

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии**

Ванслава
Полина Дмитриевна

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ В
ДИАГНОСТИКЕ МУЖСКОГО БЕСПЛОДИЯ**

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат химических наук, доцент
Герловский Д. О.

Минск, 2022

АННОТАЦИЯ

Объект исследования: спермоплазма с гидролитическими ферментами.

Цель: изучение качественных и количественных показателей активности секреторной фосфолипазы A2 и протеазы в спермоплазме, установление корреляции между бесплодием и активностью данных ферментов.

В ходе выполнения работы показана возможность качественного определения ФЛА2 методом диффузии фермента в желточном агарозном геле. Наибольшие зоны просветления наблюдались у образцов №1, 3, 6, 10 и 16 (диаметр 9-10 мм). Меньшие зоны просветления наблюдались у образцов №2, 37 и 58 (диаметр 5-7 мм). Зона просветления отсутствовала у образцов №7, 29, 33 и 34 (0 мм). Показана корреляция между активностью фермента ФЛА2 и мужским бесплодием. Образцы бесплодных доноров показали зоны просветления 5-10 мм, тогда как в образцах здоровых доноров таких зон не наблюдалось.

Был выделен субстрат (фосфатидилхолин) из яичного желтка концентрацией 24,6 мкМ/мл.

Показана субстратная специфичность ФЛА2 спермоплазмы. Установлено, что предпочтительным субстратом является фосфатидилхолин.

Показана возможность количественного определения ФЛА2 в спермоплазме мужчины с нарушением фертильности. Активность фосфолипазы A2 в спермоплазме бесплодных мужчин выше, чем у здорового донора.

Показано наличие протеазной активности в спермоплазме. В образце спермоплазмы бесплодного донора активность фермента протеазы выше, чем в образце здорового. После определения удельной активности протеазы установлено, что у образца бесплодного донора удельная активность фермента составляет $1,5 \cdot 10^{-3}$ М.Е. Удельная активность протеазы в спермоплазме здорового – $9,07 \cdot 10^{-5}$ М.Е.

После определения общего количества белка было установлено, что его количество у бесплодного и здорового доноров одинаковы (584 мг/мл).

Качественно показана антимикробная активность спермоплазмы на микроорганизмах *St. aureus*, *E.coli* и *C. utilis*. Установили, что диаметр зон задержки роста у *St. aureus* составляет 180 мм, у *E.coli* – 40 мм, а у *C. utilis* – 80 мм. Количественно показано, что наиболее подвержены влиянию спермоплазмы *St. aureus* и *C. utilis* (количество погибших клеток после инкубации на 6 ч составило 90,1% и 73,2% соответственно).

**MINISTRY OF EDUCATION REPUBLIC OF BELARUS
BELARUSIAN STATE UNIVERSITY
BIOLOGICAL FACULTY
Microbiology department**

**P. D.
VANSLAVA**

**THE USE OF HYDROLYTIC ENZYMES IN THE DIAGNOSIS OF
MALE INFERTILITY**

Scientific supervisor:
Candidate of Chemical Sciences,
Associate Professor
Gerlovsky D. O.

Minsk, 2022

ANNOTATION

Object of research: spermoplasm with hydrolytic enzymes.

Objective: to study qualitative and quantitative indicators of the activity of secretory phospholipase A2 and protease in spermoplasm, to establish a correlation between infertility and the activity of these enzymes.

In the course of the work, the possibility of qualitative determination of FLA2 by the method of enzyme diffusion in yolk agarose gel was shown. The largest zones of illumination were observed in samples No. 1, 3, 6, 10 and 16 (diameter 9-10 mm). Smaller zones of illumination were observed in samples No. 2, 37 and 58 (diameter 5-7 mm). The illumination zone was absent in samples No. 7, 29, 33 and 34 (0 mm). The correlation between the activity of the enzyme FLA2 and male infertility is shown. The samples of infertile donors showed zones of enlightenment of 5-10 mm, whereas in the samples of healthy donors such zones were not observed.

A substrate (phosphatidylcholine) was isolated from egg yolk with a concentration of 24.6 microns/ml.

The substrate specificity of spermoplasm FLA2 is shown. It was found that the preferred substrate is fofsfatidylcholine.

The possibility of quantitative determination of FLA2 in the spermoplasm of a man with a fertility disorder is shown. The activity of phospholipase A2 in the sperm of infertile men is higher than that of a healthy donor.

