

ВІДГУК

**офіційного опонента – доктора біологічних наук, професора кафедри фізіології,
біохімії тварин та лабораторної діагностики Дніпровського державного аграрно-
економічного університету**

Недзвецького Віктора Станіславовича

на дисертаційну роботу Невідник-Правди Альбіни Юріївни

**«Біохімічні та гематологічні детермінанти анемічного синдрому при бабезіозі
собак (*Babesia canis canis*) та дії імідокарбу та преднізолону»,**

представлену на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091

Біологія

Актуальність теми.

Бабезіоз собак є одним із найпоширеніших трансмісивних захворювань на території України, що зумовлено високою чисельністю популяцій іксодових кліщів-переносників, зміною кліматичних умов та урбанізацією природних біотопів. Захворювання характеризується тяжким перебігом, швидким розвитком гемолітичної анемії, поліорганних уражень та за відсутності своєчасної кваліфікованої допомоги – високою летальністю. Попри наявність у ветеринарній практиці ефективних етіотропних препаратів, проблема патогенетичної терапії залишається відкритою. Зокрема, потребують поглибленого вивчення механізми формування окисного стресу, дисбалансу системи антиоксидантного захисту та їх внесок у розвиток анемічного синдрому. Крім того, представлений аналіз доцільності застосування глюкокортикоїдів як засобу модуляції надмірної імунної відповіді та запалення. Усе викладене свідчить про безперечну актуальність дисертаційного дослідження Невідник-Правди А.Ю. як у фундаментальному (поглиблення уявлень про патогенез гемолітичної анемії при протозойних інвазіях), так і в прикладному (удосконалення схем лікування) аспектах.

Зв'язок роботи з науковими планами, темами.

Дисертаційна робота виконана на кафедрі біохімії та фізіології Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара в межах науково-дослідних робіт, присвячених вивченню молекулярних механізмів адаптації до стресу та фізіолого-біохімічних змін при тривалому стресовому впливі, зокрема «Молекулярні механізми адаптації до стресу та пошук природних адаптогенів» 2022-2024 р. (державний реєстраційний номер: 0122U001457). Тематика роботи також пов'язана з договором про науково-технічне співробітництво між університетом та Дніпровським державним аграрно-економічним університетом, що підкреслює її міжвідомчий характер та спрямованість на вирішення практичних завдань ветеринарної медицини.

Наукова новизна одержаних результатів.

Наукова новизна роботи не викликає сумнівів. Вперше на достатньому клінічному матеріалі проведено комплексну оцінку гематологічних, біохімічних та оксидативних змін у динаміці гострого бабезіозу собак. Особливої уваги, на мій погляд, заслуговує встановлений факт дисоціації в системі антиоксидантного захисту – різке пригнічення активності каталази при одночасній компенсаторній гіперактивації супероксиддисмутази. Це свідчить про виснаження ключової ланки детоксикації пероксиду водню та формування ускладнень окисного пошкодження. Вперше науково обґрунтовано та експериментально підтверджено доцільність застосування комбінації імідокарбу з преднізолоном, причому позитивний ефект продемонстровано вже через 24 години після початку терапії. Також вперше показано, що різні системи організму мають неоднакову чутливість до терапевтичного втручання: тромбоцитарна ланка та маркери цитолізу відновлюються значно швидше, ніж електролітний баланс та ліпідний спектр.

Практичне значення отриманих результатів.

Практична цінність роботи полягає у розробці та впровадженні у ветеринарну практику ефективної схеми комбінованої терапії бабезіозу, яка дозволяє знищити збудника та одночасно швидко коригувати ключові патогенетичні порушення – гемоліз, запалення, оксидативний стрес. Виявлені біохімічні маркери (активність каталази, супероксиддисмутази, лактатдегідрогенази, рівень білірубину) можуть бути використані в клінічній практиці для об'єктивної оцінки тяжкості перебігу захворювання та ефективності лікування. Крім того, результати дослідження впроваджені в навчальний процес при підготовці фахівців за спеціальністю 091 «Біологія».

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій.

Обґрунтованість наукових положень і висновків є достатньо високою. Вона забезпечується, по-перше, репрезентативним обсягом вибірки; по-друге, коректним дизайном дослідження, що передбачав порівняння показників у динаміці (до лікування та через 24 години); по-третє, використанням сучасних, стандартизованих методів дослідження; по-четверте, адекватною статистичною обробкою отриманих даних із застосуванням параметричних критеріїв після підтвердження нормальності розподілу. Достовірність результатів не викликає сумнівів.

