

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію **Кошевого Всеволода Ігоровича** на тему «**Зниження репродуктивної здатності кнурів-плідників за оксидативного стресу та методи її корекції**», подану на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 21 «Ветеринарна медицина» та спеціальності 211 «Ветеринарна медицина»

Актуальність теми дисертації. Організм кнурів, їх статеві системи й сперма вразливі до дії біолого-технологічних факторів. Сперма зазнає ушкоджуючої дії при використанні репродуктивних технологій, що проявляється дисбалансом у системі антиоксидантного захисту. У переважній більшості випадків неплідності самців провідним патогенетичним механізмом постає оксидативний стрес, що являє собою стан, за якого в організмі відбувається накопичення токсичних продуктів пероксидації й відмічається зменшення активності антиоксидантної захисної системи.

Особливу увагу при розробці засобів, що корегують функції статевої системи приділяють питанням безпечності, в першу чергу, для організму, й зокрема, статевих залоз тварин. Перспективним напрямом у створенні засобів корекції оксидативного стресу є розробка наноматеріалів, що виявляють редоксактивні властивості, зокрема церію діоксиду та на основі ванадатів рідкісноземельних елементів.

Наразі на тлі значної кількості досліджень в гуманній медицині впливу оксидативного стресу на репродуктивну функцію та напрямків його корекції, у ветеринарній медицині вивчення даної проблеми має поодинокий не систематизований характер, а отримані результати обмежено використовуються в практичній діяльності.

Актуальність дисертаційної роботи підкреслюється тим, що вона виконана у рамках ініціативної теми кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету «Розроблення та впровадження інноваційних методів та рішень з використанням інформаційно-технічних приладів у ветеринарній репродуктології» (номер державної реєстрації 0114U005415, 2015-2025 рр.).

Виходячи із наведеного вище можна стверджувати про наукову і практичну актуальність обраного напрямку досліджень: науково-експериментальному обґрунтуванню патогенетичних механізмів зниження репродуктивної здатності кнурів і розробці способу її корекції редоксактивними наночастинками.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше на основі комплексних досліджень біохімічних механізмів зниження репродуктивної здатності кнурів обґрунтовано можливість застосування наночастинок оксидів рідкісноземельних елементів з вираженими антиоксидантними властивостями.

Показано значне збільшення кількості маркерів оксидативного стресу у тварин зі зниженням репродуктивної здатності (тіобарбітурат-активних

продуктів, дієнових кон'югатів), уперше визначено вміст стабільних метаболітів циклу Нітрогену оксиду, що був вірогідно вищим порівняно з кнурами із повноцінною репродуктивною здатністю. Отримано нові наукові дані щодо активності антиоксидантної захисної системи (зниження активності каталази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, вмісту відновленого глутатіону, вітамінів А, Е, С), а також збільшення сироваточного вмісту тестостерон-естрадіолзв'язуючого глобуліну за зниження репродуктивної здатності.

Уперше доведено ефективність використання наночастинок гадолінію ортованадату для корекції репродуктивної здатності кнурів. Доведено їх позитивний вплив на інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантний статус сироватки, що знайшло відображення в покращенні показників якості сперми у кнурів.

Подано перевагу застосування у кнурів наночастинок гадолінію ортованадату як вітамінно-гормональним препаратом, а також розробленого способу корекції репродуктивної функції кнурів за виробничими показниками.

Практична цінність результатів та висновків роботи і рекомендацій до їх використання. Результати наукових досліджень та їх апробація у господарствах Дніпропетровської області дозволили запропонувати для виробництва спосіб корекції зниження репродуктивної здатності кнурів за оксидативного стресу, заснований на використанні наночастинок гадолінію ортованадату, який забезпечує нормалізацію гормонального фону та еякулятів кнурів із зниженою репродуктивною здатністю.

