

ВІДГУК

офіційного опонента

на дисертаційну роботу Омельчука Олександра Ярославовича
на тему: «Вплив ін'єкцій C_{60} 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.

1. Актуальність дисертаційної роботи.

Рабдоміоліз, як наслідок м'язової травми, є небезпечним патологічним станом, що характеризується руйнуванням м'язових волокон з вивільненням їхнього вмісту у системний кровотік. Одним із найсерйозніших ускладнень рабдоміолізу є гостра ниркова недостатність (ГНН), що розвивається внаслідок токсичного впливу міоглобіну та інших метаболітів на ниркову паренхіму. Незважаючи на сучасні досягнення у лікуванні травматичних уражень та критичних станів, ефективна терапія, спрямована на запобігання прогресуванню ГНН у контексті рабдоміолізу, залишається обмеженою. Це обумовлює необхідність пошуку нових підходів до профілактики та лікування зазначених ускладнень, зокрема шляхом впровадження нанобіотехнологічних засобів.

Серед перспективних засобів у цьому напрямі особливу увагу привертають C_{60} фулерени – наноструктуровані вуглецеві сполуки, що мають виражені антиоксидантні, мембраностабілізуючі та протизапальні властивості. Їх здатність нейтралізувати вільні радикали та запобігати оксидативному стресу дає підстави вважати, що ці молекули можуть ефективно захищати м'язову та ниркову тканину при рабдоміолізі. Дослідження впливу C_{60} фулеренів на механізми м'язового ушкодження і подальшого розвитку ГНН має не лише теоретичне, а й суттєве практичне значення для розробки нових засобів терапії та профілактики гострих уражень, пов'язаних з м'язовою

деструкцією.

2. Метою дисертаційної роботи Омельчука Олександра було дослідити вплив дії C60 фулеренів, як антиоксидантів, на розвиток ГНН індукованої рабдоміолізісним та гліцероловим ушкодженням м'язової тканини різних ступенів тяжкості.

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

У **Розділі 1** дисертації, відповідно до сучасних уявлень про патогенез м'язових ушкоджень, автор цілком обґрунтовано акцентує увагу на тому, що рабдоміолізіс є не лише результатом безпосереднього механічного травмування м'язової тканини, але й складним біохімічним процесом, що супроводжується активацією оксидативного стресу, запальних каскадів та порушенням цілісності сарколеми. На основі аналізу літературних джерел, зокрема робіт Zager, et al. та Bosch, et al., слушно підкреслюється, що ключову роль у розвитку вторинних ускладнень, таких як гостра ниркова недостатність, відіграє надмірне вивільнення міоглобіну, калію, креатинфосфокінази та інших внутрішньоклітинних компонентів у кровотік, що призводить до нефротоксичних ефектів і мікроциркуляторних порушень у нирках.

Водночас у розділі справедливо зазначено, що класичні підходи до діагностики та оцінки ступеня ураження м'язів у разі рабдоміолізу часто зводяться до аналізу лише ізольованих біохімічних показників або морфологічних змін. Проте, згідно з даними Yamasaki, et al., цього недостатньо для виявлення початкових або субклінічних проявів дисфункції скорочувального апарату м'язів. Тому автор актуалізує необхідність інтеграції біомеханічних підходів, що дозволяють аналізувати не тільки максимальні

значення сили скорочення, але й динаміку її розвитку, витривалість у фазі тетанічного утримання, параметри скорочення-розслаблення, а також латентний період після стимуляції. Такий підхід забезпечує комплексне розуміння характеру м'язового ураження і дозволяє оцінити ефективність потенційного захисту тканин за умов застосування наноструктурованих антиоксидантів, зокрема C₆₀ фулеренів.

У **Розділі 2** дисертації, спираючись на сучасні експериментальні моделі, автор докладно обґрунтовує вибір гліцерин-індукованого рабдоміолізу як відтворюваної та клінічно релевантної моделі ушкодження скелетних м'язів з подальшим розвитком гострої ниркової недостатності. Відповідно до поглядів Eriksson, et al. та Warren, et al., така модель дозволяє відтворити ключові патофізіологічні механізми патологічного процесу – зокрема лізис м'язових клітин, вивільнення міоглобіну, порушення мікроциркуляції та розвиток запальної реакції у нирковій тканині. Автор цілком логічно підкреслює, що ін'єкційне введення гліцерину у м'яз у визначених дозах (5, 10 і 15 мг/кг) дає змогу варіювати ступінь тяжкості ушкодження та створити умови для вивчення дозозалежних ефектів захисних агентів.