Оцінка змісту дисертації, її структури та основних положень

Дисертаційна робота Невідник-Правди А.Ю. є завершеною науковою працею, виконаною автором самостійно на належному методологічному рівні. Структура роботи є традиційною для подібних досліджень і водночас логічно побудованою: вступ, огляд літератури, детальний опис матеріалів та методів, три розділи власних експериментальних

досліджень (гематологічний, біохімічний та розділ, присвячений окисному стресу), узагальнююче обговорення результатів, висновки, список використаних джерел та додатки. Така побудова забезпечує послідовне й поступове розкриття теми, дозволяє прослідкувати логіку авторських міркувань від постановки проблеми до формулювання практичних рекомендацій.

Вступ дисертації містить усі необхідні атрибути наукової кваліфікаційної роботи. Актуальність теми обґрунтовано з позицій як фундаментальної біології (недостатня вивченість біохімічних механізмів гемолітичної анемії при зоонозних інвазіях), так і практичної ветеринарної медицини (висока захворюваність на бабезіоз в Україні, потреба в удосконаленні схем патогенетичної терапії). Мета дослідження сформульована чітко й однозначно – виявити ефективність комплексного лікування імідокарбом та преднізолоном за гемолітичної анемії та порушень функцій внутрішніх органів у собак, хворих на бабезіоз. Поставлені завдання (їх п'ять) логічно пов'язані з метою роботи та охоплюють усі етапи роботи – від оцінки вихідного гематологічного та біохімічного профілю до обґрунтування ефективності запропонованої терапевтичної схеми. Об'єкт та предмет дослідження визначено коректно і відповідно меті роботи. Наукова новизна викладена конкретно, без загальних фраз, із чітким виділенням тих положень, які отримані вперше. Практичне значення роботи підтверджено актами впровадження, що є важливим свідченням прикладної цінності отриманих результатів. Особистий внесок здобувачки викладений без привласнення чужих результатів, із чітким розмежуванням власних доробків та доробків співавторів. Апробація роботи є достатньою – результати представлено на численних міжнародних та всеукраїнських конференціях, що свідчить про належне публічне обговорення отриманих даних.

Перший розділ (огляд літератури) свідчить про глибоке опрацювання здобувачкою значного обсягу наукових джерел – понад двісті найменувань, з яких переважна більшість – іноземні публікації останніх років. Огляд структуровано відповідно об'єкту дослідження та поставленим завданням: спочатку розглянуто загальні питання біохімії анемії (синтез гемоглобіну, класифікація, механізми імунно-опосередкованого гемолізу), а потім – специфічні аспекти бабезіозу собак (етіологія, морфологія збудника, епізоотологія, патогенез, клінічні форми, методи діагностики та існуючі підходи до лікування). Особливої уваги заслуговує те, що авторка представляє літературні дані разом з їх критичним аналізом, виокремлює дискусійні питання (зокрема, доцільність застосування глюкокортикоїдів при бабезіозі) та обґрунтовує необхідність проведення власних досліджень. Розділ завершується стислими та змістовними висновками, які підсумовують стан проблеми та визначають місце дослідження в сучасному науковому контексті.

Другий розділ (матеріали та методи) містить усю необхідну інформацію для відтворення експерименту – характеристику об'єкта дослідження, дизайн дослідження

(порівняння показників на момент діагностики та через 24 години після початку терапії), схему лікування (імідокарб та преднізолон у визначених дозах). Важливою перевагою є проведення імунохроматографічного тестування для виключення змішаних інвазій (анаплазмоз, ерліхіоз, бореліоз, дирофіляріоз). Детально описано методи гематологічного аналізу, біохімічного дослідження сироватки крові, визначення активності ферментів антиоксидантного захисту (каталази та супероксиддисмутази) та білкового спектра. Статистичну обробку виконано із застосуванням адекватних параметричних критеріїв після підтвердження нормальності розподілу та однорідності дисперсій. Окремим пунктом винесено дотримання біоетичних норм, що є важливим для робіт із використанням тварин.