Матеріали дисертації можуть використовуватись у навчальному процесі і науково-дослідній роботі здобувачів вищої освіти за спеціальностями 211 Ветеринарна медицина та 212 Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза, підвищенні кваліфікації спеціалістів ветеринарної медицини, а також в наукових установах ветеринарного і біологічного профілів.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Сформульовані наукові положення, висновки і рекомендації у представленій дисертації базуються на обґрунтованому виборі напрямку, мети та завдань дослідження, адекватній методології та використанні сучасних методів досліджень, достовірних результатах власних досліджень, а також позитивних результатах їх апробації, які підтверджуються первинною документацією. Зміст дисертації відповідає її темі і повністю розкриває мету та завдання роботи.

Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій дисертації не викликає сумніву, оскільки підтверджується:

- високим методичним рівнем поставлених експериментів, логічністю та послідовністю виконання серій досліджень;
- адекватністю вибраних методів досліджень відповідно поставленим меті і завданням;
- достатньою для одержання вірогідних даних, кількістю тварин, які

були залучені до експериментів;

- статистичною обробкою одержаних результатів, що дало можливість встановити їх вірогідність.

Отже, на основі вище зазначеного можна зробити висновок, що ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і практичних рекомендацій дисертації, які витікають з результатів досліджень є достатньо високим.

Повнота викладу наукових результатів дисертації в публікаціях. Основні положення дисертаційної роботи викладено у 21 науковій праці, з них 3 статті – у наукових фахових виданнях, включених до наукометричної бази даних Scopus, 4 статті – у наукових фахових виданнях України, стаття – у періодичному науковому виданні країн Європейського союзу (Польща), розділ колективної монографії (Словаччина), науково-методичні рекомендації та 11 тез у матеріалах наукових конференцій. В опублікованих роботах достатньо повно викладені результати досліджень і основні положення дисертаційної роботи.

Основні результати доповідались, обговорювались і були схвалені на чисельних міжнародних і всеукраїнських науково-практичних конференціях, що дає підставу стверджувати про важливість виконаних здобувачем дисертаційних досліджень.

Оцінка матеріалів дисертації. Дисертація написана і оформлена відповідно до чинних вимог, відповідає визначеній меті і завданням дослідження. Загальний обсяг роботи становить 207 сторінок комп'ютерного тексту, вона містить анотації, вступ, огляд літератури, вибір напрямків, матеріали та методи виконання роботи, результати власних досліджень, їх аналіз і узагальнення, висновки, практичні пропозиції, список використаних джерел та додатки. Дисертаційну роботу проілюстровано 25 рисунками та 18 таблицями. Бібліографія містить 250 джерел, у тому числі – 218 латиницею. Рецензована робота має чітку конструкцію і продуману логічну концепцію.

Мета і завдання роботи чітко сформульовані і ставлять головним пріоритетом експериментальне обґрунтування способу корекції репродуктивної здатності кнурів за оксидативного стресу наночастинками гадолінію ортованадату як засобу патогенетичної терапії.

Для виконання роботи дисертантом на достатній кількості тварин використано наступні методи дослідження: клінічні (загальний стан організму тварин), андрологічні (оцінка якості сперми, прояви статевих рефлексів), біохімічні (вміст продуктів перексидного окиснення ліпідів (ПОЛ), стабільних метаболітів циклу NO, активність АО ензимів, вміст неензиматичних АО і рівні статевих гормонів), статистичні (метод варіаційної статистики з використанням t-критерію Ст'юдента).

У «Вступі» (С. 24–31) дисертант обґрунтовує актуальність вибраної теми наукових досліджень, зазначає зв'язок з державними науковими темами, формулює мету та завдання дисертації, визначає об'єкт, предмет і методи досліджень, висвітлює наукову новизну та практичне значення, наводить дані щодо особистого внеску та апробації результатів дослідження.

Розділ «Огляд літератури» (С. 32–53) складається з чотирьох

підрозділів, в яких автор приводить і узагальнює дані вітчизняної та світової літератури щодо теми дисертації. У підрозділах дисертант досить ґрунтовно і фахово проводить аналіз сучасних вітчизняних і зарубіжних літературних даних, щодо патогенетичного значення у неплідності самців оксидативного стресу, ролі у функціонуванні репродуктивної системи самців Нітрогену оксиду і системи антиоксидантного захисту, а також новітніх засобів корекції їх репродуктивної здатності.