У роботі також наведено обґрунтовану схему введення водного розчину C₆₀ фулеренів, що базується на попередніх дослідженнях його безпечності, антиоксидантної активності та фармакокінетичних характеристик (згідно з даними Andrievsky, et al. та Gharbi, et al.). Автор слушно зазначає, що використання фулеренів як перспективних нейтралізаторів активних форм кисню у цій моделі дозволяє не лише вивчити їхній прямий вплив на збереження біомеханічних властивостей м'язової тканини, а й оцінити ступінь запобігання вторинному ушкодженню нирок. Особливо цінним у методологічному аспекті є використання комплексного підходу, який включає аналіз функціональних, біохімічних, гістологічних і біомеханічних параметрів, що значно підвищує достовірність та інтерпретативність результатів експерименту.

У **Розділі 3** автор на підставі отриманих експериментальних даних

всебічно аналізує зміни біомеханічних показників скелетного м'яза у тварин з індукованим гліцерином рабдоміолізом та на тлі введення водного розчину C_{60} фулеренів. Відповідно до підходів, описаних у роботах Gorio, et al. та Yamasaki, et al., цілком слушно підкреслюється, що не лише максимальна сила скорочення, а й такі параметри як t_{50} (час зниження сили на 50%), імпульс сили скорочення (S), латентний період до початку скорочення (t_{start}), F_{min} та F_{max} мають критичне значення для оцінки функціонального стану м'яза.

Автор переконливо демонструє, що у тварин з рабдоміолізом спостерігається зниження показників витривалості та швидкості скорочення, наявність ознак скоротливої втоми, порушення здатності утримувати тетанічне зусилля. Водночас введення C_{60} фулеренів суттєво зменшує прояви цих порушень, зберігаючи більш стабільні характеристики сили та динаміки скорочення. Такий ефект, за логікою автора, може бути зумовлений як прямим антиоксидантним впливом, так і стабілізацією клітинних структур м'язової тканини. У роботі обґрунтовано наголошується, що біомеханічний аналіз є надзвичайно чутливим інструментом для раннього виявлення функціональної патології навіть у випадках, коли морфологічні зміни ще відсутні або незначні.

У **Розділі 4** автор переходить до комплексної гігієнічно-медичної оцінки впливу рабдоміолізу на функціональний стан нирок, зосереджуючи увагу на біохімічних, функціональних та морфологічних показниках. Відповідно до сучасних концепцій гострої ниркової недостатності, висвітлених у роботах Zager, et al. та Sheerin, et al., у роботі обґрунтовано показано, що наслідки м'язового руйнування безпосередньо призводять до порушення клубочкової фільтрації, затримки азотистих метаболітів, електролітного дисбалансу та мікросудинної дисфункції. Автор демонструє, що застосування C_{60} фулеренів у дослідній групі тварин призводить до зменшення вираженості ниркової недостатності, збереження швидкості клубочкової фільтрації, зниження рівня фракційної екскреції натрію, а також до менш виражених гістоморфологічних ушкоджень каналцевого епітелію. Такий підхід свідчить про не лише локальний, але й системний протекторний ефект фулеренів. У підсумку, розділ

підсилює загальну ідею дисертації про потенційну ефективність наноструктурованих антиоксидантів у профілактиці критичних ускладнень рабдоміолізу, що може мати подальше значення для доклінічних досліджень та створення нових терапевтичних стратегій.

Список публікацій оформлено за встановленим стандартом.

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

Ступінь обгрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій

Достовірність та обгрунтованість результатів, отриманих у дисертаційній роботі, підтверджується використанням сучасних, адекватно підібраних методів дослідження, що дозволяють комплексно охарактеризувати як функціональні, так і біохімічні прояви рабдоміолізу та його ускладнень. У роботі застосовано широкий арсенал експериментальних підходів, серед яких провідну роль відіграють методи тензометрії та механокінетичного аналізу для оцінки скоротливої активності м'язів, що дозволяє точно визначити ключові біомеханічні параметри м'язових скорочень у нормі та при патології.

Крім того, достовірність даних посилюється застосуванням атомно-силової мікроскопії та динамічного розсіювання світла для вивчення структурного стану наноформ фулеренів, а також використанням цілого комплексу біохімічних методів. Останні були залучені для визначення вмісту креатиніну, лактату, перекису водню, відновленого глутатіону та активностей основних ферментів (каталаза, креатинфосфокіназа, лактатдегідрогеназа), що дозволило об'єктивно оцінити ступінь ураження м'язової та ниркової тканини. Надійна статистична обробка даних, яка супроводжує кожен етап аналізу, додатково підтверджує репрезентативність та об'єктивність отриманих висновків і рекомендацій, що мають прикладне значення у контексті подальших досліджень та розробки нових терапевтичних стратегій.

Повнота викладення результатів роботи в опублікованих працях.

