

## ВІДГУК

**офіційного опонента доктора медичних наук, старшого наукового співробітника, завідувача лабораторії нових та маловивчених інфекційних захворювань ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України» Похила Сергія Івановича на дисертаційну роботу Романчишиної Анастасії Павлівни: «Біологічні властивості акантамеб та їх використання для скринінгу протистостцидних препаратів», подану у спеціалізовану вчену раду PhD 11473 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».**

### *Актуальність обраної теми.*

Дисертаційна робота Романчишиної А.П. на тему: «Біологічні властивості акантамеб та їх використання для скринінгу протистостцидних препаратів» присвячена вирішенню важливого наукового завдання на сучасному етапі розвитку медицини, а саме – поглиблення знань про біологічні властивості вільноживучих найпростіших роду *Acanthamoeba* і обґрунтування доцільності їх використання для удосконалення методів визначення протистостцидної активності як традиційних препаратів, так і нових сполук задля розробки більш ефективних засобів лікування акантамебіазу.

Актуальність зазначеного напрямку досліджень обґрунтовується рядом об'єктивних положень, зокрема: убіквітарним поширенням і високою виживаністю (екологічною пластичністю) найпростіших роду *Acanthamoeba* в різних осередках навколишнього середовища; обмеженістю знань про різноманіття та біологічні властивості вільноживучих акантамеб, у тому числі і тих, які циркулюють на території України; більшою масовістю випадків зараження людей *Acanthamoeba* spp., ніж вважалось раніше, про що свідчить висока частота (в середньому від 40 % до 82 % за даними науковців США) виявлення специфічних антитіл (проти антигенів акантамеб) в сироватках крові клінічно здорових осіб; серйозною загрозою для здоров'я людини (особливо з імунокомпрометованим станом) маніфестних форм спричинених *Acanthamoeba* spp. інвазій, що власне і є хворобою «акантамебіаз» (ICD-10, B.60.1; ICD-11, 1F50 - *Acanthamoebiasis*); широке варіювання проявів (нозоформ) акантамебіазу – від кон'юнктивіту, кератокон'юнктивіту, кератиту, шкірного акантамебіазу до менінгоенцефаліту, енцефаліту, гранулематозного амебного/акантамебного енцефаліту тощо, які неможливо за даними загальноклінічного обстеження надійно диференціювати від подібних захворювань непротозойної етіології; відсутністю (серед затверджених і представлених на офіційному сайті МОЗ України) національних та міжнародних настанов з відображеними засобами і методами діагностики, лікування та прогнозу акантамебіазу; відсутністю уніфікованої методики/протоколу/настанови (тобто – стандартизованого тесту) визначення

*in vitro* чутливості збудників протозойних хвороб (у тому числі *Acanthamoeba* spp.) до хіміотерапевтичних препаратів.

У дисертаційній роботі пропонується вирішити означене наукове завдання шляхом: вивчення морфологічних та культуральних властивостей акантамеб, ізольованих із бентонітових глин та ґрунтів України; виконання молекулярно-генетичних досліджень для ідентифікації і з'ясування філогенетичного положення акантамеб та бактеріальної культури, що застосовувалась для моноксенічного культивування цих найпростіших; розробки інноваційної методики визначення чутливості акантамеб до дії препаратів; проведення широкомасштабного дослідження антиакантамебної активності нових хімічних сполук групи 1-алкіл(арил)окси-3-аміно-2-пропанолів; оцінки цитотоксичності сполук з найбільшою амебоцидною активністю на культурі клітин НЕр-2С; розкриття зв'язку між структурними особливостями нових сполук та рівнями їх протистотоксичної активності і цитотоксичності.

***Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.***

Дисертаційна робота Романчишиної А.П. виконана у рамках ініціативно-пошукової науково-дослідної роботи кафедри мікробіології та паразитології з основами імунології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця «Взаємодія акантамеб з кишковими вірусами людини та бактеріофагами в умовах експерименту» (державний реєстраційний № 0117U002260).

