносмугастої м’язової тканини й супроводжується вивільненням м’язових компонентів у системний кровотік. Одним із найбільш небезпечних ускладнень рабдоміолізу є гостра ниркова недостатність, яка значно погіршує прогноз і збільшує ризик летальних наслідків. Поширення цього синдрому особливо актуалізується в умовах масових травм, фізичних перевантажень, бойових дій, а також як наслідок окремих фармакологічних впливів.

Сучасна медицина використовує переважно симптоматичні підходи до лікування рабдоміолізу та його ускладнень, не маючи у своєму розпорядженні ефективних засобів, здатних на молекулярному рівні попередити розвиток некрозу м’язової тканини чи ниркових структур. Тому пошук нових засобів, що здатні впливати на ключові патогенетичні механізми, залишається одним із пріоритетів медико-біологічних досліджень.

Серед новітніх перспективних речовин, що вивчаються у контексті антиоксидантного та протизапального захисту тканин, окреме місце займають фулерени, зокрема молекула С60. Властивості фулерену С60 як потужного нейтралізатора вільних радикалів, стабілізатора мембран і модулятора клітинної

відповіді, відкривають широкі можливості для його застосування у відновній та захисній терапії при різних типах клітинних уражень.

Незважаючи на активні дослідження наноструктур у медицині, потенціал C_{60} фулеренів у запобіганні або зменшенні тяжкості рабдоміолізу й пов'язаної з ним гострої ниркової недостатності залишається майже невивченим. Саме цим зумовлена актуальність дисертаційного дослідження, присвяченого експериментальному вивченню впливу ін’єкцій С60 фулеренів на динаміку зазначених патологічних процесів.

Отримані результати можуть не лише поглибити розуміння патогенезу рабдоміолізу, а й слугувати підґрунтям для створення інноваційних підходів до його профілактики й терапії із використанням наноматеріалів.

Ступінь обґрунтованості наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації

Наукові положення, висновки та рекомендації, сформульовані у дисертаційній роботі, ґрунтуються на достовірних результатах комплексного експериментального дослідження та є логічним завершенням проведеного наукового пошуку.

Достовірність отриманих результатів забезпечується використанням адекватних методик моделювання патологічного процесу (рабдоміоліз, гліцерин-індукована гостра ниркова недостатність), верифікованих біохімічних і морфологічних методів дослідження, а також застосуванням сучасного статистичного апарату обробки експериментальних даних. Обґрунтованість висновків підтверджується встановленими дозозалежними ефектами застосування водного розчину С60 фулеренів, статистично значущими змінами маркерів ниркової дисфункції та м’язового ушкодження, а також виявленими кореляційними залежностями між біохімічними та функціональними показниками.

Одержані результати свідчать про чіткий зв’язок між застосуванням фулерену С60 та зменшенням проявів патологічного процесу (зниження біохімічних маркерів на 20–30% при дозі 1 мг/кг та додаткове зниження на 12–15% при дозі 2 мг/кг), що дозволяє стверджувати про наявність біологічно

значущого ефекту досліджуваної сполуки. Надійність висновків додатково підтверджується сильними кореляційними зв'язками між антиоксидантними ферментами та ступенем ниркового ураження ($r \geq 0,94$), що свідчить про патогенетичну обґрунтованість впливу фулерену.

Крім того, досягнута оптимізація експериментальної моделі гліцерин-індукованого рабдоміолізу підвищує її інформативність та відтворюваність, що має значення для подальших досліджень у галузі нефротоксикології.

Зазначене свідчить про належний рівень наукової новизни, теоретичної та практичної значущості положень і висновків дисертаційної роботи, а також про високий ступінь їх наукової обґрунтованості.

Достовірність і наукова новизна результатів дослідження

Достовірність отриманих результатів забезпечується науково обґрунтованим підходом до вибору методів дослідження, чітким дотриманням протоколів експериментальної роботи, використанням валідованих біохімічних, морфологічних та функціональних методик, а також статистичною обробкою даних із застосуванням відповідного математичного апарату. Експерименти проведено із дотриманням принципів біоетики, а використані моделі рабдоміолізу та гострої ниркової недостатності відповідають сучасним вимогам до доклінічних досліджень. Отримані дані є внутрішньо узгодженими, мають високий рівень відтворюваності та статистичної значущості.

Наукова новизна дисертаційного дослідження полягає у вперше проведеній комплексній оцінці впливу ін'єкцій фулерену С60 на перебіг експериментального рабдоміолізу та асоційованої з ним гострої ниркової недостатності. Вперше встановлено дозозалежну ефективність водного розчину С60 фулеренів у зниженні рівнів біомаркерів м'язового та ниркового ушкодження. Виявлено сильний кореляційний зв'язок між активністю антиоксидантних ферментів плазми крові (каталаза, супероксиддисмутаза) та тяжкістю ураження ниркової тканини, що дозволяє розглядати ці ферменти як потенційні прогностичні маркери ефективності терапії. Також удосконалено експериментальну модель гліцерин-індукованого рабдоміолізу шляхом оптимізації дозування, що підвищує її відтворюваність і цінність для

подальших токсикологічних і фармакологічних досліджень.