Третій розділ (гематологічні та клінічні особливості) містить детальну характеристику клінічного стану хворих тварин на момент діагностики: гарячка, пригнічення, втрата апетиту, жовте забарвлення слизових оболонок, сеча темного кольору, прискорене серцебиття та дихання, збільшення селезінки. Мікроскопічне дослідження мазків крові дозволило не лише виявити внутрішньо еритроцитарні форми збудника, але й зафіксувати морфологічні ознаки гемолізу – сфероцитоз, поліхроматофілію та анізоцитоз. Гематологічний аналіз переконливо демонструє розвиток вираженої нормохромної гемолітичної анемії, глибокої тромбоцитопенії та стресової лейкограми (лейкопенія з нейтрофіліозом та лімфопенією). Через 24 години після початку комбінованої терапії зафіксовано позитивну динаміку – зростання кількості тромбоцитів, а також підвищення показників червоної крові. Розділ завершується проміжними висновками, які фіксують ключові зміни.

Четвертий розділ (біохімічні зміни та окисний стрес) є, на мою думку, адекватним і послідовним представленням отриманих результатів дослідження. Він містить результати, які становлять основний внесок здобувачки у розвиток уявлень про патогенез бабезіозу. Авторка продемонструвала комплексні метаболічні порушення – гіпербілірубінемію, підвищення активності аспартатамінотрансферази, гіпоальбумінемію, електролітні зрушення (зниження натрію та калію, підвищення фосфору) та дисліпідемію (зниження холестерину, підвищення тригліцеридів). У білковому спектрі зафіксовано характерну для гострої фази запалення динаміку – зростання частки $\alpha 1$ -глобулінів. Ключовим результатом розділу є встановлення дисбалансу в системі антиоксидантного захисту: пригнічення активності каталази на тлі виснаження резервів детоксикації пероксиду водню при одночасному компенсаторному підвищенні активності супероксиддисмутази. Авторка переконливо довела, що таке співвідношення створює умови для накопичення пероксиду водню, утворення високотоксичних гідроксильних радикалів, які є головними ініціаторами окисних пошкоджень. Через 24 години після початку терапії зафіксовано позитивну динаміку: зниження маркерів цитолізу (лактатдегідрогенази, аспартатамінотрансферази), білірубіну, $\alpha 1$ -глобулінів, а також часткове відновлення балансу каталази та супероксиддисмутази. Водночас

авторка чесно показує, що окремі порушення (електролітний дисбаланс, зниження холестерину) виявили стійкість до терапії протягом першої доби, що вказує на необхідність тривалішої корекції – цей висновок має безпосереднє практичне значення.

П'ятий розділ (обговорення результатів) заслуговує на окрему позитивну оцінку. Він демонструє здатність здобувачки до системного аналізу та наукової інтеграції. Авторка не просто повторює отримані результати, а вибудовує струнку концепцію патогенезу бабезіозу, в якій гемоліз, запалення, окисний стрес та імунна агресія постають як взаємно посилюючі ланки одного патологічного кола. Особливо вдалим є графічне представлення схеми впливу комбінованої терапії на організм хворої тварини, де наочно показано синергізм дії імідокарбу (ерадикація збудника, припинення прямого гемолізу) та преднізолону (пригнічення запалення, імунної агресії, опосередковане зменшення окисного стресу). Здобувачка також проводить ґрунтовне зіставлення власних даних із результатами інших дослідників, що працювали в різних географічних регіонах, і показує універсальність основних патогенетичних механізмів бабезіозу незалежно від регіональних особливостей. В аналізі отриманих результатів враховані літературні дані як закордонних, так і вітчизняних науковців.

Висновки дисертації повністю відповідають поставленим завданням, сформульовані чітко, лаконічно та спираються виключно на отримані експериментальні дані. Вони відображають логічну структуру дослідження: від демонстрації гематологічних та біохімічних порушень на момент діагностики через оцінку динаміки цих показників під впливом терапії до ідентифікації резистентних ланок та порівняння з даними інших авторів. Кожен висновок є доказовим, доведеним отриманими результатами і може бути використаний як наукове підґрунтя для подальших досліджень або практичних рекомендацій.

Репрезентативність результатів у публікаційному доробку.

Наукові положення та емпіричні дані, викладені в дисертації, достатньо повно висвітлені у відкритому друку. Загалом авторкою оприлюднено 13 праць, серед яких 4 статті (2 – у виданнях, що входять до міжнародних баз Scopus та Web of Science, ще 2 – у фахових виданнях категорії «Б») та 9 тез у матеріалах конференцій. Опубліковані матеріали адекватно передають суть проведеного дослідження. У колективних публікаціях внесок здобувачки позначений чітко та не викликає сумнівів.

Дотримання академічної доброчесності.

При вивченні дисертаційної роботи не зафіксовано жодних проявів академічного плагіату, штучної фабрикації даних або свідомого перекручення результатів. Весь представлений матеріал є авторським, а запозичення супроводжуються коректними посиланнями на першоджерела.