Отже, тема дисертаційної роботи Романчишиної А.П. «Біологічні властивості акантамеб та їх використання для скринінгу протистотоксичних препаратів» є актуальною для галузі охорони здоров'я та цілком відповідає: статті 3 Закону України «Про пріоритетні напрями розвитку науки і техніки» (в поточній редакції), статті 4 Закону України «Про пріоритетні напрями інноваційної діяльності в Україні» (із внесеними змінами), а також – середньостроковим пріоритетним напрямом інноваційної діяльності галузевого рівня, затверджених постановою Кабінету Міністрів України від 05.07.2024 р. № 787 «Деякі питання визначення середньострокових пріоритетних напрямів інноваційної діяльності галузевого рівня» (у чинній редакції).

***Найбільш вагомі результати дисертаційної роботи та їх наукова новизна.***

Найбільш теоретично і практично значущими результатами дисертаційної роботи з високою науковою новизною вважаю наступні.

Вперше сформовано колекцію українських штамів вільноживучих *Acanthamoeba* spp. та їх детально охарактеризовано за комплексом властивостей: морфологічних і фізіологічних особливостей трофозоїтів, прецист та цист; патогенного потенціалу за ступенем їх температурної та осмотичної толерантності; філогенетичного різноманіття цих найпростіших у різних біотопах України з 99 % рівнем генетичної подібності фрагмента 18S

pPHK до видів *A. castellanii*, *A. hatchetti* і *A. terricola* (одержані послідовності нуклеотидів депоновано в міжнародній базі даних GenBank).

Вперше розроблено інноваційну техніку більш продуктивного вирощування моноксенічних культур акантамеб з бактеріями *Cellulosimicrobium* sp. штам *bent-1* як поживного субстрату і симбіотичного мікроорганізму. Зазначений штам бактерій повноцінно охарактеризовано за морфологічними, культуральними, біохімічними та молекулярно-генетичними властивостями, а послідовність нуклеотидів його гену 16S pPHK депоновано в загальнодоступну базу GenBank.

Вперше для визначення чутливості акантамеб до традиційних чи нових сполук/препаратів розроблено оригінальну методику, принцип якої ґрунтується на прижиттєвій здатності акантамеб до бляшкоутворення на бактеріальному газоні та градієнтній дифузії в агарі тестованих речовин. У порівнянні з відомими способами аналогічного призначення запропонована методика є більш конструктивно валідною, технічно простою у відтворенні та економічно вигідною. Її використання дозволяє як якісно, так і кількісно (за ступенем редукції бляшок) визначати протистоцидну активність досліджуваних речовин як на трофозоїти, так і на цисти акантамеб.

Вперше досліджено антиакантамебну активність нових речовин групи 1-алкіл(арил)окси-3-аміно-2-пропанолів, визначено сполуки з найбільш вираженою протистоцидною дією та цитотоксичною безпечністю, розкрито закономірності зв'язку між структурними особливостями досліджених речовин та рівнями їх специфічної активності і цитотоксичності. Відібрано перспективні сполуки для подальшої хімічної модифікації та фармакологічних досліджень з метою створення більш ефективних і безпечних препаратів для лікування акантамебіази.

### ***Особистий внесок здобувача в отриманні наукових результатів дисертаційної роботи.***

Представлені в дисертації матеріали повноцінно відображають науковий внесок здобувача у виконання кожного завдання роботи для досягнення її мети – вивчення біологічних особливостей акантамеб виділених з навколишнього середовища (бентонітових глин та ґрунту), розробка методів для визначення амебоцидної активності нових хімічних сполук в умовах експерименту.

