ХАРАКТЕРИСТИКА ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ МУЖСКОЙ ИНФЕРТИЛЬНОСТИ ПО УРОВНЮ АКТИВНОСТИ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ СПЕРМОПЛАЗМЫ

Герловский Д.О., Литвинко Н.М., Павлюченко Н.И.

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Мужское бесплодие является распространённой проблемой во всем мире. Для проведения ранней диагностики необходим поиск соответствующих молекул-маркеров, присутствие которых свидетельствовало бы о начале патологического процесса [1]. После сложного процесса дифференцировки мужских половых клеток сперматозоиды для выполнения своей физиологической функции должны обладать не только свойством высокой степени подвижности, но и способностью преодолевать при оплодотворении яйцеклетки клеточный барьер, состоящий из белков и фосфолипидов. В связи с этим изучение в семенной жидкости человека общей протеазной и фосфолипазной (КФ 3.1.1.4, ФЛА₂) активности (или специфичности), которые являются целью данного исследования, приобретают особую актуальность. Ранее нами с помощью диффузии ФЛА₂ в субстрат-содержащий гель [2, 3] и при взаимодействии жирной кислоты, как продукта действия ФЛА₂, с гемоглобином [3] установлено, что существует корреляция между уровнем ФЛА₂ в спермоплазме пациентов и диагнозом бесплодие. Концентрация белка в условиях эксперимента *in vitro* для пациента с диагнозом бесплодие и для здорового донора не отличалась и составила 8,8 мг/мл спермоплазмы.

Определение общей активности ФЛА₂ спермоплазмы проводили с использованием тонкослойной хроматографии (ТСХ), которая показала наличие пятен гидролизованного субстрата, что может свидетельствовать о достаточной чувствительности метода для анализа активности данного фермента. Скорость гидролиза субстрата под действием ФЛА₂ спермоплазмы больного и здорового донора составила 0,0195 мкмоль/мин·мл и 0,0026 мкмоль/мин·мл или на мг белка – 0,022 МЕ/мг и 0,003 МЕ/мг соответственно. Обнаружено, что ФЛА₂ семенной жидкости проявляет большую специфичность к фосфатидилхолину (ФХ) в сравнении с ФЭА. Показано *in vitro*, что скорость протеолитического гидролиза субстрата, под действием спермоплазмы больного с диагнозом бесплодие была вдвое выше здорового донора: 0,12 мкмоль/мл·мин и 0,062 мкмоль/мл·мин соответственно. Конечная общая протеазная активность спермоплазмы на мг белка составила 0,136 МЕ/мг в случае больного и 0,07 МЕ/мг – здорового доноров, что свидетельствует об увеличении активности обоих ферментов при развитии заболевания. Полученные результаты обсуждаются в свете того, что для количественного анализа активности ФЛА₂ спермоплазмы возможно использование метода ТСХ с предпочтительным использованием ФХ в качестве субстрата реакции при оценке потенциальной мужской фертильности.

Библиографические ссылки

1. Камышников В.С. Клиническая лабораторная диагностика (методы и трактовка лабораторных исследований) / В. С. Камышников [и др.]; под общ. ред. В.С. Камышникова. М.:МЕВ пресс-информ., 2015. – 720 с.
2. Папино Д.С. [и др.]; Использование метода определения лецитиназной активности при диффузии фермента в желточно-солевой агар для диагностики заболеваний репродуктивной системы/Материалы Международной научно-практической конференции «Биотехнологии микроорганизмов», г. Минск, 27-29 ноября 2019 г., С.379 – 381.
3. Литвинко, Н.М. [и др.]; Прогнозная оценка потенциальной мужской фертильности по определению активности фосфолипазы А₂. Лабораторная диагностика. Восточная Европа.– 2021.– Т.10, №2, С.119-129.