



Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059



Европейски социален фонд

ФУНДАМЕНТАЛНО И ПРИЛОЖНО ОБУЧЕНИЕ НА ДОКТОРАНТИ, ПОСТДОКТОРАНТИ, СПЕЦИАЛИЗАНТИ И МЛАДИ УЧЕНИ В ИНТЕРДИСЦИПЛИНАРНИ БИОЛОГИЧНИ НАПРАВЛЕНИЯ И ИНОВАЦИОННИ БИОТЕХНОЛОГИИ

Проектът се осъществява с финансовата подкрепа на Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси” 2007-2013, съфинансирана от Европейския съюз чрез “Европейския социален фонд”



Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ”
BG051PO001-3.3.06 -0059



“Идентификация на сперматозоидспецифични биомаркери, свързани с фертилитета и качеството на спермата и тяхната връзка с фактори на околната среда”

Д-р Стефан Александров Околийски
Редовен докторант, ИБИР

Научен ръководител: Доц. д-р Бойко Георгиев

Инвестира във вашето бъдеще



Европейски съюз



Въведение:

- Фертилитетът при различните индивиди варира в значителна степен, независимо, че при изследването на обичайните показатели на семенната течност, фокусирани върху функционалната компетентност на сперматозоидите, данните са в обичайни граници. Оплодителна способност между различните разплодници или между отделните еякулати не може да бъде установена с конвенционалните методи – виталитет и морфология;
- В този смисъл търсенето на специфични биомаркери, които да показват по недвусмислен начин оплодителната способност на даден разплодник или наличието на някаква патология е от първостепенно значение, както за практиката на изкуственото осеменяване, така и за асистираната репродукция и съхранение на семенна течност;
- Установяването на специфични биомаркери би разкрило молекулярната база на редица дефекти, водещи до увреждане на сперматозоидната функция;



Европейски съюз



Въведение:

- Изследвания показват взаимовръзката между фертилитета на мъжките разплодници и експресията на редица протеини и активността на ензими, характерни за сперматозоидите;
- Независимо от значителния брой публикации има редица въпроси, както относно точната роля на тези протеини и ензими, така и относно влиянието върху тях на редица фактори на околната среда;
- Формирането и жизнените функции на организмите се влияят от различни фактори на околната среда – климат, храна, различни видове лъчения, замърсяване на околната среда и др.;
- Голямо значение, от научна и практическа гледна точка, представлява влиянието на околната среда върху репродуктивните показатели (сперматогенезата, фоликулогенезата, оогенезата и предимплантационното развитие на ембрионите);



Европейски съюз



Въведение:

- В литературата има данни за ролята на определени ензими и протеини (кисела- и алкална фосфатаза; 5'нуклеотидаза; малатдехидрогеназа; изоцитратдехидрогеназа; лактатдехидрогеназа; диафориози; акрозин; хиалуронидаза; глутатион система; глюкозо-6-фосфатдехидрогеназа и др.) във функцията на сперматозоидите и като цяло в оплодителния процес;

(Meseguer Marcos, 2006; V. Kumar; N. Rangaraj; S. Shivaji, 2006)

- Напоследък все по-голямо значение придобиват изследванията върху сперматозоидната митохондриална активност, като обективен метод за оценка качеството на семенната течност и с доказана ключова роля в подвижността и енергийния метаболизъм на тези клетки;

(T. Hallap, 2005; Aj. Koppers, 2008; P. May-Panloup, 2000; T. Suzuki, 2004)



Европейски съюз



Цел:

- Откриване на нови протеини или ензими, които биха могли да служат като биомаркери относно качеството на семенната течност, както и на такива, срещащи се само при разплодници (нерези, кочове и бици) с ниска оплодителна способност и служещи като индикатор за определена патология или променящи се след въздействие на неблагоприятни фактори от околната среда;
- Изясняване ролята на ензими и протеини от групата на кисела- и алкална фосфатаза; малатдехидрогеназа; изоцитратдехидрогеназа; лактатдехидрогеназа; глутатион система; глюкозо-6-фосфатдехидрогеназа и др., във функцията на сперматозоидите и като цяло в оплодителния процес;
- Приложение на сперматозоидната митохондриална активност, като обективен метод за оценка качеството на семенната течност и проследяване на свързаността в подвижността и енергийния метаболизъм на тези клетки;