Дисертанткою самостійно і якісно виконано інформаційно-патентний пошук, ретельно проаналізовано тематичну наукову літературу і визначено світові тенденції та досягнення за обраним напрямом дисертації, об'єктивно і чітко окреслено невирішені дотепер проблемні питання щодо природних екотопів, видового різноманіття та біологічних властивостей вільноживучих акантамеб, труднощів ідентифікації, генотипування та аналізу філогенетичної спорідненості представників роду *Acanthamoeba*, загроз здоров'ю людей, спричинюваних інвазіями цих найпростіших, недостатньої ефективності існуючих засобів і методів діагностики та лікування акантамебіази, недоліків

традиційних методичних підходів для визначення амебоцидної активності природних та синтетичних речовин.

Особисто здобувачем з використанням світлової, фазово-контрастної, люмінесцентної та електронної мікроскопії вивчено особливості структури трофозоїтів, прецист і цист різних ізолятів акантамеб та процесу ексцистування у цих найпростіших. Вивчено морфологічні, культуральні та біохімічні властивості бактерій *Cellulosimicrobium* sp. штам *bent-1*, що використовувались як поживний субстрат для культивування штамів *Acanthamoeba* spp.

Дисертанткою у співпраці з фахівцями кафедри мікробіології та паразитології з основами імунології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України та Університету Кардинала Стефана Вишинського (UKSW) у Варшаві (Польща) проведено молекулярно-генетичну ідентифікацію та філогенетичний аналіз українських штамів *Acanthamoeba* spp. та бактерій *Cellulosimicrobium* sp. штам *bent-1*.

Здобувачем за участю наукового керівника – завідувача кафедри мікробіології та паразитології з основами імунології, академіка НАН і НАМН України, д-ра мед. наук, професора Широбокова В.П. досліджено феномен утворення акантамебами бляшок на бактеріальному газоні, розроблено новаторські методи вирощування моноксенічних (з бактеріями *Cellulosimicrobium* sp. штам *bent-1*) культур акантамеб та визначення їх чутливості до хіміотерапевтичних препаратів. Виконано комплекс експериментальних досліджень і структурно-функціональний аналіз антиакантамебної активності та цитотоксичності чисельної групи нових сполук 1-алкіл(арил)окси-3-аміно-2-пропанолів, синтезованих і наданих для досліджень науковцями Інституту органічної хімії НАН України.

Отже, науковий внесок здобувача в отриманні найбільш теоретично і практично значущих результатів дисертаційної роботи оцінюю як домінуючий.

**Достовірність наукових результатів і ступінь обґрунтованості основних положень і висновків дисертаційної роботи.**

Достовірність наукових результатів і високий ступінь обґрунтованості основних положень і висновків дисертаційної роботи Романчишиної А.П. забезпечують: достатній обсяг виконаних тематичних експериментів; використання сучасних методів досліджень (інформаційно-аналітичних, мікроскопічних, протистологічних, бактеріологічних, молекулярно-генетичних, токсикологічних, математико-статистичних), адекватних для виконання поставлених завдань; специфікація взятих в експерименти штамів *Acanthamoeba* spp. та інших мікроорганізмів, поживних середовищ, реактивів, використаного обладнання і програм біоінформаційного аналізу, досліджуваних сполук групи 1-алкіл(арил)окси-3-аміно-2-пропанолів, клітин лінії НЕр-2С тощо; стандартизація робочих суспензій акантамеб та мікроорганізмів, уніфікованість кількаразово повторених експериментів з дотриманням вимог

внутрішнього контролю якості досліджень; детальний опис процедур виконання експериментів; повноцінна статистична обробка отриманих даних та їх об'єктивний аналіз з порівнянням із даними зарубіжних науковців.

Приклади багатьох результатів досліджень (мікроскопічних, протистологічних, бактеріологічних та токсикологічних) зафіксовано методом фотографування.

