

ВІДГУК

офіційного опонента, доцента кафедри біотехнології, молекулярної біології та водних біоресурсів Державного біотехнологічного університету, доктора філософії Пилипенко Дар'ї Михайлівни на дисертаційну роботу Липея Івана Михайловича на тему : «Мікробіомні біомаркери посттравматичного стресового розладу та фармабіотичні підходи до його корекції», представлену до разової спеціалізованої вченої ради PhD 16028 при Державному вищому навчальному закладі «Ужгородський національний університет», утворену за наказом ректора від 30.06.2026 № 399/01-04, для розгляду та проведення офіційного захисту на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія»

Актуальність теми дослідження. Посттравматичний стресовий розлад (ПТСР) виникає у деяких людей після переживання травматичної події, що пов'язана з загрозою смерті, серйозними травмами або насильством. Це виснажливий психічний розлад, який погіршує рівень життя пацієнтів та їх сімей і потребує ефективних механізмів діагностики та лікування. Крім того, ПТСР є фактором ризику розвитку хронічних захворювань, таких як ішемічна хвороба серця, інсульт та діабет, а також пов'язаний з порушенням функції імунної системи. Проте механізми, що лежать в основі етіології та проявів ПТСР, сьогодні залишаються недостатньо вивченими і потребують ґрунтовних міждисциплінарних досліджень.

Кишковий мікробіом людини відіграє вирішальну роль у розвитку та функціонуванні нервової системи хазяїна. Зв'язок між мікробіотою кишечника та центральною нервовою системою, так звана вісь «мікробіота-кишечник-мозок», відіграє ключову роль у підтриманні здоров'я мозку та його реакції на стрес, тоді як мікробіота є важливим регулятором цієї осі. Сьогодні пробіотики привертають увагу як лікарів, так і дослідників для профілактики та лікування захворювань різної етіології. Цей інтерес пов'язаний із різноманітними

механізмами дії пробіотичних штамів у організмі людини. Функціональні продукти пробіотичного та постбіотичного походження мають протизапальну, противірусну, антибактеріальну та протипухлинну активність. Різні лікарські форми пробіотиків демонструють високу ефективність у відновленні мікробіома організму людини.

Враховуючи унікальність мікробіому людей різних країн та регіонів, особливо важливо проводити дослідження на вітчизняних когортах пацієнтів, доповнюючи світовий досвід та розширюючи уявлення про варіабельність випадків розвитку хвороби та створюючи наукове підґрунтя для персоналізованого підходу до лікування порушень мікробіому. Військові є окремою групою пацієнтів, які тривалий час знаходяться у складних фізичних та психологічних умовах і мають підвищений ризик розвитку ПТСР. Тому дослідження цієї групи є надзвичайно актуальним завданням, у тому числі для України сьогодні.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана у рамках науково-дослідної тематики РН40-2024 «Інноваційні підходи до аналізу і корекції мікробіому в діагностиці, профілактиці та лікуванні посттравматичних стресових розладів» (НДР 0124U004303; 2024-2026 рр.) у Державному вищому навчальному закладі «Ужгородський національний університет».

Наукова новизна отриманих результатів. У дисертаційній роботі вперше на вітчизняній когорті пацієнтів проведено комплекс досліджень, що включав визначення мікробіологічних, біохімічних та імунологічних показників стану здоров'я військовослужбовців з ПТСР та без нього. На основі аналізу отриманих результатів та поглибленого аналізу кишкової мікробіоти досліджуваних груп із залученням секвенування нового покоління та стандартизованої біоінформатичної обробки визначено мікробіомні біомаркери ПТСР.

Методом молекулярного докінгу показано селективне зв'язування глутаматдекарбоксилази (одного з основних ферментів синтезу нейромедіатора

γ-аміномасляної кислоти (ГАМК)) лактобактерій з білками-мішенями умовно-патогенних мікроорганізмів при слабкій взаємодії білками мікроорганізмів коменсалів. Розширено уявлення про механізм антагоністичної активності ГАМК-продукуючих лактобактерій.

