

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии

ГРИНЕВИЧ
Марина Эдуардовна

**АКТИВНОСТЬ СЕКРЕТОРНЫХ ФОСФОЛИПАЗ СЕМЕННОЙ ЖИД-
КОСТИ**

Аннотация к дипломной работе

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

Минск, 2022

АННОТАЦИЯ

Дипломная работа 69 страницы, 17 рисунков, 13 таблиц, 21 источников.

Ключевые слова: МУЖСКОЕ БЕСПЛОДИЕ, ФЕРТИЛЬНОСТЬ, ФОСФОЛИПАЗА A_2 .

Объекты исследования: образцы семенной жидкости фертильных и бесплодных мужчин.

Цель: определение активности секреторной фосфолипазы A_2 в семенной жидкости фертильных и бесплодных мужчин.

Методы исследования: микробиологические, биохимические.

В ходе данной работы определили активность фосфолипазы A_2 в спермоплазме бесплодных и здоровых доноров методом диффузии фермента в желточно агарозном геле. Зоны просветления около лунок со спермоплазмой нефертильных доноров на первой чашке Петри в среднем больше на 17 мм, чем зона около лунки со спермоплазмой здорового донора. Зоны просветления около лунок со спермоплазмой нефертильных доноров на второй чашке Петри в среднем больше на 15 мм, чем зона около лунки со спермоплазмой здорового донора.

Выделили субстраты для фосфолипазы A_2 (фосфатидилхолин и фосфатидилэтаноламин) из яичного желтка и определили их концентрацию в растворе, которая составила 0,1 мкмоль/мл для фосфатидилхолина и 4,8 мкмоль/мл для фосфатидилэтаноламина. Используя выделенные субстраты для ФЛА2, поставили реакцию со спермоплазмой нефертильного и здорового донора.

Рассчитали скорость реакции, катализируемой фосфолипазой A_2 : средняя скорость гидролиза фосфатидилхолина ФЛА2 семенной жидкости бесплодного мужчины составила 0,00623 мкмоль/мл*ч. Средняя скорость гидролиза фосфатидилэтаноламина фосфолипазой A_2 семенной жидкости бесплодного мужчины составила 0,001725 мкмоль/мл*ч.

Средняя скорость гидролиза фосфатидилхолина фосфолипазой A_2 семенной жидкости здорового донора составила 0,00304 мкмоль/мл*ч. Средняя скорость гидролиза фосфатидилэтаноламина фосфолипазой A_2 семенной жидкости составила 0,00063 мкмоль/мл*ч.

Таким образом определили, что активность фосфолипазы A_2 в семенной жидкости здорового мужчины ниже, чем в спермоплазме нефертильного донора.

Определили протеолитическую активность спермоплазмы: протеолитическая активность спермоплазмы нефертильного мужчины составила 0,218 мкг тирозина/V пробы (мл)*мин; протеолитическая активность спермоплазмы здорового мужчины составила 0,144 мкг тирозина/V пробы (мл)*мин.

Таким образом определили, что протеолитическая активность семенной жидкости здорового мужчины ниже, чем спермоплазмы нефертильного донора.

Поскольку разница между активностью фосфолипазы A_2 у здорового и больного доноров составляет гораздо большую величину, чем таковая при исследовании протеолитической активности, сделали вывод, что ФЛА2 является более предпочтительным маркером для лабораторной диагностики мужского бесплодия.

Исследовали антимикробную активность фосфолипазы A_2 семенной жидкости, используя в качестве тест-культуры бактерии *Escherichia coli*. Используя полученные данные, посчитали, что в среднем рост бактерий *Escherichia coli* при добавлении 100 мкл семенной плазмы в ночную культуру данных микроорганизмов снижается на 51,5 %.

Заметное уменьшение роста бактерий *Escherichia coli* в экспериментах по исследованию антимикробной активности фосфолипазы A_2 в семенной жидкости нефертильного и здорового донора предположительно связано с тем, что фермент ФЛА2, содержащийся в спермоплазме, оказывает негативное влияние на микроорганизмы. Механизм данного губительного действия фосфолипазы A_2 семенной жидкости на клетки бактерий не выяснен.

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

M. E.
GRINEVICH

ACTIVITY OF SECRETORY PHOSPHOLIPASES OF SEMINAL FLUID

Abstract to the graduate thesis

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

Minsk, 2022

ANNOTATION

Graduation paper 69 pages, 17 figures, 13 tables, 21 sources.