Основні результати дисертації достатньо повно відображено у фахових наукових виданнях та апробовано на вітчизняних і міжнародних спеціалізованих наукових конференціях. В цілому ж мова йде про 4 статті у журналах, що входять до наукометричної бази Scopus, та 3 тез доповідей на наукових конференціях.

Наукова новизна отриманих результатів.

Уперше експериментально доведено, що водний розчин C_{60} фулеренів чинить захисну дію на скелетні м'язи та нирки при моделюванні рабдоміолізу, спричиненого м'язовою травмою та ін'єкцією гліцеролу. Встановлено, що введення C_{60} фулеренів значно зменшує ступінь м'язового ушкодження, нормалізує біомеханічні параметри скорочення м'язів (зокрема t_{50} , F_{min} , F_{max} , S), а також знижує рівень біохімічних маркерів ниркової дисфункції, таких як зниження клубочкової фільтрації та фракційна екскреція натрію.

Отримані результати розширюють уявлення про механізми антиоксидантної дії фулеренів у контексті гострого пошкодження м'язової та ниркової тканини, зокрема шляхом впливу на оксидативний стрес, стабілізацію клітинних мембран та зменшення запальної відповіді. Запропонована модель застосування C_{60} фулеренів у складі експериментальної терапії рабдоміолізу може стати основою для подальшої доклінічної розробки нових фармакологічних засобів із високим потенціалом клінічного використання.

Практична цінність дисертації. Результати дисертаційного дослідження мають важливе прикладне значення для експериментальної медицини, токсикології та нефрології. Вперше продемонстровано можливість ефективного використання водного розчину C_{60} фулеренів як потенційного протекторного засобу при рабдоміолізі, що дозволяє зменшити тяжкість м'язового ушкодження і ризик розвитку гострої ниркової недостатності. Запропонований підхід дає змогу удосконалити моделі профілактики і корекції ускладнень, зумовлених критичними травматичними станами.

Отримані дані можуть бути використані для розробки нових напрямів фармакотерапії з використанням наноструктурованих антиоксидантів, а також при створенні реабілітаційних і захисних засобів у клінічній практиці для пацієнтів з високим ризиком розвитку рабдоміолізу та пов'язаної з ним ГНН. Матеріали дисертації можуть бути впроваджені у навчальний процес кафедр біомедицини, патофізіології та фармакології для підвищення рівня підготовки фахівців у сфері громадського здоров'я та клінічної медицини.

Зауваження до дисертаційної роботи:

- Недостатня деталізація механізму дії C₆₀ фулеренів на молекулярному рівні

Хоча в дисертації зазначено, що C₆₀ фулерени мають антиоксидантні властивості, бракує чіткого опису молекулярних шляхів, які опосередковують їхній вплив на м'язову тканину та нирковий епітелій. Було б доцільно доповнити розділ обговорення результатів аналізом сигнальних каскадів (наприклад, NRF2, NF-κB, MAPK), які могли б бути залучені до ефектів фулеренів.

- Обмежена інформація про побічні ефекти чи токсикокінетику C₆₀ фулеренів

У роботі не наведено докладного аналізу можливих побічних ефектів або токсичних проявів при введенні різних доз фулерену, що важливо для оцінки безпеки перспективного терапевтичного агента. Особливо зважаючи на потенційне використання наноматеріалів у клінічній практиці.

- Відсутність порівняння з іншими відомими антиоксидантами або протекторними засобами. Дисертація не містить порівняння ефективності C₆₀ фулеренів з іншими антиоксидантами (наприклад, вітамін Е, N-ацетилцистеїн), що обмежує широту інтерпретації отриманих результатів та не дає змоги визначити, наскільки унікальним є ефект досліджуваної сполуки.

- Не зовсім чітке формулювання висновків щодо причинно-наслідкового зв'язку між рабдоміолізом і гострою нирковою недостатністю

У висновках зазначається, що C_{60} фулерени знижують рівень ГНН, але не уточнюється, наскільки цей ефект є прямим (тобто через зменшення м'язового руйнування) чи вторинним через вплив на інші системи (ендотелій, гомеостаз електролітів тощо).

- Структурна надмірність і неуніфікований стиль викладення в окремих розділах

У роботі подекуди наявні повторення, стилістичні надмірності, а також іноді порушена логіка викладу, особливо в обговоренні результатів. Наприклад, позитивні ефекти фулеренів описуються в кількох параграфах без систематизації, що ускладнює сприйняття загальної картини.

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 ін'єкцій C_{60} фулеренів на розвиток рабдоміолізу спричиненого м'язовою травмою та пов'язаною з нею гострою нирковою недостатністю» 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 – Омельчук Олександр заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

Офіційний опонент:

кандидат біологічних наук
кафедра 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