Запропоновано науково обґрунтований підхід до персоналізованої корекції кишкового мікробіому у пацієнтів з ПТСР на основі ідентифікованих мікробіомних біомаркерів.

Теоретичне та практичне значення отриманих результатів. У результаті проведених досліджень розширено уявлення про патологічні механізми ПТСР через вісь «мікробіота-кишечник-мозок», внаслідок комплексної оцінки мікробіологічних, біохімічних та імунологічних факторів.

Отримані результати створюють наукове підґрунтя для діагностики супутніх станів, таких як дисбіоз, зниження імунітету, що розвиваються у пацієнтів з ПТСР і можуть призводити до погіршення рівня життя та стану здоров'я, а також обґрунтування та вибору персоналізованої стратегії їх корекції.

Результати роботи стали основою для розробки рекомендацій щодо профілактики та корекції ПТСР. Результати дисертаційної роботи впроваджено у діяльність Науково-дослідницького та навчального Центру молекулярної мікробіології та імунології слизових оболонок, Закарпатського обласного медичного центру психічного здоров'я та медицини залежностей, а також в освітній процес Державного вищого навчального закладу «Ужгородський національний університет» при викладанні ряду біомедичних дисциплін.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Робота виконана на високому науковому рівні. Методи та обсяг наукових досліджень відповідають поставленим завданням та сучасним вимогам. Наукові положення і висновки, сформульовані у дисертаційній роботі, мають об'єктивний характер і логічно витікають з отриманих результатів. Дисертаційна робота добре оформлена та має цілком логічну структуру.

Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих

роботах, а також їх апробації. На основі матеріалів дисертації було опубліковано 10 наукових праць, серед яких 5 статей у фахових наукових виданнях (включаючи 2 статті в журналі, що індексується наукометричною базою даних Scopus) та 5 тез доповідей. Результати роботи були апробовані на 5 науково-практичних конференціях. Публікації повністю відображають результати дисертаційного дослідження.

Аналіз дисертаційної роботи.

Робота складається зі вступу, трьох розділів (огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, результатів власних досліджень), узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел та додатків. Усі розділи логічно структуровані. Представлено 11 таблиць і 4 рисунки, що візуалізують результати досліджень.

У першому розділі представлено огляд сучасної літератури за темою дослідження, який відображає актуальність теми, підкреслює необхідність комплексного дослідження системних змін організму (мікробіомних, метаболічних, імунологічних тощо) пацієнта, який зазнав посттравматичного стресового розладу. Дисертант окреслює наукове підґрунтя застосування пробіотиків, пребіотиків, синбіотиків та інших мікробіом-орієнтованих підходів для модифікації стрес-асоційованих порушень.

Другий розділ присвячено методології досліджень. У розділі описано принципи формування дослідних груп та наведено детальний опис мікробіологічних, імунологічних, молекулярно-генетичних та біоінформаційних методів, які були використані під час виконання дисертаційної роботи. Використовувані методи є сучасними та релевантними поставленим завданням.

У третьому розділі наведено результати проведених експериментів. Наведено загальну характеристику досліджуваної групи пацієнтів з ПТСР та групи порівняння. За результати дослідження кишкової мікробіоти показано зміни у її складі між досліджуваними групами із суттєвим підвищенням різноманіття умовно-патогенної мікрофлори у пацієнтів з ПТСР. На підставі тесту чутливості ізольованих умовно-патогенних мікроорганізмів до

антибіотиків встановлено підвищення кількості резистентних форм у досліджуваній групі. Поглиблений аналіз кишкового мікробіому групи військовослужбовців із ПТСР та групи порівняння проведено із використанням секвенування нового покоління (NGS). Виділено характерні зміни мікробіому, які запропоновано розглядати як потенційні біомаркери ПТСР. Додатково наведено аналіз комплексу біохімічних та імунологічних показників, який підтверджує розвиток хронічного запалення та пригнічення імунної системи у пацієнтів дослідної групи.