Зауваження та побажання до дисертаційної роботи.

Попри високий науковий рівень роботи, в процесі ознайомлення з дисертацією виникли окремі зауваження та побажання.

1. У розділі методів авторка використовує знеболювальні засоби та фіксацію тварин при відборі крові, однак не вказує конкретні препарати та їх дозування. Це може ускладнити відтворення методики.
2. Вважаю, що робота значно виграла б, якби авторка провела кореляційний аналіз між окремими біохімічними та гематологічними показниками. Це дозволило б виявити найбільш інформативні пари маркерів для моніторингу перебігу хвороби.
3. Чому для оцінки функціонального стану нирок було обрано саме сечовину та креатинін, але не досліджувалися такі ранні маркери ураження, як цистатин С або мікроальбумін?
4. Як Ви пояснюєте феномен зниження активності лактатдегідрогенази у хворих тварин порівняно з контролем (хоча й без досягнення статистичної значущості), тоді як за класичними уявленнями при масовому цитолізі цей показник має зростати? Чи не може це свідчити про виснаження ферментних систем на тлі тяжкої інтоксикації?
5. Чи проводилося Вами дослідження впливу запропонованої терапії стосовно довгострокового прогнозу для тварин (рецидиви, формування хронічного паразитоносійства, віддалені наслідки з боку нирок та печінки)?
6. Яким чином, на Вашу думку, слід модифікувати запропоновану схему лікування для тварин із супутньою хронічною патологією печінки або нирок, враховуючи, що обидва препарати мають потенційну гепато- та нефротоксичність?
7. В окремих місцях тексту трапляються технічні недоліки – позначення статистичної значущості в окремих реченнях “р”, невдалі переноси таблиць, поодинокі стилістичні неточності, які, однак, не впливають на загальне позитивне враження від роботи.

Висловлені зауваження та запитання не знижують наукової цінності виконаної роботи та мають переважно рекомендаційний і дискусійний характер. Зауваження можуть бути враховані авторкою в подальшій науковій роботі.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам

Підсумовуючи аналіз дисертаційної роботи Невідник-Правди А.Ю., слід зазначити, що перед нами самостійне, завершене наукове дослідження, виконане на сучасному методологічному рівні. Здобувачці вдалося не лише детально охарактеризувати гематологічні та біохімічні порушення при бабезіозі собак, але й уперше на експериментальному матеріалі обґрунтувати доцільність застосування комбінованої терапії імідокарбом та преднізолоном. Отримані результати мають значення для фундаментальної біології, зокрема для розуміння механізмів окисного стресу, дисбалансу антиоксидантного захисту та метаболічних порушень при зоонозних інвазіях.

Робота відзначається логічною структурою, достатнім обсягом експериментального матеріалу, коректним застосуванням сучасних біохімічних та гематологічних методів дослідження, а також адекватною статистичною обробкою отриманих даних. Усі висновки є доказовими, спираються на конкретні результати та не містять декларативних положень. Публікації автора (у тому числі у виданнях, що індексуються у Scopus та Web of Science) повною мірою відображають зміст дисертації. Апробація результатів на численних міжнародних та всеукраїнських наукових конференціях свідчить про належне публічне обговорення отриманих даних.

Зауваження та дискусійні питання стосуються переважно форми викладу окремих фрагментів та перспектив подальших досліджень, але не впливають на загальну позитивну оцінку роботи та не ставлять під сумнів її наукову цінність.

Таким чином, дисертаційна робота «Біохімічні та гематологічні детермінанти анемічного синдрому при бабезіозі собак (*Babesia canis canis*) та дії імідокарбу та преднізолону» за своїм науковим рівнем, актуальністю, новизною, вірогідністю отриманих результатів та обґрунтованістю висновків повністю відповідає вимогам, що ставляться до дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії згідно з «Порядком присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи, про присудження ступеня доктора філософії», затвердженим постановою Кабінету Міністрів України №44 від 12 січня 2022 року, а також вимогам до оформлення дисертацій (наказ МОН України №40 від 12.01.2017 р. зі змінами).

Вважаю, що авторка Невідник-Правда Альбіна Юріївна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія», галузь знань 09 Біологія

Доктор біологічних наук,
професор кафедри фізіології,
біохімії тварин та лабораторної діагностики
Дніпровського державного
аграрно-економічного університету



Недзвецький В.С.

