

## РЕЦЕНЗІЯ

на дисертацію КОЗОПАС Наталії Михайлівни

### «МАРКЕРИ ФЕРТИЛЬНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ЧОЛОВІКІВ НА ТЛІ НАДМІРНОЇ МАСИ ТІЛА ТА ОЖИРІННЯ»

на здобуття ступеня доктора філософії  
за спеціальністю 222 «Медицина»  
(галузь знань 22 Охорона здоров'я)

**Актуальність обраної теми.** Недостатність функції сперматозоїдів є найбільш визначеною причиною неплідності чоловіків і одна з головних причин, чому ми спостерігаємо зростання інтракорпорального запліднення в розвинених країнах світу.

Загальноприйняті методи діагностики неплідності, а саме: клініко-морфологічні, цитологічні, бактеріологічні тощо не завжди вказують на причину зниження життєздатності і біологічної повноцінності сперматозоїдів, не розкривають механізму змін, а також недостатньо точно і повно його відображають. Надмірна маса тіла / ожиріння розглядається як один із факторів, що впливає на репродуктивну функцію чоловіків. Ця патологія набула глобального масштабу, а її поширеність серед дорослого населення віком від 18 років і старше упродовж останніх десятиліть зросла майже втричі. Зазначимо, що, у державних статистичних звітах України практично відсутня інформація про причини безпліддя у чоловіків.

Експерти Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) проаналізували ключові чинники стилю життя, що впливають на фертильність, особливу увагу зосереджуючи на проблемі ожиріння та рекомендували консультивати чоловіків з безплідних пар щодо стратегії втрати ваги, якщо їхні морфометричні показники демонстрували ожиріння.

При аналізі літературних джерел стосовно зв'язку ожиріння або метаболічного синдрому з чоловічим безпліддям, зокрема кореляції ІМТ та основних параметрів спермограми, що є індикаторами чоловічої фертильності результати цих досліджень є досить суперечливими та не дають можливості зробити конкретний висновок.

Надмірне відкладення жирової тканини чинить негативну дію на функціонування всіх систем організму, підвищуючи ризики розвитку патологій серцево-судинної системи, цукрового діабету, раку, а також репродуктивних порушень. Однак взаємозв'язок між ожирінням та фертильною функцією чоловіків досі є недостатньо вивченим. На сьогодні вчені виділяють наступні механізми несприятливого впливу надмірної маси тіла на параметри плідності: гормональний, температурний, епігенетичний та інші. Раніше було виявлено, що при ожирінні збільшується кількість макрофагів жирової тканини, які стають основним джерелом прозапальних цитокінів, провокуючи запалення низького ступеня. Була запропонована

теорія, що саме прозапальний стан, і, як результат, розвиток оксидативного стресу може забезпечити пояснення прямого впливу ожиріння на нормальний сперматогенез та якість еякуляту. Проте лише незначна кількість досліджень присвячена оцінці запалення статевих тракту у пацієнтів із підвищеним індексом маси тіла (ІМТ), у тому числі в Україні, на жаль, це питання ще недостатньо вивчається. Отже, суперечливість та фрагментарність результатів досліджень щодо взаємозв'язку надмірної акумуляції жирової тканини в організмі із фертильністю чоловіків, а також недостатнє вивчення проблеми в Україні ще раз визначає необхідність додаткових досліджень у цій галузі для удосконалення діагностичних підходів та методів корекції порушень фертильного статусу пацієнтів.

**Зв'язок роботи з плановими науковими дослідженнями та науковими програмами.** Дисертаційна робота є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України на тему “Дослідження ролі системних та паракринних регуляторних механізмів у забезпеченні гомеостазування функціонально-метаболических параметрів організму за умов адаптації до дії екстремальних чинників різної природи” (№ державної реєстрації 0116 U004510). Автор є співвиконавцем вище згаданої теми. Матеріали виконаної дисертаційної роботи щодо обстеження, проведення лабораторних досліджень відповідають вимогам норм біоетики (протокол №9, від 21 грудня 2018 року, протокол № 8, від 26 вересня 2022 року).