***Апробація результатів дисертації, повнота викладу сформульованих у роботі наукових положень, висновків і рекомендацій в опублікованих працях.***

Результати досліджень, основні наукові положення, висновки і рекомендації дисертаційної роботи Романчишиної А.П. оприлюднено та обговорено на 5 міжнародних і національних наукових форумах (конгресі Польського паразитологічного товариства, Європейському конгресі клінічної мікробіології та інфекційних захворювань, тематичних науково-практичних конференціях), опубліковано в 10 наукових працях. Серед останніх: 5 статей у фахових періодичних виданнях (3 – у закордонних журналах, 2 – у вітчизняних виданнях, з яких 1 – включене до наукометричної бази Scopus, 1 – категорії Б), 5 тез у матеріалах наукових форумів (2 – країн ЄС, 3 – національних з міжнародною участю).

Вказане вище дозволяє мені визначити, що відомості про обсяг апробації, опубліковані праці авторки повною мірою розкривають основні результати, наукові положення і висновки її дисертаційної роботи.

***Оформлення, структура, основний зміст і завершеність дисертаційної роботи.***

Дисертаційна робота Романчишиної А.П. загалом оформлена згідно з вимогами МОН України, затвердженими наказом № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» (із внесеними змінами).

Робота викладена на 178 сторінках комп'ютерного тексту, містить 5 таблиць, 27 рисунків і складається із: титульного аркушу, анотації (українською та англійською мовами), змісту, переліку умовних скорочень; основної частини, у тому числі: вступу, огляду тематичної літератури, опису використаних матеріалів та методів досліджень, трьох розділів із результатами власних експериментальних і аналітичних досліджень, окремого розділу з аналізом та узагальненням отриманих результатів, висновків; переліку літературних джерел та трьох додатків. Матеріали дисертації відображають загальну єдність структури і змісту роботи.

У вступі лаконічно і переконливо обґрунтовано актуальність для галузі охорони здоров'я вирішення конкретного наукового завдання – поглиблення знань про біологічні властивості вільноживучих найпростіших роду *Acanthamoeba* і обґрунтування доцільності їх використання для удосконалення методів визначення протистоцидної активності як традиційних препаратів, так і нових сполук задля розробки більш ефективних засобів лікування акантамебіази. Висвітлено зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами, сформульовано мету, визначено

завдання дослідження для її досягнення, окреслено об'єкт та предмет дослідження, розкрито основні положення наукової новизни, практичне значення отриманих результатів, детально відображено особистий внесок здобувача, наведено дані щодо апробації і опублікування результатів роботи, а також відомості про обсяг та структуру дисертації.

**Розділ 1 «Вільноживучі амеби та їх характеристика» (огляд літератури)** складається із 9 взаємодоповнюючих підрозділів, в яких глибоко і критично проаналізовано сучасний стан знань та досвід світової медицини щодо: історії відкриття вільноживучих амеб, поширеності найпростіших роду *Acanthamoeba* в навколишньому середовищі, класифікації вільноживучих амеб, морфологічних особливостей і культуральних властивостей акантамеб, генетичних методів ідентифікації представників роду *Acanthamoeba* та опису їх відомих генотипів, спричинюваних акантамебами інвазій у людей, засобів і методів їх діагностики та лікування, існуючих методичних підходів до визначення амебоцидної активності природних та синтетичних речовин, використання амінопропанолів як антимікробних, протигрибкових та антипротозойних агентів.

Зміст матеріалів даного розділу переконливо обґрунтовує високу наукову і медичну важливість теми дисертаційного дослідження Романчишиної А.П.

