

ВІДГУК

офіційного опонента, кандидата медичних наук, доцента Тимчук Ірини Василівни на дисертаційну роботу Настенка Володимира Борисовича «Антимікробні властивості четвертинних солей арилоксиетокси діалкіл амонію в умовах експерименту», подану до захисту в спеціалізовану вчену раду ДФ 05.600.147, що створена згідно до наказу ректора ЗВО Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова № 88 від 30 травня 2025 року на підставі рішення Вченої ради ВНМУ ім. М.І. Пирогова № 10 від 29 травня 2025 року з правом прийняття до розгляду та проведення захисту дисертації на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія», за спеціальністю 091 «Біологія».

1. Актуальність теми дисертаційної роботи.

У сучасних умовах охорони здоров'я однією з головних науково-практичних проблем залишається ефективний контроль і лікування інфекційних захворювань, що ускладнюються швидким розповсюдженням антибіотикорезистентних збудників. З кожним роком у світі фіксується дедалі більша кількість клінічних випадків, коли застосування стандартних антибактеріальних та антисептичних препаратів виявляється недостатньо ефективним через стійкість патогенів до існуючих хіміотерапевтичних засобів. В умовах стрімкого розвитку медичних технологій, широкого використання інвазивних процедур і тривалого перебування пацієнтів у стаціонарах, ризики виникнення та поширення мультирезистентних інфекцій постійно зростають.

Світова наукова спільнота визнає, що для подолання цієї загрози потрібне не лише вдосконалення вже відомих препаратів, а й синтез абсолютно нових класів сполук із нетиповими механізмами дії. Саме такі речовини здатні руйнувати сформовані захисні бар'єри патогенних мікроорганізмів, у тому числі ті, які демонструють високу стійкість до антибіотиків та здатність до

біоплівкоутворення. Особливо актуальною ця проблема є для лікування госпітальних інфекцій у пацієнтів із ослабленим імунітетом, у яких традиційна терапія часто виявляється неефективною.

Дослідження в галузі створення нових антимікробних засобів стають невід'ємною частиною стратегії стримування розвитку антибіотикорезистентності. В останні роки значну увагу приділяють вивченню четвертинних амонієвих сполук, які завдяки унікальній структурі, амфифільним властивостям і здатності до взаємодії з клітинними мембранами мікроорганізмів виявляють широкий спектр протимікробної дії. Модифікація їх молекулярної будови відкриває можливості підвищення ефективності та безпеки, а також розширення спектра мікроорганізмів, чутливих до таких речовин.

Дисертаційна робота Настенка Володимира Борисовича спрямована на вирішення саме цих актуальних завдань — синтез, скринінг та всебічне вивчення антимікробної активності нових четвертинних солей арилоксиетокси діалкіл амонію. Автор ґрунтовно аналізує можливості використання цих сполук у якості перспективних антисептичних і протимікробних засобів із урахуванням сучасних викликів біомедичної науки. Актуальність теми підтверджується і тим, що одержані результати можуть стати підґрунтям для створення нових ефективних препаратів для боротьби з інфекціями, спричиненими не лише чутливими, а й резистентними штамами мікроорганізмів.

2. Оцінка наукового рівня дисертації і наукових публікацій здобувача.

Виконання дисертації Настенка Володимира Борисовича вирізняється глибокою теоретичною підготовкою, комплексністю застосованих методик та продуманою логічною структурою викладу матеріалу. Робота охоплює всі основні етапи сучасного біологічного дослідження — від обґрунтування актуальності та аналізу літературних джерел до самостійного

експериментального пошуку, критичної інтерпретації результатів і формулювання підсумкових висновків.

Змістовне наповнення дисертації розкриває складні питання сучасної мікробіології, фармакології та хімії, при цьому автор впевнено оперує як класичними, так і сучасними підходами у вивченні антимікробної активності хімічних сполук. Особливу увагу приділено комплексності дослідження: розглядалися різні типи патогенів, використано декілька методів аналізу, охоплено широкий спектр питань — від молекулярної характеристики до оцінки біологічної активності й токсичності.

Публікаційна активність дисертанта підтверджує його високий рівень залученості до наукової спільноти. Підсумком багаторічної роботи стали 15 наукових публікацій, зокрема 4 статті у провідних фахових виданнях України, 1 стаття входить до міжнародних наукометричних баз даних (Web of Science), 3 статті у виданнях категорії Б, 1 стаття у виданнях категорії В, а також тези на всеукраїнських та міжнародних конференціях. Структура та кількість наукових робіт цілком відповідають діючим державним вимогам до дисертаційних досліджень.