У кінці подано «Висновки до огляду літератури», в яких наводиться стисле узагальнення аналізу літературних джерел, що полегшує сприйняття матеріалу. Дисертант робить короткий аналіз існуючих у літературі даних за темою наукової роботи та окреслює актуальні питання, які наразі залишаються недостатньо вивченими або дискусійними.

Викладений матеріал у розділі написаний змістовно, є досить інформативним, легко сприймається та відображає обізнаність дисертанта з даною проблематикою.

Розділ 2 «Вибір напрямків, матеріали та методи виконання досліджень» (С. 54–63) містить дані щодо загальної схеми досліджень та характеристики використаних методів досліджень. Дисертаційна робота виконана за трьома послідовними етапами, які включали комплексні дослідження значення оксидативного стресу за зниження репродуктивної здатності самців, науково-експериментальне обґрунтування ефективності використання наночастинок гадолінію ортованадату й порівняльно-економічний аналіз розробленого способу корекції неплідності кнурів.

Дисертантом зазначається умови проведення експериментальних та лабораторних досліджень, вид, вік, фізіологічний стан та кількість тварин, що використовувалися у досліджах. Формування загальної схеми дослідів дає можливість чітко та поступово виконувати поставлені завдання, не відхиляючись від плану досліджень.

Наведений у розділі матеріал систематизований, науковий підхід та вибрані методики дали можливість дисертанту отримати достовірні результати.

Розділ 3 «Результати власних досліджень» (С. 64–115) представлений трьома основними підрозділами. Структура та виклад результатів досліджень є логічним та послідовним відповідно до поставленої мети за завдань дисертації.

У підрозділі 3.1. «Значення оксидативного стресу у розвитку зниження репродуктивної здатності кнурів» (С. 65–79) узагальнено дані досліджень стану прооксидантно-антиоксидантної системи у кнурів за знижених показників якості сперми і гормональному дисбалансі. Результати досліджень показали, що зниження репродуктивної здатності кнурів, особливо за показниками рухливості і кількості рухливих спермій, супроводжується оксидативним дисбалансом, зокрема, накопиченням маркерів оксидативного стресу – тіобарбітурат-активних продуктів і стабільних метаболітів циклу Нітроген оксиду на тлі зменшення потенціалу антиоксидантного захисту: активності каталази і супероксиддисмутази,

глутатіонового пулу – вмісту відновленого глутатіону, активності глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази і вітамінної ланки (ретинолу, токоферолу і аскорбінової кислоти). Отримані дані дозволяють сформулювати концепцію патогенезу гіпофертильності кнурів.

У підрозділі 3.2. «Розроблення способу корекції зниження репродуктивної здатності самців за оксидативного стресу наночастинками гадолінію ортованадату» (С. 80–106) представлено клініко-біохімічним обґрунтування доцільності застосування наночастинок ортованадатів рідкісноземельних елементів, зокрема Гадолінію, як засобу корекції патогенетичних змін за гіпофертильності кнурів.

Проведеними дослідженнями показано ефективність використання наночастинок гадолінію ортованадату для корекції репродуктивної здатності кнурів за оксидативного стресу, зокрема, нормалізувалися показники рухливості сперміїв і кількості рухливих сперміїв у еякуляті, збільшувався об'єм еякуляту і концентрація сперміїв на тлі зменшення їх морфологічно аномальних форм. При цьому встановлено покращення гормонального фону, зниження вмісту маркерів оксидативного стресу і посилення антиоксидантного потенціалу організму самців.

У підрозділі 3.3. «Порівняльна оцінка ефективності застосування наночастинок гадолінію ортованадату з вітамінно-гормональним препаратом й оцінка економічної ефективності розробленого способу корекції» (С. 107–115) показано особливості впливу засобів корекції репродуктивної здатності різноспрямованої дії на основні її показники й визначено потенційний ефект від впровадження використання наноструктурних матеріалів у практику репродукції тварин.