**Розділ 2 «Матеріали та методи дослідження»** включає 4 підрозділи, в яких наведено відомості, що охарактеризують використані у роботі: штами вільноживучих *Acanthamoeba* spp., бактерій і грибів, поживних середовищ, досліджуваних на протистоцидну активність хімічних сполук; методи мікроскопії (світлової, люмінесцентної, фазово-контрастної, трансмісійної і скануючої електронної) акантамеб, їх моноксенічного культивування, вивчення процесу екзистування, оцінки патогенного потенціалу штамів акантамеб за показниками термо- та осмотолерантного тестів, техніки відтворення (на 0,7 % поживному агарі) і прояву феномену бляшкоутворення найпростішими; методи молекулярно-генетичних досліджень (процедури виділення бактеріальної та акантамебної ДНК, характеристика систем праймерів, реакційної суміші, програми проведення полімеразної ланцюгової реакції, техніки детекції і аналізу розміру ампліфікованих фрагментів ДНК, процедур виділення ДНК із агарозного гелю, очищення, зберігання та секвенування генів 18S рРНК ізолятів *Acanthamoeba* spp. та 16S рРНК *Cellulosimicrobium* sp. штам *bent-1*, програмне вирівнювання отриманих сіквенсів і їх біоінформаційний аналіз, побудова філогенетичних дерев та оцінка еволюційних зв'язків між порівнюваними видами мікроорганізмів); методи визначення цитотоксичної дії досліджуваних сполук на чутливій лінії клітин HEp-2C, а також методи статистичної обробки результатів досліджень.

Повнота викладення використаних матеріалів і методів досліджень є цілком достатньою для оцінки їх сучасності, обґрунтованості вибору з точки зору виконання поставлених завдань, забезпечення належної якості

проведення лабораторних експериментів, можливості їх відтворення, аналізу адекватності статистичної обробки отриманих результатів.

**Розділ 3 «Біологічні властивості акантамеб: морфологія, культивування та генетична ідентифікація»** складається із 4 підрозділів, які містять найбільш суттєві результати дисертаційної роботи щодо: виділення акантамеб з бентонітових глин та ґрунтів України; вивчення морфології та елементів структури трофозоїтів, прецист і цист п'яти штамів *Acanthamoeba* spp.; дослідження процесу ексистування акантамеб; підвищення результативності вирощування моноксенічних культур акантамеб з бактеріями *Cellulosimicrobium* sp. штам *bent-1*; комплексної характеристики (за морфологічними, культуральними, біохімічними та молекулярно-генетичними властивостями) *Cellulosimicrobium* sp. штам *bent-1*; дослідження феномену утворення акантамебами бляшок в умовах лабораторного їх культивування на придатному бактеріальному газоні; визначення патогенного потенціалу ізолятів *Acanthamoeba* spp. шляхом оцінки рівнів їх температурної та осмотичної толерантності; молекулярно-генетичної ідентифікація видового статусу українських штамів акантамеб.

За результатами даного етапу досліджень сформульовані перший і другий висновки дисертаційної роботи.

**Розділ 4 «Акантамеби як експериментальна модель для визначення протистотоксичної активності»** включає 2 підрозділи, взаємопов'язані за сутністю вирішуваних основних завдань дисертаційної роботи. У першому із них представлено результати удосконалення (адаптації) диско-дифузійного і лунко-дифузійного методів визначення амебоцидної активності хімічних сполук, принцип яких ґрунтується на здатності акантамеб до бляшкоутворення на бактеріальному газоні та градієнтної дифузії в агарі тестованих речовин. У другому підрозділі викладено метод кількісної оцінки редукції бляшок акантамеб, що дозволяє визначати рівень інгібуючої чи летальної дії досліджуваних сполук/препаратів як на трофозоїти, так і на цисти (або їх суміші) найпростіших. В цьому розділі детально висвітлено переваги зазначених методів у порівнянні з відомими підступами аналогічного призначення.

Найбільш суттєві результати цього фрагменту дисертаційного дослідження відображено у третьому висновку роботи.