Key words: MALE INFERTILITY, FERTILITY, PHOSPHOLIPASE A₂.

Objects of research: samples of seminal fluid of fertile and infertile men.

Objective: to determine the activity of secretory phospholipase A₂ in the seminal fluid of fertile and infertile men.

Research methods: microbiological, biochemical.

In the course of this work, the activity of phospholipase A₂ in the spermoplasm of infertile and healthy donors was determined by the method of enzyme diffusion in yolk–agarose gel. The illumination zones near the wells with the sperm of non–fertile donors on the first Petri dish are on average 17 mm larger than the zone near the well with the sperm of a healthy donor. The illumination zones near the wells with the sperm of non–fertile donors on the second Petri dish are on average 15 mm larger than the zone near the well with the sperm of a healthy donor.

Substrates for phospholipase A₂ (phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine) were isolated from egg yolk and their concentration in solution was determined, which was 0,1 mmol/ml for phosphatidylcholine and 4,8 mmol/ml for phosphatidylethanolamine. Using the selected substrates for FLA₂, a reaction was set with the sperm of a non-fertile and healthy donor.

The reaction rate catalyzed by phospholipase A₂ was calculated: the average hydrolysis rate of phosphatidylcholine FLA₂ in the seminal fluid of an infertile male was 0,00623 mmol/ml*h. The average rate of hydrolysis of phosphatidylethanolamine by phospholipase A₂ of the seminal fluid of an infertile male was 0,001725 mmol/ml*h.

The average rate of hydrolysis of phosphatidylcholine by phospholipase A₂ of the seminal fluid of a healthy donor was 0,00304 mmol/ml*h. The average rate of hydrolysis of phosphatidylethanolamine by phospholipase A₂ of seminal fluid was 0,00063 mmol/ml*h.

Thus, it was determined that the activity of phospholipase A₂ in the seminal fluid of a healthy man is lower than in the spermoplasm of a non–fertile donor.

The proteolytic activity of the spermoplasm was determined: the proteolytic activity of the spermoplasm of a non–fertile male was 0,218 mcg of tyrosine/V sample (ml)*min; the proteolytic activity of the spermoplasm of a healthy man was 0,144 mcg tyrosine/V sample (ml)*min.

Thus, it was determined that the proteolytic activity of the seminal fluid of a healthy man is lower than the spermoplasm of a non–fertile donor.

Since the difference between the activity of phospholipase A₂ in healthy and sick donors is much greater than that in the study of proteolytic activity, it was concluded that FLA2 is a more preferable marker for laboratory diagnosis of male infertility.

The antimicrobial activity of seminal fluid phospholipase A₂ was studied using *Escherichia coli* bacteria as a test culture. Using the data obtained, it was calculated that, on average, the growth of *Escherichia coli* bacteria decreases by 51.5% when 100 µl of seed plasma is added to the nocturnal culture of these microorganisms.

A noticeable decrease in the growth of *Escherichia coli* bacteria in experiments to study the antimicrobial activity of phospholipase A₂ in the seminal fluid of a non-fertile and healthy donor is presumably due to the fact that the enzyme FLA2 contained in the spermoplasm has a negative effect on microorganisms. The mechanism of this destructive effect of phospholipase A₂ of seminal fluid on bacterial cells has not been clarified.

МІНІСТЭРСТВА АДУКАЦЫІ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ
БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ ЎНІВЕРСІТЭТ
БІЯЛАГІЧНЫ ФАКУЛЬТЭТ
Кафедра мікрабіялогіі

ГРЫНЕВІЧ
Марына Эдуардаўна

**АКТЫЎНАСЦЬ САКРАТОРНЫХ ФОСФОЛИПАЗ НАСЕННАЙ ВАД-
КАСЦІ**

Анатацыя да дыпломнай работы

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

Мінск, 2022

АНАТАЦЫЯ

Дыпломная работа 69 старонкі, 17 малюнкаў, 13 табліц, 21 крыніц.

Ключавыя словы: МУЖЧЫНСКАЕ БЯСПЛОДДЗЕ, ФЕРТЫЛЬНАСЦЬ, ФОСФАЛІПАЗА A_2 .

Аб'екты даследавання: насенная вадкасць фертыльных і бясплодных мужчын.