Порівняльна оцінка ефективності застосування наночастинок гадолінію ортованадату з вітамінно-гормональним препаратом «Карафанд» показала, що наявність комплексного позитивного впливу обох засобів на андро- і сперматогенез у кнурів характеризується різноспрямованістю дії – так, введення наночастинок сприяє переважному збільшенню рухливості сперміїв і їх концентрації, тоді як використання препарату «Карафанд» покращує об'єм еякуляту і зменшує вміст сперміїв із морфологічними аномаліями. При цьому обидва засоби посилюють стероїдогенез, що визначається зростанням рівня тестостерону у сироватці крові. Автором показано економічну ефективність корекції репродуктивної здатності наночастинками гадолінію ортованадату.

Оцінюючи цей розділ в цілому, необхідно відзначити фахово проведений і науково аргументований аналіз одержаних результатів, що викладені у відповідних таблицях і рисунках, які достатньо повно описані та проаналізовані з визначенням ступеня вірогідності. Все це досить ґрунтовно аргументовано фактичними матеріалами. Дисертант фахово грамотно, об'єктивно і правильно оцінює результати власних досліджень, які дали можливість значно поглибити та розширити наявні теоретичні та практичні знання щодо патогенетичних механізмів зниження репродуктивної здатності самців під впливом оксидативного стресу і можливості його корекції.

У розділі 4 «Аналіз та узагальнення результатів» (С. 116–139) В.І. Кошевой достатньо об'єктивно підійшов до аналізу результатів власних досліджень. Слід відмітити добру аргументацію автором результатів у критичному співставленні та обговоренні їх з даними інших дослідників і відзначити високий рівень викладання та аналізу цих матеріалів. Оцінка матеріалів цього розділу вказує на удосконаленому науковому підході з вирішення проблеми відновлення репродуктивної функції кнурів-плідників. Загалом цей розділ добре опрацьований, основні результати дисертаційних досліджень науково узагальнені у співставленні їх з достатньою кількістю публікацій у вітчизняних і зарубіжних джерелах наукової літератури.

Висунуті наукові положення та розроблені на їх основі «Висновки» (С. 140-142) ґрунтуються на достатньому обсязі експериментального матеріалу, мають високий ступінь наукового обґрунтування і повністю відповідають поставленим завданням.

У розділі «Практичні пропозиції» (С. 143) обґрунтовано окреслено сфери можливого впровадження результатів досліджень (сільськогосподарські підприємства, заклади вищої освіти, наукові установи).

Дискусійні положення і зауваження до дисертації. Водночас із позитивною оцінкою дисертаційної роботи в цілому, вважаємо за необхідне виділити окремі дискусійні питання, зауваження і побажання:

- визначення економічного ефекту не є науковою новизною (С. 28);
- огляд літератури містить надмірну кількість відомостей із гуманної медицини; бажано було б відокремити результати досліджень в гуманній і ветеринарній медицині, за видами тварин (щури, кнури, кролі тощо);
- окремі висловлювання не підтверджені посиланнями на літературні джерела (зокрема, С. 70, 72, 73, 80, 81, 82);
- в розділі 2 бажано було б уточнити: «нормативні» показники сперми у кнурів; часові проміжки досліджень (або терміни відбору) біоматеріалу (крові, сперми);
- в розділі 2 не вказано умови утримання та годівлі кнурів та кролів (зокрема, температурний і вологісний режими, склад та повноцінність раціону тощо), режим планових ветеринарних обробок (дегельмінтизацій, вакцинацій, які у тому числі є стрес-факторами) та контроль надходження в організм необхідної кількості діючих компонентів, які можуть впливати на кінцеві результати;
- не визначено безпосередні причини оксидативного стресу у кнурів, які використовувались в дослідженні;
- в таблицях розділу 3 крім контролю, бажано вказати нормативні показники (сперми, маркерів ОС крові) кнурів-плідників;
- не коректно зазначати достовірність змін об'єму еякуляту, якщо показники не виходять за межі норми («показники обох груп відповідали нормативам чинної Інструкції зі штучного осіменіння») та використовувати його для порівняння (С. 67);
- наведені у таблицях 2 (С.73) та 12 (С. 105) дані не дають змогу оцінити достовірність різниці індексів активності ензиматичної ланки АОЗ у