**Розділ 5 «Дослідження протистотоксичної активності та цитотоксичності хімічних сполук групи 1-алкіл(арил)окси-3-аміно-2-пропанолів»** містить 7 підрозділів. Матеріали цих підрозділів за логічною послідовністю відображають результати: скринінгу антиакантамебної активності 418 нових сполук групи 1-алкіл(арил)окси-3-аміно-2-пропанолів; аналізу протистотоксичної активності 26 найефективніших із них; вивчення рівня цитотоксичності цих хімічних сполук та визначення 12 серед них з відсутньою цитотоксичністю або нижчою за 40 % (визначеною за умов кінцевої концентрації кожної 62,5

мкг/мл); встановлення для штамів *Acanthamoeba* spp. мінімальної інгібуючої концентрації 12 відібраних сполук; дослідження цистоцидної активності 5 сполук з найбільш збалансованим поєднанням антиакантамебної активності та цитотоксичної безпечності; розкриття зв'язку між структурними особливостями сполук групи 1-алкіл(арил)окси-3-аміно-2-пропанолів та рівнями їх протистотоксичної активності і цитотоксичності. Загалом виконання цього розділу роботи дозволило визначити найбільш потенційно придатні сполуки (АМ-166, АМ-225 та АМ-262) та напрямки їх хімічної модифікації для розробки нових протистотоксичних лікарських засобів.

На основі найбільш суттєвих результатів даного фрагменту досліджень сформульовані четвертий і п'ятий висновки дисертаційної роботи.

**Розділ 6 «Аналіз та узагальнення результатів дослідження»** містить досить детальний аналіз, співставлення і узагальнення огляду тематичної літератури та результатів усіх розділів власних досліджень дисертантки. Повноцінно проаналізовано дані, що стосуються: аспектів екології, біологічних властивостей, патогенного потенціалу, впливу представників роду *Acanthamoeba* на здоров'я людини; морфологічних та фізіологічних особливостей як основних стадій життєвого циклу найпростіших – трофозоїтів та цист, так і перехідної форми – прецист; філогенетичного різноманіття штамів *Acanthamoeba* spp., виділених із різних біотопів України; принципів і відомих технік культивування цих найпростіших з описом переваг вперше запропонованого методу вирощування моноксенічних культур акантамеб з бактеріями *Cellulosimicrobium* sp. штам *bent-1*; рівнів температурної та осмотичної толерантності досліджених ізолятів *Acanthamoeba* spp., що дозволило їх оцінити як непатогенні; сучасних підходів іноземних науковців для вивчення сприйнятливості акантамеб до дії лікарських засобів, а також багатовекторної вигідності модифікованої дисертанткою методики визначення чутливості цих найпростіших до протистотоксичних препаратів, яка заснована на їх прижиттєвій здатності формувати бляшки на бактерійному газоні; світових трендів пошук нових речовин з амебоцидною та/або цистицидною активністю і пріоритетних результатів проведеного в роботі масштабного скринінгу серед 418 сполук групи 1-алкіл(арил)окси-3-аміно-2-пропанолів з обґрунтованим відбором за рівнями антиакантамебної активності та цитотоксичності найбільш перспективних для подальших модифікацій і фармакологічних досліджень.

Загалом в Україні результати дисертаційної роботи Романчишиної А.П. є оригінальними за науковою суттю, тому детально порівнювались із даними іноземних науковців.

**Висновки** (їх 5) включають стисле формулювання здобувачем наукових узагальнень, які в сукупності повною мірою відображають основні теоретично та практично значущі результати роботи для вирішення наукового завдання – збагачення знань про біологічні властивості (фенотипові і генотипові) вільноживучих найпростіших роду *Acanthamoeba*, що дозволило інноваційно удосконалити скринінгові і кількісні методи визначення

протистотоксичної активності як традиційних препаратів, так і нових сполук класу 1-алкіл(арил)окси-3-аміно-2-пропанолів з відбором серед останніх найбільш перспективних речовин для подальшої розробки на їх основі більш ефективних засобів лікування акантамебіазу.

Висновки сформульовані чітко і зрозуміло, їх послідовність та зміст логічно відображає завершеність дисертаційної роботи.

**Перелік літературних джерел** складено за послідовністю у порядку появи посилань у тексті дисертації. Усього в списку 175 джерел, у тому числі: 3 – кирилицею та 172 – латиною. Більше 80 % використаних джерел опубліковані за останні 10 років.