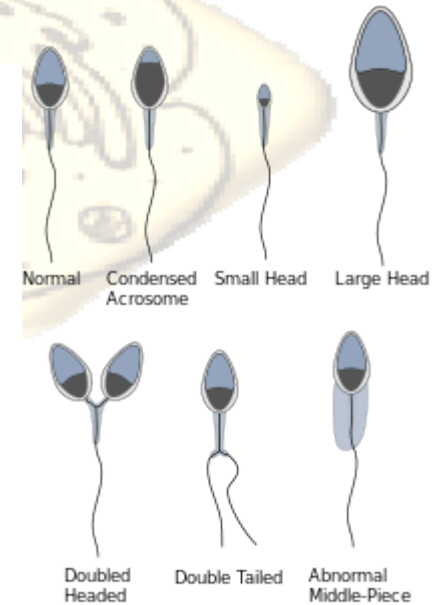
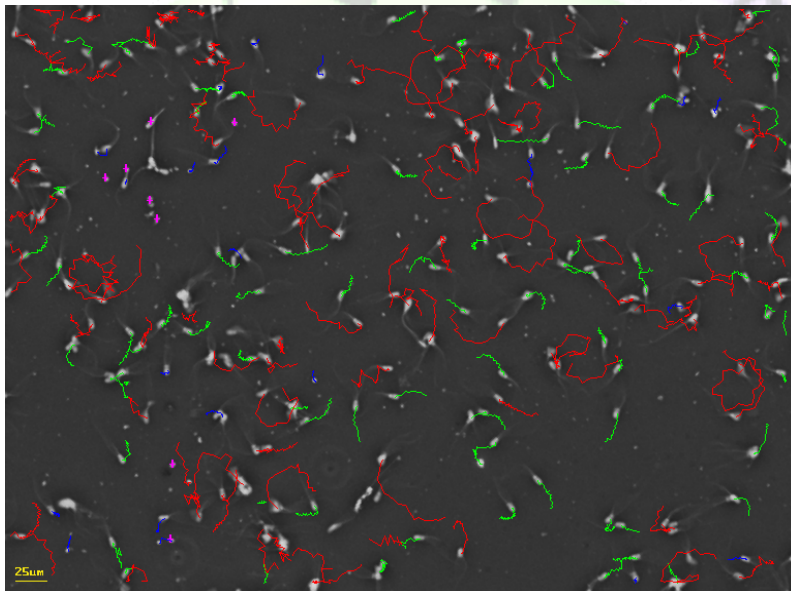


Европейски съюз



Методология:

- Анализ на проби от семенна течност чрез компютърен спермоанализатор (Sperm Class Analyzer Microptic Systems, Nikon Eclipse E200) – характеристика на процент подвижни и статични сперматозоиди, концентрация и скорост на придвижване;
- Морфологична характеристика на изследваните проби семенна течност;



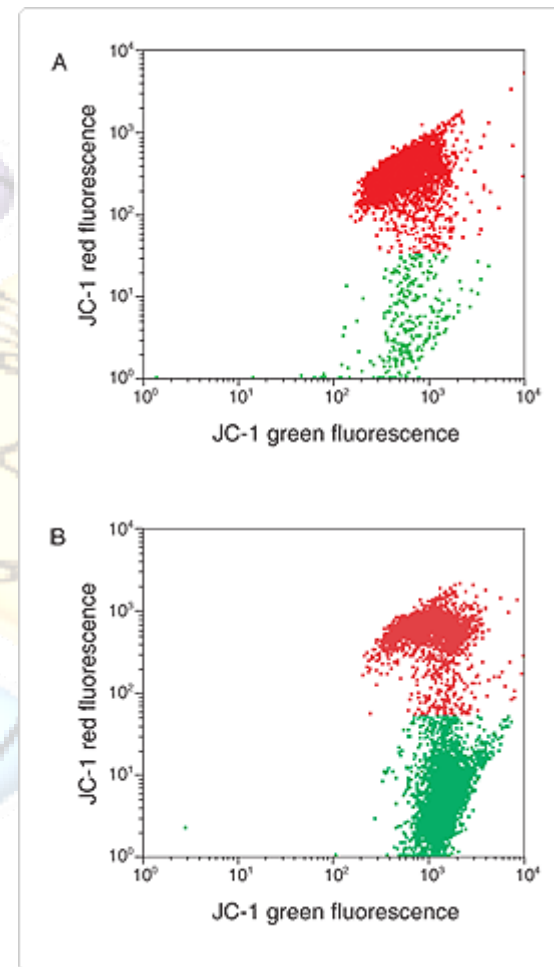
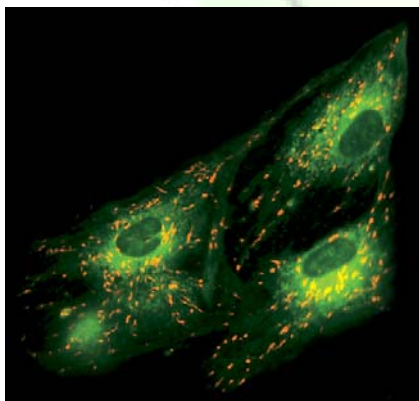


Европейски съюз



Методология:

- Флуоцитометричен анализ на пробите семенна течност за установяване на мембранен и акрозомен интегритет, митохондриална активност и митохондриален мембранен потенциал на сперматозоидите;
- Изследване на нивото на токсичните кислородни радикали в пробите с нормални и влошени параметри;
- Изследване активността на ключови сперматозоид-специфични ензими;



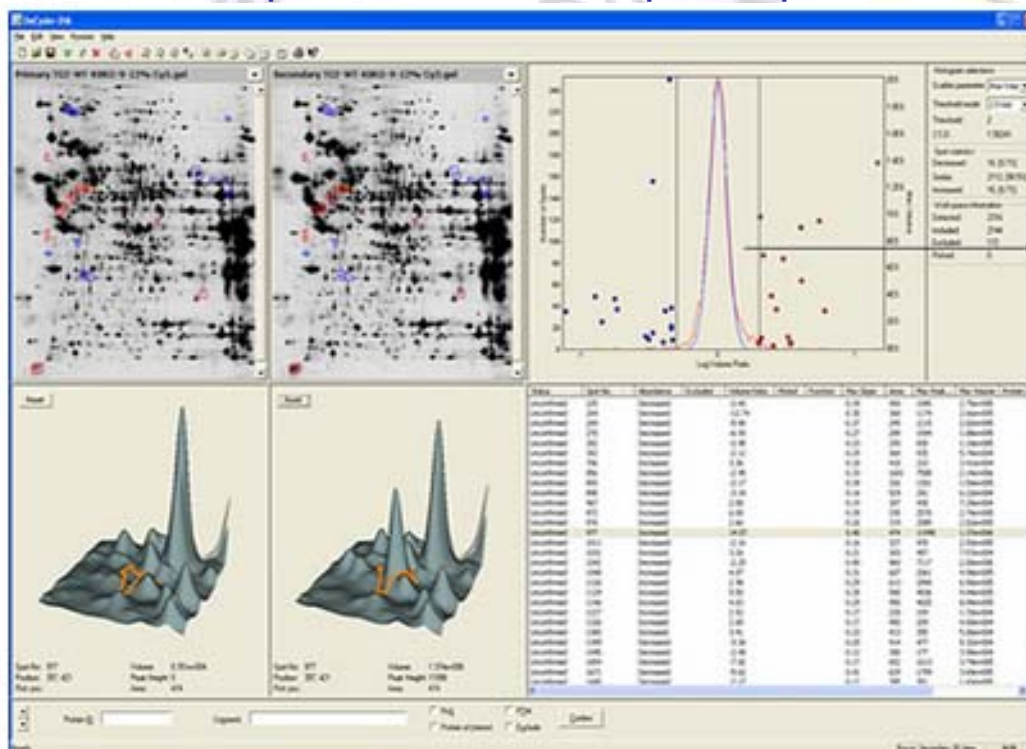


Европейски съюз



Методология:

- Разделяне на протеините в проби от семенна течност с нормални и влошени сперматологични показатели чрез дву-дименсионална гел-електрофореза (2D-PAGE) и сребърно оцветяване;
- Протеомен анализ на проби семенна течност от разплодници с нормални и влошени сперматологични параметри





Европейски съюз

Необходими консумативи и химикали:



Европейски социален
фонд

- Protein test mixture for pI-determination, pH 3-10, Cat.No. 39211.01-x2
- Protein test mixture 6 for SDS PAGE, Cat.No. 39207.01-x2
- SERVA Proteome Markers, Cat.No. 39220.01
- 42940.02 SERVALYT(TM) 3-10, (25 ml) x1
- 43031.00 SERVA IPG BlueStrip 3-10 / 11 cm (12 бр/оп.) x 3
- 20710.02 Dithiothreitol (1g оп.) x 1
- 17038.00 Cholamidopropyl)dimethylammonio] x1-propanesulfonate (1g оп.)
- 42940.00 Urea (1 кг) x1
- Serva silver staining kit-x2
- Acrylamide
- АЛФТ
- ЛДХТ
- ГГТТ
- СКТ
- Mito-Tracker Deep Red FM
- Fixable Viability Dye eFluor® 660
- JC-1





Европейски съюз



Заклучение:

Търсенето на ефективни прогностични маркери на сперматозоидния фертилитет и намирането на подходящите молекули ще бъде от голяма полза за индустрията, занимаваща се със семенна течност и разработването на нови терапии за борба с инфертилитета при хората и животните. Освен това ще позволи по-добро разбиране на страничните ефекти на технологията (Замразяване/размразяване или определящи пола процедури) върху интегритета и функционалността на сперматозоидите, както и да се определят причините за нежелани реакции при съхранение на семенната течност на екзотични или застрашени видове.





Европейски съюз



Благодаря Ви за вниманието!