Таким чином, отримані результати поглиблюють сучасні уявлення про патогенетичні механізми розвитку рабдоміолізу та нефропатій, відкривають нові перспективи для застосування наноматеріалів — зокрема, фулеренів — як потенційних засобів патогенетичної терапії посттравматичних уражень скелетних м’язів і нирок.

Таким чином, належний науковий рівень кваліфікаційної роботи здобувача Омельчука О.Я., 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.

Результати проведеного дослідження мають вагоме теоретичне значення, оскільки поглиблюють сучасні уявлення про патогенетичні механізми ушкодження м’язової та ниркової тканин при рабдоміолізі, зумовленому гострою травмою, та розвиток асоційованої з ним гострої ниркової недостатності. На основі експериментальних даних автором обґрунтовано важливу роль оксидативного стресу та дисбалансу між прооксидантною і антиоксидантною системами в прогресуванні патологічного процесу. Виявлено виражену залежність між активністю ключових антиоксидантних ферментів (каталази, супероксиддисмутази) і ступенем ниркового ураження, що дозволяє розглядати ці ферменти як чутливі біомаркери перебігу рабдоміолізу.

Наукова новизна доповнена теоретичною інтерпретацією впливу фулерену С60 як біологічно активної наноструктурованої сполуки з антиоксидантними властивостями, здатної модулювати перебіг ушкоджень, пов’язаних з порушенням цілісності м’язових волокон та наступним порушенням функції нирок. Результати експериментальних досліджень

сприяють формуванню наукового підґрунтя для подальших досліджень у галузі наномедицини, токсикології, нефропатології та травматології.

Практичне значення отриманих результатів полягає у можливості використання водного розчину С60 фулеренів як потенційного засобу для профілактики та зниження тяжкості патологічних змін при травматичному рабдоміолізі, а також у комплексній терапії гострої ниркової недостатності нефротоксичного генезу. Показана дозозалежна ефективність фулерену С60 у зниженні біохімічних маркерів м'язового і ниркового ушкодження відкриває перспективи для його подальшого вивчення в рамках доклінічних та клінічних досліджень.

Крім того, удосконалена модель гліцерин-індукованого рабдоміолізу, яка запропонована в роботі, може бути застосована у майбутніх експериментальних дослідженнях для більш точного відтворення патологічного процесу та тестування нових нефропротекторних агентів. Експериментальний матеріал та методологічні підходи, реалізовані у дисертаційній роботі, можуть бути впроваджені у науково-дослідну діяльність профільних лабораторій, а також використовуватись у навчальному процесі при викладанні курсів патофізіології, клінічної біохімії, фармакології, експериментальної медицини та токсикології.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій.

Результати та наукові висновки, представлені в дисертації, мають високу ступінь достовірності, оскільки ґрунтуються на репрезентативному емпіричному матеріалі. Обрані автором методики дослідження та проведений статистичний аналіз відповідають сформульованим цілям і завданням, що забезпечило можливість отримання взаємопов'язаних результатів та їх всебічної інтерпретації. У висновках чітко простежується реалізація дослідницьких цілей і повне вирішення поставлених наукових проблем.

Обсяг і характер проведеної роботи, а також доцільний підхід до вибору вихідних даних сприяли точному тлумаченню отриманих результатів. Одержані автором нові знання мають наукову логіку і підтверджуються

використаними методами, що дозволяє забезпечити їх повторюваність. Матеріали дослідження подано повно й аргументовано, супроводжуючи відповідною наочністю.

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. 16-39). Перший розділ роботи присвячено ґрунтовному огляду сучасної наукової літератури щодо рабдоміолізу, його причин, механізмів розвитку та ускладнень. У підрозділах детально розглянуто етіологію та основні етіологічні чинники цього патологічного стану, описано ключові патофізіологічні механізми ураження скелетних м’язів та патогенез гострого пошкодження нирок, яке часто супроводжує рабдоміоліз. Особливу увагу приділено сучасним підходам до детоксикаційної терапії в умовах рабдоміолізу. Завершує розділ аналіз біологічних властивостей фулеренів, які розглядаються як потенційні засоби для корекції порушень, пов’язаних із цим синдромом.

Розділ 2 «Матеріали та методи дослідження» написаний на 18 сторінках (стор. 40-58). Другий розділ роботи містить детальний опис матеріалів і

методів, використаних для моделювання гострої ниркової недостатності (ГНН), спричиненої рабдоміолізом, у лабораторних щурів. У ньому наведено характеристику експериментальної моделі, включаючи хірургічні втручання, анатомо-гістологічні особливості м'яза *musculus soleus* та специфіку використовуваного обладнання. Окрему увагу приділено методикам визначення біохімічних показників, що відображають перебіг ГНН, вимірюванню параметрів скорочення м'яза, а також проведенню гістологічного аналізу тканин. Представлено спосіб приготування водного розчину С60 фулерена як потенційного терапевтичного агента та описано методи статистичної обробки отриманих результатів для забезпечення їх достовірності.