Запропоновано використовувати пробіотичні штами для корекції мікробіому пацієнтів з ПТСР та досліджено механізми їх антагоністичної активності. Проведено дослідження *in vitro* здатності відібраних автором п'яти штамів лактобактерій (*Lactobacillus plantarum* A, *L. plantarum* IBM B-7413, *L. rhamnosus* S25, *L. bulgaricus* S19, *L. bulgaricus* S6) пригнічувати ріст умовно-патогенної мікрофлори, виділеної у військовослужбовців із ПТСР. за результатами досліджень *in vitro* надано рекомендації щодо комбінацій пробіотичних штамів для корекції різних типів порушень кишкового мікробіому. *In silico* проаналізовано постбіотичний потенціал штамів лактобактерій як продуцентів потужного нейромедіатора організму людини (ГАМК) та антагоністичні властивості основного фермента її синтезу (глутаматдекарбоксилази). Показано здатність глутаматдекарбоксилаз *Lactobacillus plantarum* селективно зв'язувати білки патогенних мікроорганізмів, блокуючи їх функцію.

На основі проведених досліджень запропоновано надано рекомендації щодо впровадження алгоритму виявлення та персоналізованої корекції порушень кишкового мікробіому у пацієнтів з ПТСР.

Підсумовуючи, можна сказати, що в цілому розділ власних досліджень, написано в чіткій, логічній послідовності, він містить достатньо ілюстративного матеріалу і завершується висновками, які відображають отримані результати дослідження.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів роботи» автор

систематизував отримані результати, провів їх порівняльний аналіз та виділив основні фактори, які впливали на формулювання рекомендацій щодо профілактики та корекції ПТСР (додаток Е дисертаційної роботи).

Загальні висновки роботи добре сформульовані та відповідають поставленим завданням і змісту дисертаційної роботи.

Список використаних джерел оформлений згідно з чинними вимогами та відображає широке опрацювання дисертантом даних сучасної наукової літератури.

Академічна доброчесність. Дисертаційна робота Липея І.М. є самостійною завершеною працею. Ознак порушення академічної доброчесності в роботі та представлених публікаціях немає.

Зауваження та рекомендації щодо змісту і оформлення дисертації. Загальний аналіз дисертаційної роботи Липея Івана Михайловича засвідчує, що всі проведені експериментальні дослідження виконано на високому науковому рівні з використанням сучасних дослідницьких підходів і методів аналізу. Робота спирається на ґрунтовну теоретичну основу та якісно опрацьований науковий матеріал. Обрана тематика є надзвичайно актуальною для сучасної медицини, а результати досліджень і сформульовані висновки є аргументованими, логічними та повністю відповідають поставленим у роботі науковим завданням.

Оцінюючи дисертаційну роботу Липея Івана Михайловича у цілому позитивно, вважаю за доцільне висловити деякі зауваження:

1. С. 70 – Вказано, що високі концентрації *Staphylococcus spp.* у групі пацієнтів з ПТСР може бути пов'язано з попереднім перебуванням у стаціонарі та застосуванням антибіотиків, проте антибіотикотерапія була критерієм виключення при формуванні груп учасників (розділ 2.1). Варто уточнити.

2. У табл. 3.1 зазначено, що у групі без ПТСР *Klebsiella spp.* не визначалась у жодного пацієнта, але в табл. 3.3. наведені дані чутливості до антибіотиків ізолятів *Klebsiella spp.* в обох групах. Водночас у розділі 3.6.2 вказується, що у групі без ПТСР *Klebsiella* виявлені у поодиноких випадках. Варто уточнити.

3. У табл. 3.3 не показано, що у групі без ПТСР є резистентні штами патогенних мікроорганізмів до деяких наведених антибіотиків, проте у таблиці 3.4 вказано, що у групі без ПТСР були виявлені представники (без вказання роду) резистентних штамів до більше ніж 1, 2 або 3 антибіотиків. Доцільно було б навести результати повністю.

4. У табл. 3.7 характеристика мікробних біомаркерів, які вказують на різницю між пацієнтами з ПТСР та без ПТСР, наведена дещо загальною: «помірний рівень», «стабільний/нестабільний», «нестабільне/більш стабільне». Доцільно було б навести конкретні показники.

5. Для проведення секвенування дисертантом було обрано набір для одночасного ампліфікації бактеріального та грибового маркерів, проте у результатах обговорюються лише представники бактеріальних спільнот. Чи були виявлені штами грибів у досліджуваних зразках?