The presence of protease activity in the spermoplasm is shown. In the sperm sample of an infertile donor, the activity of the protease enzyme is higher than in a healthy sample. After determining the specific activity of the protease, it was found that in a sample of an infertile donor, the specific activity of the enzyme is $1.5 \cdot 10^{-3}$ I.U. The specific activity of the protease in the spermoplasm of a healthy one is $9.07 \cdot 10^{-5}$ I.U.

. After determining the total amount of protein, it was found that its amount in infertile and healthy donors is the same (584 mg /ml).

Antimicrobial activity of spermoplasm on microorganisms of *St. aureus*, *E.coli* and *C. utilis* is qualitatively shown. It was found that the diameter of growth retardation zones in *St. aureus* is 180 mm, in *E.coli* – 40 mm, and in *C. utilis* – 80 mm. It has been quantitatively shown that *St. aureus* and *C. utilis* are most affected by spermoplasm (the number of dead cells after incubation for 6 hours was 90.1% and 73.2%, respectively).

**МІНІСТЭРСТВА АДУКАЦЫІ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ
БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ ЎНІВЕРСІТЭТ
БІЯЛАГІЧНЫ ФАКУЛЬТЭТ
Кафедра мікрабіялогіі**

Ванслава
Паліна Дзмітрыеўна

**ВЫКАРЫСТАННЕ ГІДРАЛІТЫЧНАЙ ФЕРМЕНТАЎ У
ДЫЯГНОСТЫЦЫ МУЖЧЫНСКАГА БЯСПЛОДЗЯ**

Анатацыя да дыпломнай працы

Навуковы кіраўнік:
кандыдат хімічных навук,
дацэнт
Герлоўскі Д. О.

Мінск, 2022

АНАТАЦЫЯ

Аб'ект даследавання: спермоплазма з гідралітычнай ферментамі.

Мэта: вывучэнне якасных і колькасных паказчыкаў актыўнасці сакраторнай фосфолипазы А2 і протеазы ў спермоплазме, усталяванне карэляцыі паміж бясплоддзем і актыўнасцю дадзеных ферментаў.

У ходзе выканання работы паказана магчымасць якаснага вызначэння ФЛА2 метадам дыфузіі фермента ў желточном агарозном гелі. Найбольшыя зоны прасвятлення назіраліся ў ўзораў №1, 3, 6, 10 і 16 (дыяметр 9-10 мм). Меншыя зоны прасвятлення назіраліся ва ўзораў у №2, 37 і 58 (дыяметр 5-7 мм). Зона прасвятлення адсутнічала ва ўзораў №7, 29, 33 і 34 (0 мм). Паказаная карэляцыя паміж актыўнасцю фермента ФЛА2 і мужчынскім бясплоддзем. Узоры бясплётных донараў паказалі зоны прасвятлення 5-10 мм, тады як ва ўзорах здаровых донараў такіх зон не назіралася.

Быў выдзелены субстрат (фосфатидилхолин) з ячнага жаўтка канцэнтрацыяй 24,6 мкМ / мл.

Паказана субстратная спецыфічнасць ФЛА2 спермоплазмы. Устаноўлена, што пераважным субстратам з'яўляецца фосфатидилхолин.

Паказана магчымасць колькаснага вызначэння ФЛА2 ў спермоплазме мужчыны з парушэннем фертыльнасці. Актыўнасць фосфолипазы А2 у спермоплазме бясплётных мужчын вышэй, чым у здаровага донара.

Паказана наяўнасць протеазной актыўнасці ў спермоплазме. Ва ўзоры спермоплазмы бясплоднага донара актыўнасць фермента протеазы вышэй, чым ва ўзоры здаровага. Пасля вызначэння ўдзельнай актыўнасці протеазы ўстаноўлена, што ў ўзору бясплоднага донара удзельная актыўнасць фермента складае $1,5 \cdot 10^{-3}$ М. А. Удзельная актыўнасць протеазы ў спермоплазме здаровага- $9,07 \cdot 10^{-5}$ М. А.

Пасля вызначэння агульнай колькасці бялку было ўстаноўлена, што яго колькасць у бясплоднага і здаровага донараў аднолькавая (584 мг/мл).

Якасна паказана антымікробная актыўнасць спермоплазмы на мікраарганізмы *St. aureus*, *E. coli* і *C. utilis*. Ўсталявалі, што дыяметр зон затрымкі росту ў *St. aureus* складае 180 мм, у *E. coli*-40 мм, а ў *C. utilis*-80 мм. Колькасна паказана, што найбольш схільныя ўплыву спермоплазмы *St. aureus* і *C. utilis* (колькасць загінулых клетак пасля інкубацыі на 6 ч склала 90,1% і 73,2% адпаведна).