**Три додатки (А-В)**, матеріали яких містять: список публікацій здобувача за темою дисертації і відомості про апробацію матеріалів виконаної роботи (А); перелік досліджених хімічних сполук групи 1-алкіл(арил)окси-3-аміно-2-пропанолу та встановлену їх протистотоксичну активність (Б); копії чотирьох актів про впровадження результатів дисертаційного дослідження в науково-педагогічний процес профільних кафедр вітчизняних закладів вищої медичної освіти (В).

#### ***Зауваження і запитання до змісту дисертаційної роботи.***

Зауважень до змісту дисертації немає, а виявлені на етапі опонування недоліки технічного характеру (надмірна кількість ключових слів, окремі випадки недотримання правил написання назв мікроорганізмів згідно з чинним Міжнародним кодексом номенклатури прокаріотів) не мають принципового характеру та не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи Романчишиної А.В.

Перелік і суть дискусійних запитань, які виникли на етапі опонування дисертації.

1. Добре відомо, що при використанні дифузійних методів визначення чутливості мікроорганізмів до препаратів, діаметр зон затримки росту є інтегральною функцією власне рівня специфічної активності препарату сумісно з інтенсивністю його градієнтної дифузії в поживному агарі (сітці агар-агару). Як може змінюватись діаметр зони редукції бляшок (ЗРБ) акантамеб при суттєвому збільшенні просторового розміру молекул тестованих сполук з близькою протистотоксичною активністю ?

2. Який індекс селективності між рівнями (МІК) специфічної активності і цитотоксичності (визначених в умовах експериментів виконаної роботи) можна вважати прийнятним для сполук-кандидатів нових препаратів для лікування акантамебіазу ?

3. За результатами експериментів сполуку АМ-166 визнано одною з найбільш протистотоксично активною. Однак, середнє значення її МІК для акантамеб наближено сягає 41,7 мкг/мл (з міжштамовим варіюванням від 31,25 мкг/мл до 62,5 мкг/мл), а МІК для бактерій *Cellulosimicrobium* sp. штам *bent-1* становить 31,25 мкг/мл. Чи не є прояв інгібування проліферації трофозоїтів досліджених ізолятів *Acanthamoeba* spp. наслідком впливу на

бактерії, що слугують джерелом живлення найпростіших (зменшення їх кормової бази) ?

***Висновок щодо відповідності дисертаційної роботи встановленим вимогам.***

Дисертаційна робота Романчишиної А.П. на тему: «Біологічні властивості акантамеб та їх використання для скринінгу протистотоксичних препаратів» є актуальною, самостійною, завершеною науковою працею, виконаною на сучасному науково-методичному рівні. Робота містить пріоритетні експериментальні результати та нові теоретичні узагальнення, які у сукупності забезпечують наукове вирішення важливого для галузі охорони здоров'я завдання – поглиблення знань про біологічні властивості вільноживучих найпростіших роду *Acanthamoeba* і обґрунтування доцільності їх використання для удосконалення методів визначення протистотоксичної активності як традиційних препаратів, так і нових сполук задля розробки більш ефективних засобів лікування акантамебіази. Дисертаційна робота Романчишиної А.П. є такою, що цілком відповідає вимогам до дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії, які визначено п. 6 «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 від 12 січня 2022 р. № 44 (із змінами, внесеними згідно з постановами КМ від 21.03.2022 р. № 341, від 19.05.2023 р. № 502, від 03.05.2024 р. № 507) та наказом Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 р. № 40 (в чинній редакції від 12.07.2019 р.) «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», а її авторка заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

**Завідувач лабораторії нових та маловивчених  
інфекційних захворювань Державної установи  
«Інститут мікробіології та імунології  
ім. І.І. Мечникова Національної академії  
медичних наук України»,  
доктор медичних наук,  
старший науковий співробітник**

**Сергій ПОХИЛ**