6. У розділі 3.7 (табл. 3.8) наведено результати антагоністичної активності лактобактерій проти грибів *Candida spp.* У попередніх розділах не наводилися данні, що *Candida* були виявлені у дослідних групах. Не зрозуміло звідки були взяті ізоляти грибів для аналізу.

7. С. 91 – не коректним є формулювання, що «найбільш виражену антагоністичну активність щодо грамнегативних умовно-патогенних бактерій продемонстрували штами роду *Lactobacillus*», оскільки у дослідженні не використовувалися інші роди пробіотичних мікроорганізмів.

8. У висновках вказано, що у дисертаційній роботі подано «теоретичне узагальнення та нове вирішення наукового завдання, яке полягає у встановленні біологічних механізмів фармакодинамічної та фармакокінетичної дії новітніх біопрепаратів». У роботі наведені результати пригнічення росту патогенних мікроорганізмів пробіотичними штамами *in vitro* та вивчення *in silico* взаємодії глутаматдекарбоксилази лактобактерій на білки мішені патогенних мікроорганізмів (фармакодинаміка), проте робота не відображає дослідження фармакокінетичних аспектів дії пробіотичних препаратів.

У порядку проведення наукової дискусії бажано отримати відповіді на такі запитання:

1. У роботі зустрічається термін «новітні препарати». Прошу пояснити як Ви тлумачите цей термін. Які саме пробіотичні препарати Ви вважаєте новітніми?
2. Чому серед існуючих на ринку пробіотичних штамів Ви обрали саме лактобактерії? Які концентрації пробіотичних штамів використовувалися у тесті антагоністичної активності *in vitro* та чим вони були обґрунтовані?
3. У роботі зазначено, що у пацієнтів із ПТСР встановлено статистично значущі зміни кишкової мікробіоти, що проявляються зниженням рівня пробіотично значущих бактерій (*Lactobacillus spp.*). За даними таблиці 3.1 *Lactobacillus spp.* виявлялися у 12,5% пацієнтів з ПТСР і у 19,0 % пацієнтів без ПТСР. Як Ви пояснюєте зміни складу нормальної мікрофлори у контрольній групі?
4. С. 91-92 – Вказано, що «поєднання *L. plantarum A* та *L. rhamnosus S25* забезпечувало найбільш виражене пригнічення росту умовно-патогенних мікроорганізмів різних таксономічних груп, що свідчить про наявність синергічного ефекту». Проте у роботі не наведено результатів сумісного культивування цих двох штамів та їх дії на ріст патогенних мікроорганізмів. На підставі чого зроблено висновок про синергічну дію? А також на підставі чого було визначено рекомендовані комбінації пробіотиків при різних видах порушень мікробіоти (табл. 3.9)?

Висновок. На підставі викладеного вище вважаю, що дисертаційна робота Липея Івана Михайловича на тему «Мікробіомні біомаркери посттравматичного стресового розладу та фармабіотичні підходи до його корекції» є самостійною працею, завершеним науковим дослідженням, а отримані результати мають важливе значення для розвитку біомедичної науки і практики. На основі проведених експериментальних досліджень здобувач виділив біомаркери, що супроводжують розвиток ПТСР та потребують корекції, та запропонував алгоритм персоналізованого вибору пробіотичних штамів.

Вважаю, що за актуальністю, обсягом досліджень, рівнем впровадження одержаних результатів, їх новизною та практичною значимістю дисертаційна робота 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 КМУ від 12 січня 2022 року № 44, а її автор, Липей Іван Михайлович, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Офіційний опонент:

Доктор філософії, доцентка кафедри біотехнології,
молекулярної біології та водних біоресурсів
Державного біотехнологічного університету



Дар'я ПИЛИПЕНКО

Підпи Пилипенко Д.
ЗАСВІДЧУЮ
Керівник відділу діловодства ДБТУ
Дар'я Михайлівна

Пилипенко Дар'я
Михайлівна

Digitally signed by Пилипенко
Дар'я Михайлівна
Date: 2026.08.06 14:21:56
+03'00'