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 № 2 від 15 грудня 2021 р.) не виявлено порушень морально-етичних норм при виконанні дисертаційної роботи.

У наступному розділі викладені результати власних досліджень та їх обговорення. Розділ 3 має пять підрозділів, викладений на 50 сторінках рукопису. Третій розділ присвячено аналізу експериментальних результатів і їх обговоренню в контексті впливу водного розчину С60 фулеренів на перебіг рабдоміолізу та пов'язаної з ним гострої ниркової недостатності. Подано результати дослідження на гліцероловій моделі, що демонструють здатність фулерена С60 знижувати вираженість ниркової дисфункції. Наведено оцінку про- та антиоксидантного балансу, що дозволяє виявити антиоксидантний потенціал препарату. Проведено кореляційний аналіз для встановлення взаємозв'язку між біохімічними маркерами ураження нирок та ступенем м'язового пошкодження. Описано гістологічні зміни тканин, які підтверджують морфологічний ефект терапії. Завершальною частиною розділу

є аналіз ефективності С60 при моделюванні рабдоміолізу, викликаного м'язовою травмою закритого типу, що підсилює доказову базу щодо його нефропротекторної дії.

У підрозділі Узагальнення отриманих результатів» автором проведено загальнтй підсумок аналізу власних даних, отриманих в біомеханічних, біохімічних та гістологічних дослідженнях та здійснено порівняння їх із відомими положеннями з наукових джерел. Цей розділ викладений на 3 сторінках, 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 165 джерел; оформлений згідно з чинними стандартами.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях

Основні результати дисертаційної роботи аспіранта Омельчука О.Я. знайшли повне відображення у семи наукових публікаціях. Серед них: три статті, опубліковані у фахових виданнях, включених до переліку ВАК України (Категорія А, індексація в базі Scopus), одна стаття у журналі, що входить до першого квартиля бази Scopus (Q1), а також три тези, опубліковані у матеріалах наукових конференцій. Тематика опублікованих робіт охоплює всі розділи дисертації та відповідає її змісту.

Цей факт свідчить про наукову обґрунтованість отриманих результатів, їх ретельний аналіз, а також підтверджує вірогідність сформульованих положень і висновків, які не викликають сумнівів щодо своєї достовірності.

Рекомендації щодо використання результатів дисертації у практиці

*Р*езультати, отримані в ході дисертаційного дослідження, а також сформульовані на їх основі висновки можуть бути ефективно використані в

освітньому процесі з метою удосконалення навчальних програм та планування подальших наукових досліджень на кафедрах фізіології людини і тварин, гістології та анатомії людини Волинського національного університету імені Лесі Українки. Здобуті дані мають практичну цінність для забезпечення підготовки фахівців медико-біологічного спрямування, зокрема через інтеграцію новітніх наукових підходів до аналізу клітинно-тканинних реакцій в умовах патологічних станів.

Одержані результати можуть також слугувати підґрунтям для розвитку подальших фізіологічних і патофізіологічних досліджень, що стосуються вивчення особливостей силової відповіді скелетних м'язів за умов міопатичних змін, спричинених рабдоміолізом різного ґенезу, зокрема медикаментозного, токсичного чи травматичного походження. Особливу актуальність становить дослідження ефективності застосування фулерену С60ФВР як потенційного захисного та терапевтичного агента на ранніх етапах ураження м'язової тканини, а також при розвитку гострої ниркової недостатності, пов'язаної з міолітичними процесами. Представлені результати можуть бути використані для формування комплексного підходу до ранньої діагностики та лікування зазначених станів.

Дані про відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності

Обґрунтованість результатів, висунутих дисертантом Омельчуком О.Я. 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 Омельчука О.Я. 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 Омельчука О.Я. 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 С60 фулеренів всередину м'язових клітин та їх можлива побічна (токсична) дія на організм.
3. Дисертаційна робота демонструє ефективну антиоксидантну дію водорозчинних С60 фулеренів проти дисфункції скелетного м'яза на тлі хронічної ниркової недостатності. 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 Омельчука О.Я. «Вплив ін'єкцій C_{60} фулеренів на розвиток рабдоміолізу спричиненого м'язовою травмою та пов'язаною з нею гострою нирковою недостатністю», виконана самостійно і становить завершене наукове дослідження. В роботі досліджено біомеханічні, біохімічні та морфологічні зміни, що виникають за м'язових травм, спричинених руйнуванням скелетного м’язу різних ступенів важкості, з подальшим рабдоміолізом і розвитком гострої ниркової недостатності. Проведене дослідження має значну наукову та практичну цінність, оскільки дозволяє глибше зрозуміти патогенетичні механізми рабдоміолізу та пов’язаної з ним гострої ниркової недостатності, що виникають внаслідок м’язових травм різного ступеня тяжкості. Вперше на експериментальній моделі продемонстровано виражений терапевтичний потенціал водного розчину С60 фулеренів у зменшенні біомеханічних, біохімічних та морфологічних порушень у скелетних м’язах та нирках.

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 Омельчука Олександра 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 Омельчук О.Я. 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**