Загальний рівень виконаної роботи свідчить про сформованість у здобувача самостійного наукового мислення, здатність працювати з великими обсягами інформації, формулювати та аргументовано захищати власні висновки, а також глибоке розуміння сучасних проблем і перспектив мікробіології.

3. Новизна представлених теоретичних та/або експериментальних результатів проведених здобувачем досліджень, повнота викладу в опублікованих працях.

Особливою цінністю дисертації Настенка Володимира Борисовича є отримання нових наукових даних щодо антимікробної активності четвертинних солей арилоксиетокси діалкіл амонію та їхнього потенціалу у подоланні

резистентності сучасних патогенних мікроорганізмів. У дослідженні вперше на системному рівні проведено скринінг та порівняльний аналіз 52 нових синтезованих хімічних сполук, що дозволило визначити найперспективніші серед них для подальшого фармакологічного розвитку.

Здобувач детально охарактеризував протимікробну дію зазначених речовин відносно широкого спектра мікроорганізмів, включаючи грампозитивні та грамнегативні бактерії, нетуберкульозні мікобактерії, патогенні гриби й амеби. Важливо, що в роботі отримані унікальні дані щодо мінімальних інгібуючих концентрацій і постантибіотичного ефекту нових сполук, а також експериментально доведена їх відносна безпечність у тестах на цитотоксичність. Новизна результатів підсилюється встановленням чітких кореляцій між структурними особливостями молекул і їхньою біологічною активністю, що дозволяє закласти основу для подальшого цілеспрямованого пошуку ще більш ефективних антимікробних засобів.

Особливої уваги заслуговує повнота і детальність викладу результатів у публікаціях здобувача. У наукових статтях і матеріалах конференцій ґрунтовно висвітлено основні підходи, методи та ключові експериментальні дані, проведено критичне обговорення отриманих результатів, наведено порівняння з сучасними літературними джерелами, що підтверджує оригінальність проведеного дослідження та наукову доброчесність автора.

Таким чином, представлені теоретичні й експериментальні результати дисертації характеризуються високим ступенем новизни, мають значний потенціал для подальших наукових і практичних розробок та повністю висвітлені у відповідних наукових публікаціях здобувача.

4. Наукова обґрунтованість та відповідність темі дисертації отриманих результатів, наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Усі результати, представлені у дисертації Настенка Володимира Борисовича, відзначаються високим рівнем наукової обґрунтованості та повною відповідністю заявленій темі дослідження. На всіх етапах роботи автор дотримувався комплексного підходу до вирішення поставлених завдань, що дозволило одержати валідні та репрезентативні дані щодо антимікробної активності новосинтезованих четвертинних солей арилоксиетокси діалкіл амонію.

Достовірність отриманих результатів підтверджується багаторазовим повторенням експериментів, використанням сучасних мікробіологічних, біохімічних, цитотоксикологічних і статистичних методів аналізу. У роботі чітко описані матеріали і методи, наведено детальні характеристики досліджуваних зразків і контрольних груп, що дає змогу переконатися у відтворюваності проведених експериментів. Обговорення результатів базується на глибокому аналізі сучасної наукової літератури, а також на власних експериментальних даних, що підсилює наукову цінність висновків.

Формулювання наукових положень, висновків і рекомендацій виконано у відповідності до отриманих емпіричних даних, з урахуванням сучасних теоретичних підходів та вимог до дисертаційних досліджень. Усі висновки логічно випливають із отриманих результатів, пов'язані з метою та завданнями роботи, а рекомендації мають практичний характер і можуть бути застосовані як для подальших фундаментальних досліджень, так і для розробки нових антисептичних і протимікробних засобів. Таким чином, наукові положення, висновки та рекомендації, сформульовані у дисертації, цілком обґрунтовані, узгоджені між собою, повністю відповідають темі дослідження і сучасному стану розвитку мікробіології та фармакології.

5. Рівень виконання поставленого наукового завдання та оволодіння здобувачем методологією наукової діяльності.