Мэта: вызначэнне актыўнасці сакраторнай фосфаліпазы A_2 у насеннай вадкасці фертыльных і бясплодных мужчын.

Метады даследавання: мікрабіялагічныя, біяхімічныя.

У ходзе дадзенай працы вызначылі актыўнасць фасфаліпазы A_2 у спермаплазме бясплодных і здаровых донараў метадам дыфузіі ферменту ў жаўточна агарозным гелі. Зоны прасвятлення каля лунак са спермаплазмай нефертыльных донараў на першай чашцы Петры ў сярэднім больш на 17 мм, чым зона каля лункі са спермаплазмай здаровага донара. Зоны прасвятлення каля лунак са спермаплазмай нефертыльных донараў на другой чашцы Петры ў сярэднім больш на 15 мм, чым зона каля лункі са спермаплазмай здаровага донара.

Вылучылі субстраты для фасфаліпазы A_2 (фасфатыдылхалін і фасфатыдылэтаноламін) з ячнага жаўтка і вызначылі іх канцэнтрацыю ў растворы, якая склала 0,1 мкмоль/мл для фасфатыдылхаліну і 4,8 мкмоль/мл для фасфатыдылэтаноламіну. Выкарыстоўваючы вылучаныя субстраты для ФЛА2, паставілі рэакцыю са спермаплазмай нефертыльнага і здаровага донара.

Разлічылі хуткасць рэакцыі, якая каталізуецца фасфаліпазай A_2 : сярэдняя хуткасць гідролізу фасфатыдылхаліну ФЛА2 насеннай вадкасці бясплоднага мужчыны склала 0,00623 мкмоль/мл*г. Сярэдняя хуткасць гідролізу фасфатыдылэтаноламіну фасфаліпазай A_2 насеннай вадкасці бясплоднага мужчыны склала 0,001725 мкмоль/мл*г.

Сярэдняя хуткасць гідролізу фасфатыдылхаліну фасфаліпазай A_2 насеннай вадкасці здаровага донара склала 0,00304 мкмоль/мл*г. Сярэдняя хуткасць гідролізу фасфатыдылэтаноламіну фасфаліпазай A_2 насеннай вадкасці склала 0,00063 мкмоль/мл*г.

Такім чынам вызначылі, што актыўнасць фасфаліпазы A_2 ў насеннай вадкасці здаровага мужчыны ніжэй, чым у спермаплазме нефертыльнага донара.

Вызначылі пратэялітычную актыўнасць спермаплазмы: пратэялітычная актыўнасць спермаплазмы нефертыльнага мужчыны склала 0,218 мкг тыразіну/V пробы (мл)*мін; пратэялітычная актыўнасць спермаплазмы здаровага мужчыны склала 0,144 мкг тыразіну/V пробы (мл)*мін.

Такім чынам вызначылі, што пратэялітычная актыўнасць насеннай вадкасці здаровага мужчыны ніжэй, чым спермаплазмы нефертыльнага донара.

Паколькі розніца паміж актыўнасцю фасфаліпазы A_2 у здоровага і нефертыльнага донараў складае значна большую велічыню, чым такая пры даследаванні пратэялітычнай актыўнасці, зрабілі выснову, што ФЛА2 з'яўляецца больш пераважным маркерам для лабараторнай дыягностыкі мужчынскага бесплоддзя.

Даследавалі антымیکробную актыўнасць фасфаліпазы A_2 насеннай вадкасці, выкарыстоўваючы ў якасці тэст-культуры бактэрыі *Escherichia coli*. Выкарыстоўваючы атрыманыя даныя, палічылі, што ў сярэднім рост бактэрыі *Escherichia coli* пры даданні 100 мкл насеннай вадкасці ў начную культуру дадзеных мікраарганізмаў зніжаецца на 51,5%.

Прыкметнае памяншэнне росту бактэрыі *Escherichia coli* ў эксперыментах па даследаванні антымیکробнай актыўнасці фасфаліпазы A_2 у насеннай вадкасці нефертыльнага і здоровага донара меркавана звязана з тым, што фермент ФЛА2, які змяшчаецца ў спермаплазме, аказвае негатыўны ўплыў на мікраарганізмы. Механізм дадзенага пагібельнага дзеяння фасфаліпазы A_2 насеннай вадкасці на клеткі бактэрыі не высветлены.