**Наукова новизна.** Уперше проведено комплексне системне дослідження в чоловіків репродуктивного віку показників спермограми, композиційного складу спермоплазми на предмет вмісту маркерів додаткових статевих залоз, лептину, неорганічних іонів, прозапальних цитокінів на тлі надмірної маси тіла та ожиріння. Підтверджено та доповнено наявні наукові дані стосовно несприятливого впливу зростання ІМТ на якість еякуляту та маркери придаткових статевих залоз у спермоплазмі; визначено, що із прогресивним відкладенням жирової тканини в організмі чоловіків зміни мають більш виражений характер. **Уперше** продемонстровано, що при надмірній масі тіла / ожирінні були відсутні ознаки прозапального стану в еякуляті чоловіків; показано, що при ожирінні зміни композиційного вмісту іонів у системі «середовище-клітина» є більш вираженими та можуть свідчити про порушення гомеостазу еякуляту на тлі надмірного відкладення жирової тканини в організмі.

На основі вивчення вмісту лептину в еякуляті чоловіків із різним ІМТ та виявленої негативної кореляції його з показниками якості еякуляту, запропоновано розглядати вивчення лептину спермоплазми як один з маркерів впливу ожиріння на функціональний стан сперматозоїдів. Продемонстровано, що при короткотривалому утриманні (впродовж семи тижнів) лабораторних тварин на висококалорійних дієтах основні морфометричні показники не змінювалися, однак дієта із високим вмістом жиру та цукру спричинила ознаки вісцерального ожиріння – значне зростання відносної частки жирової тканини у тілі. Підтверджено, що харчування висококалорійними раціонами викликає

ознаки дисліпідемії та гіперлептинемії. Показано, що на тлі харчування висококалорійними дієтами у щурів спостерігалось зниження рухливості сперматозоїдів і цей показник прогресивно погіршувався зі зростанням коефіцієнта вісцерального жиру. Вперше вивчено ефективність мітохондріального дихання статевих клітин щурів після утримання на висококалорійних раціонах. Показано, що дієт-індуковане вісцеральне ожиріння викликає з одного боку підвищення функціональної активності мітохондрії сперматозоїдів, а з іншого – вичерпування здатності ефективно адаптуватись до змін енергетичних потреб за умов впливу негативних чинників, що, у результаті, може позначатися на якості сперми.

**Практичне значення.** Отримані у цій роботі результати розширюють розуміння патофізіологічних та біохімічних механізмів, які лежать в основі взаємозв'язку між ожирінням та фертильністю чоловіків репродуктивного віку, що надалі може значно доповнити як діагностичні підходи, так і тактику ведення пацієнтів із безпліддям. Матеріали дисертаційної роботи впроваджені та використовуються у навчальному процесі на кафедрі клінічної лабораторної діагностики ФПДО, кафедрі медичної біології, паразитології та генетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України.

**Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій сформульованих у дисертації.**

Завдання дослідження повністю відповідають поставленій меті. Побудова та організація роботи логічні та послідовні. Матеріалом для дослідження були зразки еякуляту чоловіків, які отримували у Медичному центрі «Інтерсоно» Medicover Group (згідно з Договором №29/10 про співпрацю від 29.10.2018р. між Львівським національним медичним університетом імені Данила Галицького та вище згаданим закладом). Також матеріалом для дослідження були зразки епідидимальної сперми та плазми крові 30 лабораторних щурів на базі Міжуніверситетського центру колективного користування клітинної біології та біоенергетики Львівського національного університету імені Івана Франка.

У дослідженнях застосовані сучасні об'єктивні методики, які відповідають поставленим завданням. Їх вибір є достатнім та інформативним для вирішення поставлених завдань. У відповідному розділі чітко та структуровано описано усі методи дослідження. Об'єм проведених досліджень дозволив автору різносторонньо та достовірно дослідити проблему та в повній мірі обґрунтувати шлях її вирішення.

Структура проведеної роботи є адекватною вирішенню завдань дослідження. Статистичну обробку результатів проведено в повному обсязі, з урахуванням усіх особливостей даних, їх вірогідність не викликає сумнівів.