Дисертаційне дослідження Настенка Володимира Борисовича виконано на достатній кількості експериментального матеріалу із залученням широкого спектра штамів мікроорганізмів, що забезпечило наукову репрезентативність і достовірність результатів. Дисертантом повністю реалізовано всі поставлені завдання, які відповідали темі дисертації. Зокрема, було здійснено комплексне вивчення антимікробної активності та цитотоксичності четвертинних солей арилоксиетокси діалкіл амонію, визначено спектр і рівень їхньої дії щодо різних груп мікроорганізмів, включаючи мультирезистентні клінічні ізоляти бактерій, грибів та аміб.

У роботі детально проаналізовано параметри постантибіотичного ефекту, співвідношення активності та безпечності досліджених сполук, а також проведено їх порівняльну характеристику із сучасними протимікробними засобами. На основі отриманих результатів сформульовано практичні рекомендації щодо перспектив використання найбільш ефективних і безпечних сполук для подальших доклінічних досліджень та розробки нових протимікробних препаратів.

Дисертант продемонстрував високий рівень володіння методологією експериментального наукового дослідження, глибоке знання сучасних підходів до аналізу антимікробної активності, інтерпретації отриманих даних, а також уміння формулювати наукові висновки та рекомендації, що свідчить про його готовність до самостійної наукової роботи.

6. Теоретичне і практичне значення результатів дослідження

Теоретична значущість дисертаційної роботи Настенка Володимира Борисовича полягає у поглибленні сучасних наукових уявлень про будову, властивості, механізми антимікробної дії та спектр активності четвертинних солей арилоксиетокси діалкіл амонію як перспективного класу сполук у боротьбі з резистентними до антибіотиків мікроорганізмами. Отримані результати суттєво

доповнюють і конкретизують дані щодо кореляції між структурою молекул і їх біологічною дією, особливо в аспекті проникності через клітинні оболонки різних типів мікроорганізмів, здатності викликати порушення цілісності мембран та інгібувати життєво важливі біохімічні процеси у патогенах.

У теоретичному плані це дозволяє більш глибоко зрозуміти принципи дії сучасних антисептиків, закласти наукові основи для цілеспрямованого синтезу молекул із прогнозованою антимікробною активністю, а також оптимізувати стратегії комбінованої терапії для подолання резистентності. Одержані дані можуть використовуватися як у фундаментальних дослідженнях з біохімії, мікробіології та фармакології, так і для підготовки фахівців у цих галузях.

Практичне значення роботи є багатовимірним. По-перше, виявлено групу сполук із вираженою антимікробною активністю щодо широкого спектра патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів, включаючи мультирезистентні ізоляти, які найчастіше зустрічаються у сучасних клініках та лабораторіях. По-друге, експериментально підтверджена низька цитотоксичність низки четвертинних солей, що робить їх перспективними кандидатами для створення нових лікарських форм — антисептичних розчинів, мазей, засобів для обробки поверхонь, медичних виробів та протимікробних покриттів. Це може суттєво підвищити ефективність профілактики і лікування нозокоміальних інфекцій, інфекцій ран, катетер-асоційованих ускладнень, а також забезпечити надійний контроль за поширенням мультирезистентних патогенів у стаціонарах.

Впровадження результатів у навчальний процес і практичну підготовку студентів на кафедрах мікробіології дозволяє ознайомлювати майбутніх лікарів і біологів із сучасними підходами до антимікробної хіміотерапії, принципами дії нових класів сполук і актуальними проблемами антибіотикорезистентності. Крім того, запропоновані методичні підходи до скринінгу і тестування нових сполук можуть використовуватися у лабораторній практиці, фармацевтичних компаніях,

а також у рамках подальших доклінічних і клінічних випробувань із метою реєстрації нових препаратів для медичної практики.

Дисертаційна робота виконувалася у межах планових науково-дослідних тем кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова («Дослідження біологічних властивостей збудників інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги, та розробка засобів боротьби з ними», № 0123U101070) та кафедри мікробіології та паразитології з основами імунології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця («Дослідження протимікробної активності новосинтезованих похідних четвертинних солей арил ациклічних аміноспиртів», № 0120U101354), що забезпечило цілісність дослідження, методичну послідовність і відповідність сучасним пріоритетам біологічної науки.

7. Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому

Дисертаційне дослідження викладено на 257 сторінках комп'ютерного тексту (основний текст на 190 сторінках), ілюстровано 44 рисунками та двома таблицями. Робота має класичну структуру — вступ, огляд літератури, матеріали та методи, шість розділів власних досліджень, аналіз і узагальнення результатів, висновки, практичні рекомендації та додатки. Мета, наукова й практична цінність, публікації й апробація результатів чітко сформульовані й відображені в анотації, що подана українською та англійською мовами. Список використаних джерел містить 276 найменувань (260 джерел латиницею та 16 кирилицею).

У вступі автор окреслює актуальність досліджуваної проблеми, чітко формулює мету й п'ять завдань дослідження, визначає об'єкт, предмет, наукову новизну, теоретичне й практичне значення роботи. Розділ «Огляд літератури» (22 сторінки) містить сучасний аналіз проблеми, особливості антимікробної резистентності, властивостей четвертинних солей

арилоксиетокси діалкіл амонію, огляд сучасних підходів до подолання стійкості мікроорганізмів.

Розділ «Матеріали і методи дослідження» містить детальний опис синтезу сполук, характеристики штамів, використані методики визначення антимікробної активності, аналізу постантибіотичного ефекту, цитотоксичності, а також опис статистичних підходів.

У трьох розділах власних досліджень послідовно викладено результати первинного скринінгу антимікробної активності, оцінку пролонгованої дії, порівняльні дані щодо цитотоксичності та антимікробної ефективності досліджених сполук, у тому числі відносно референтних препаратів та клінічних ізолятів. Окремо представлено оцінку ефективності щодо грибів і амеб.

У розділі «Аналіз і узагальнення результатів дослідження» наведено порівняння отриманих даних з літературними джерелами, виділено новизну, обґрунтовано практичну значущість і перспективи використання сполук.

Висновки чітко, логічно і послідовно завершують структуру дисертації, відповідають сформульованій меті та завданням, дають вичерпну картину виконаного дослідження.

8. Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації в практиці

Результати дисертаційної роботи Настенка Володимира Борисовича мають широкий потенціал для впровадження у практику сучасної медицини, лабораторної діагностики, фармації, біотехнологій і ветеринарії. Виявлені сполуки з вираженою антимікробною активністю та низькою цитотоксичністю можуть бути рекомендовані для подальших доклінічних досліджень з метою створення нових антисептичних і протимікробних препаратів, які здатні ефективно протидіяти збудникам, резистентним до традиційних антибіотиків. Особливо перспективним є використання четвертинних солей арилоксиетокси

діалкіл амонію для профілактики та лікування інфекцій, спричинених мультирезистентними гампозитивнимимікроорганізмами, у тому числі в умовах стаціонарів, хірургічних відділень та амбулаторної практики.

Значною перевагою є можливість застосування отриманих результатів для розробки сучасних антисептичних засобів для обробки медичних виробів, інструментів, поверхонь у лікувально-профілактичних закладах, що сприятиме зниженню ризику виникнення та розповсюдження внутрішньолікарняних інфекцій. Ветеринарна медицина також може використовувати ці дані для запобігання та лікування інфекцій у тварин.

Результати дослідження вже впроваджені у навчальний процес та наукову діяльність профільних кафедр мікробіології. Це дозволяє підвищити рівень підготовки майбутніх лікарів, мікробіологів і провізорів, впроваджувати сучасні освітні програми з урахуванням досягнень у галузі антимікробної хіміотерапії, а також сприяє формуванню практичних компетентностей, необхідних для роботи у клініках, лабораторіях, біотехнологічних та фармацевтичних компаніях.

З огляду на отримані результати, рекомендовано продовжити подальші доклінічні випробування найперспективніших сполук для розробки інноваційних протимікробних препаратів, розширити сферу їх тестування на нові моделі інфекцій та вивчити можливості використання у складі комплексних засобів для профілактики та лікування інфекційних захворювань у різних галузях практичної медицини й біотехнологій.

9. Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, запитання до здобувача

Дисертаційна робота Настенка Володимира Борисовича виконана на високому науково-методичному рівні, відзначається чіткою структурою, логічністю викладу та відповідністю основним вимогам до оформлення

дисертаційних досліджень. Разом з тим, слід зазначити окремі побажання та питання, які виникли під час ознайомлення з матеріалами роботи:

1. У ряді місць доцільним було б більш детально описати механізми антимікробної дії синтезованих сполук на різні групи патогенних мікроорганізмів, особливо у порівнянні з класичними препаратами-антисептиками.