контролі і досліді ($M \pm m$);

- для порівняння ефективності різних схем корекції, доцільно порівнювати динаміку показників між групами (зміни відносно первинних показників не дають в повній мірі оцінити ефективність впливу);

- відсутність достовірної різниці між дослідними групами за об'ємом еякуляту (табл. 13) і рухливість спермій в еякуляті (табл. 14) не дає змогу використовувати ці показники для об'єктивного аналізу;

- в розділі 3.3. не зрозуміла доцільність контрольної групи, якщо це здорові тварини (сене визначення динамічних змін показників, якщо їм не застосовували препарати);

- в розділі 4 узагальнення результатів передбачено в контексті аналізу, а не висновків (по 3-4 абзаца);

- у висновках використано забагато скорочень термінів, тому інформація важко сприймається;

- мають місце окремі стилістичні та орфографічні помилки, не коректні вислови.

Питання до дисертанта:

- в чому новизна Ваших досліджень впливу оксидативного стресу на репродукцію кнурів;

- обґрунтуйте доцільність використання інформації із гуманної медицини для обґрунтування досліджень у ветеринарній медицині;

- чи існує подібність патогенетичних механізмів впливу оксидативного стресу на репродуктивну функцію у людей (чоловіків) і тварин (кнурів);

- поясніть: «Експериментальними дослідженнями доведено зниження активності NOS поліпшує зниження функції спермій у самців щурів...» (С. 42);

- поясніть, чому попередньо досліджували 18 тварин, а для експерименту відібрали тільки 10 (С. 56);

- яким чином у кролів та кнурів виключали супутні хвороби, які могли впливати на достовірність результатів;

- обґрунтуйте дози гідрозолу наночастинок гадолінію ортованадату активованих Європієм у кролів і кнурів та тривалість його застосування;

- уточніть термін та умови зберігання (стабільності) гідрозолу та методи контролю динаміки вмісту наночастинок в ньому;

- згідно посилання, методика Fatemi et al., 2014 застосовувалась авторами у щурів. Обґрунтуйте можливість її використання у кролів та визначення «дози tВНР, еквівалентної 1:10 LD₅₀»;

- поясніть необхідність вивчення впливу гідрозолу на репродуктивну функцію кролів, за наявності публікацій щодо його позитивної дії у людей (немає даних по наночастинкам гадолінію ортованадату) і тварин, встановленої низької токсичності, різних причин оксидативного стресу, тощо;

- враховуючи вплив статевих гормонів на якість еякуляту, обґрунтуйте різницю вибору контрольних термінів: 50, 75, 80 (табл. 5) та 15, 30, 45

(табл. 6) доба.

Розкриття даних питань при захисті дисертації дасть можливість на основі теоретичного обґрунтування глибше висвітлити науковий напрямок, практичну цінність даної роботи і, особливо, всебічну обізнаність автора з питань її виконання та оформлення.

Наведені питання та зауваження у жодному разі не ставлять під сумнів наукову концепцію дослідження, не зменшують наукову і практичну значимість отриманих результатів і не впливають на загальне позитивне враження від роботи. Сподіваюсь, що висловлені побажання і запитання сприятимуть подальшому науковому росту і вдосконаленню автора дисертації.

Загальний висновок. Аналіз дисертації дає підстави для висновку про те, що дисертація Кошевого Всеволода Ігоровича є завершеним, самостійним науковим дослідженням, яке має наукову новизну, теоретичне, наукове та практичне значення. За актуальністю, науковою та практичною цінністю здобутих результатів дисертація на тему: «Зниження репродуктивної здатності кнурів-плідників за оксидативного стресу та методи її корекції» відповідає вимогам наказу Міністерства освіти і науки України № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 року, а її автор Кошевой Всеволод Ігорович заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 21 «Ветеринарна медицина» та спеціальності 211 «Ветеринарна медицина».

Офіційний опонент
завідувач кафедри ветеринарної
хірургії і репродуктології
Дніпровського державного
аграрно-економічного університету,
доктор ветеринарних наук, професор

Дмитро БІЛИЙ