Висновки сформульовані в повній мірі, вони є лаконічними та обґрунтованими.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація Козопас Н.М. побудована традиційно, згідно вимог до дисертацій на отримання ступеня доктора філософії і викладена українською мовою на 176 сторінках друкованого

тексту, з яких 117 основного тексту. Робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, узагальнення та аналізу отриманих результатів, висновків, 234 джерел літератури, з них 19 кирилицею та 215 латиницею, додатків. Текст ілюстрований 15 таблицями та 20 рисунками.

Текст дисертації, як за змістом, так і редакційно, викладено та оформлено дисертантом якісно. Викладення основних положень за стилем та термінологією заслуговує позитивної оцінки.

**Характеристика розділів роботи.** У вступі автор обґрунтовує актуальність обраної теми, розкриває зв'язок з науковою програмою, формулює мету та задачі дослідження, наукову новизну та практичне значення роботи, особистий внесок здобувача, апробацію дисертації, наводить кількість публікацій за темою дисертаційної роботи. Дисертантка досить повно відобразила сутність і стан наукової проблеми та її значущість, підстави та вихідні дані для розроблення теми, обґрунтувала необхідність проведення дослідження за темою дисертаційної роботи.

У **1-му розділі** авторка інформативно розкриває тему ожиріння та надмірної маси тіла як чинників, що пливають на репродуктивну функцію чоловіків. Особливості змін спермограми на тлі ожиріння та зростання індексу маси тіла в чоловіків. Теорії щодо механізму впливу ожиріння на чоловічу фертильність. Застосування тваринних моделей для оцінки фертильного статусу самців при ожирінні та супутніх метаболічних змінах.

У **2-му розділі** автор структурує та детально описує усі матеріали та методи, використані у даному дослідженні. Детально та інформативно описано усі етапи дослідження, їх дизайн та методи. Методики проведених досліджень є сучасними та повністю відповідають реалізації поставлених завдань, вони покроково описані в повному обсязі. Статистична обробка проведена з урахуванням особливостей отриманих результатів.

У **розділі 3** опубліковано дані, що стосуються особливостей основних показників спермограми (зміни концентрації та загальної кількості рухливих сперматозоїдів у дослідних групах, а також індекси множинних дефектів) та біохімічних показників еякуляту пацієнтів з надмірною масою тіла та ожирінням (вміст фруктози у спермальній плазмі, концентрації цинку, вміст лимонної кислоти). Розділ інформативно ілюстрований значною кількістю таблиць та графіків.

**Розділ 4** присвячений визначенню біохімічних показників спермальної плазми у чоловіків з надмірною масою тіла та ожирінням. Автором проведено дослідження цитокінового профілю еякуляту в чоловіків із надмірною масою тіла та ожирінням, визначення вмісту лептину спермальної плазми чоловіків при зростанні індексу маси тіла та визначення концентрації неорганічних іонів  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  у сперматозоїдах та спермальній плазмі чоловіків при надмірній масі тіла та ожирінні.

У **розділі 5** представлені результати експериментального етапу дисертаційної роботи з дослідження перебігу метаболічних процесів при короткотривалому харчуванні щурів висококалорійними дієтами.

Продемонстровано зміни морфометричних показників та спермограми щурів за умов утримання на висококалорійних дієтах. Проведено біохімічні дослідження показників плазми крові щурів за умов утримання на висококалорійних дієтах. Проведені дослідження ліпідного профілю, глюкози, лептину плазми крові щурів за умов утримання на висококалорійних дієтах. Вивчені особливості мітохондріального дихання, відзначалася тенденція до зниження резервної дихальної здатності мітохондрії у групах, що перебували на дієтах.

**У розділі 6 «Аналіз та узагальнення результатів досліджень»** авторка чітко узагальнює отримані результати, порівнюючи свої дані з літературними, що свідчить про її вміння фахово аналізувати та обґрунтовувати результати наукових досліджень.

Висновки логічні та відображають отримані результати, відповідають меті та завданням дослідження та свідчать про завершеність роботи.

Список літератури складено грамотно, згідно вимог бібліографічного опису.

**Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях.** За темою дисертації опубліковано 16 наукових праць, з них – 2 статті у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України та 2 – в іноземних періодичних виданнях, які включені до міжнародних наукометричних баз (Scopus / Web of science), 12 – у збірниках матеріалів наукових конференції. Сукупність усіх публікацій у повній мірі відображає викладені в дисертації результати дослідження. Зміст дисертації є ідентичним до основних положень дисертації.

Основні положення дисертаційної роботи оприлюднено на XXIII Міжнародному медичному конгресі молодих вчених (Тернопіль, 2019), 23 rd IFCC-EFLM European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (Barcelona, 2019), 14th Bialystok International Medical Congress for Young Scientists (Bialystok, 2019), LXIII науковопрактичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (Тернопіль, 2020), науково-практичній конференції з міжнародною участю «YOUNG SCIENCE 2.0» у Національній медичній академії післядипломної 30 освіти імені П. П. Шупика (Київ, 2020), 7th Lublin International Medical Congress (Lublin, 2020), Всеукраїнській міждисциплінарній науковопрактичній конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» (Полтава, 2021), 82-ї науковій конференції для студентів-медиків та молодих вчених - LYSICon 82 (Львів, 2021 р.), XV всеукраїнській науковопрактичній конференції молодих вчених «Актуальні питання клінічної медицини» (Запоріжжя, 2021), EFLM European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, (Munich, 2021), IX науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2022).

### **Матеріали для наукової дискусії. Питання, пропозиції та зауваження.**

1. Рекомендовано об'єднати розділи 4 і 5 в один, оскільки в обох ідеться мова про біохімічні дослідження.
2. При визначенні показників базальної, максимальної FCCP-стимульованої швидкості споживання кисню та резервної дихальної здатності мітохондрії за умов окиснення різних субстратів: глюкоза+піруват та глюкоза+піруват+лактат (розділ 5.3) рекомендовано було б навести табличний цифровий матеріал для кращого сприйняття, щоб можливо було проаналізувати вірогідність отриманих результатів, а не лише рисунки;
3. Доцільно було б також оновити розділ «Огляд літератури».

Однак вказані критичні міркування не зменшують науково-теоретичного практичного значення дисертації Козопас Н.М. та цінність отриманих результатів.

Варто відзначити, як вагомий позитивний момент, значну кількість та інформативність досліджуваних показників.

Також важливим позитивним фактором є те, що автором, як підсумок запропоновано узагальнюючу схему впливу ожиріння на фертильний потенціал чоловіків.

### **При рецензуванні дисертації виникли наступні запитання дискусійного характеру:**

1. Де вирощували і вигодовували піддослідних щурів? В дисертації написано звичний раціон харчування щурів групи контролю, які саме продукти він включав? Чому Ви обрали саме такий термін (7 тиж.) утримання лабораторних тварин на дієтичних раціонах?
2. Яким чином Ви здійснювали виділення суспензії сперматозоїдів щурів? Чим керувалися при виборі інкубіційних середовищ для обробки статевих клітин, а також субстратів при оцінці мітохондріального дихання?

**Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам.**

На підставі вище викладеного можна дійти висновку, що дисертаційна робота КОЗОПАС Наталії Михайлівни «МАРКЕРИ ФЕРТИЛЬНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ЧОЛОВІКІВ НА ТЛІ НАДМІРНОЇ МАСИ ТІЛА ТА ОЖИРІННЯ» є самостійним, завершеним науковим дослідженням, в якому сформульовано і обгрунтовано наукові положення, сукупність яких можна кваліфікувати як нове вирішення актуального наукового напрямку медицини та біохімії. За актуальністю, об'ємом, використання методів досліджень, новизною отриманих даних і їх практичним значенням подана дисертація відповідає вимогам Наказу МОН України №40 від 12.01.2017 «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» та «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» (Постанова Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. №44), а її авторка заслуговує присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

**Рецензент:**

доцент кафедри медичної біології,  
паразитології та генетики  
Львівського національного  
медичного університету  
імені Данила Галицького, к. мед. н.



*at-*

Онуфрович О.К.

ЗАСВІДЧУЮ  
ВЧЕНИЙ СЕКРЕТАР  
Львівського національного  
медичного університету  
імені Данила Галицького

*[Signature]*