2. У розділах 3 та 4 представлені оригінальні фотографії чашок Петрі з досліджуваними сполуками, які демонструють затримку росту мікроорганізмів із внутрішньої сторони чашки, тому підписи лунок із зовнішньої сторони не видно. На мою думку, для кращого візуального сприйняття, можна було б підписати і стрілками позначити досліджувані сполуки.

3. В огляді літератури варто було б ширше висвітлити питання сучасного стану розробки та застосування четвертинних амонієвих сполук у клінічній практиці за кордоном, а також проблему з швидкого розвитку антибіотикорезистентності в Україні.

4. В роботі згадується про перспективу клінічного використання нових сполук, однак було б доцільно подати окремий розділ, присвячений питанням фармакокінетики та можливим шляхам застосування у різних галузях медицини.

Запитання до здобувача:

1. Які, на Вашу думку, основні обмеження та потенційні ризики застосування четвертинних солей арилоксиетокси діалкіл амонію у клінічній практиці?

2. У дисертаційній роботі вказано, що похідні четвертинних солей арилоксиетокси діалкіл амонію не виявляли значної активності щодо референтних штамів грамнегативних мікроорганізмів. Прошу Вас уточнити, які саме грамнегативні мікроорганізми були використані у дослідженні, які результати вказують на незначну активність досліджуваних сполук відносно цих бактерій та можливу причину їх неефективності?

3. Чи плануєте Ви у майбутньому проводити *in vivo* дослідження для підтвердження ефективності й безпечності запропонованих сполук?
4. Яким чином результати Вашого дослідження можуть бути інтегровані у протоколи профілактики внутрішньолікарняних інфекцій?

Зазначені зауваження не знижують наукової і практичної цінності дисертації, мають дискусійний характер та можуть бути враховані автором у подальшій науковій роботі.

10. Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності

Аналіз матеріалів дисертаційної роботи Настенка Володимира Борисовича свідчить про повну відсутність порушень академічної доброчесності. Дисертація виконана самостійно, із дотриманням усіх вимог щодо академічної етики, коректного цитування та використання наукових джерел. Оформлення бібліографії, посилення на роботи інших авторів та результати власних експериментальних досліджень здійснено відповідно до стандартів, прийнятих у сучасній науковій спільноті.

Під час підготовки та апробації результатів роботи автор дотримувався принципів чесності, прозорості та відкритості. У тексті дисертації відсутні ознаки плагіату, фабрикації чи фальсифікації даних, а також інші дії, що можуть свідчити про порушення норм академічної доброчесності. Оригінальність наукового доробку підтверджується змістом публікацій автора, апробацією результатів на наукових конференціях, а також схваленням фахових рецензентів.

Крім того, отримані результати, положення, висновки та рекомендації є самостійними і відображають особистий внесок здобувача у розвиток сучасної мікробіології та біології. Дисертація цілком відповідає чинному законодавству України щодо дотримання принципів академічної доброчесності.

11. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам

За актуальністю теми, рівнем наукової новизни, методологією дослідження, достовірністю отриманих результатів, змістом, обґрунтованістю результатів, висновків і практичних рекомендацій, а також теоретичним і практичним значенням, дисертаційна робота Настенка Володимира Борисовича повністю відповідає вимогам 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 від 12 січня 2022 р. № 44 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами КМ № 341 від 21 березня 2022 р., № 502 від 19 травня 2023 р. та № 507 від 3 травня 2024 р.), Вимог до оформлення дисертації, затверджених наказом Міністерства освіти і науки України № 40 від 12.01.2017 (у редакції наказу МОН України № 406 від 21.04.2022), а також Закону України «Про освіту» (від 05.09.2017 № 2145-VIII, із змінами), Закону України «Про вищу освіту» (від 01.07.2014 № 1556-VII, із змінами), Закону України «Про наукову і науково-технічну діяльність» (від 26.11.2015 № 848-VIII, із змінами) та Стандарту вищої освіти України другого (доктор філософії) рівня за спеціальністю 091 «Біологія». Дисертація оформлена згідно з чинними нормативними документами, всі вимоги дотримані у повному обсязі. Дисертант – Настенко Володимир Борисович – заслуговує на присудження ступеня доктора філософії.

Офіційний опонент:

доцент кафедри мікробіології
ДНП «Львівський національний медичний
університет імені Данила Галицького»,
кандидат медичних наук

Ірина ТИМЧУК