

ABSTRAKT

Základ zdravého embryonálního vývoje je položen už v průběhu gametogeneze. V současné době, v souladu s nárůstem procenta párů, které nemohu počít dítě přirozenou cestou, centra asistované reprodukce zaznamenávají svůj rozmach. Právě proto, porozumění biologie gamet a toho, co předávají embryu, je klíčem k léčbě neplodných párů a cestou k zdravému embryonálnímu vývoji. Proto se tato studie zaměřuje na epigenetický kód gamet, s prediktivním potenciálem, a na faktory, které epigenetický kód utváří. V souladu s předpokladem, že jsou vybrané molekulární faktory použitelné jako markéry kvality, byl studován vliv environmentálního polutantu bisfenolu S (BPS) na kvalitu zárodečných buněk a spermií s cílem identifikovat markery kvality gamet, použitelné pro screening spermií a jejich selekci pro účely asistované reprodukce. Pro dosažení daných cílů byly použity vzorky lidských spermií, zárodečné buňky experimentálních myší kmene ICR a kančí spermie. Vzorky byly podrobeny analýzám pomocí průtokové cytometrie, imunocytochemie a western blotu. Experimentální práce byla schválena Etickou komisí FN Plzeň, resp. probíhala v souladu se schváleným projektem pokusu na experimentálních zvířatech.

Studie provedená na lidských spermiích detekovala metylovaný histon H3 na lysinu K4 (H3K4me2) jako potencionální epigenetický marker, který je nejen indikátorem kvality spermií, ale i nezralosti chromatinu způsobeného neúplnou protaminací. V druhé části studie jsme prokázali úlohu sulfanu (H₂S) jako antikapacitačního agens, který zpomaluje kapacitaci, pravděpodobně prostřednictvím posttranslačních modifikací proteinů. Dále jsme prokázali úlohu histon deacetylázy SIRT1 napříč maturací oocyty, a identifikovali jeho cílenou relokizaci ze zárodečného váčku nezralého oocyty do bezprostřední blízkosti dělicího vřeténka maturovaného oocyty. Poslední část studie se zabývala vlivem endokrinního disruptoru BPS na kvalitu gamet, u oocyty byly prokázány malformace dělicího vřeténka a aberace histonového kódu sledovaného pomocí H3K27me2. Co se týče vlivu na samčí reprodukci, BPS efekt se projevil změnou spektra acetylovaných proteinů varleční tkáně.

Předložená práce poskytuje nové epigenetické markery, které lze nadále využít k hodnocení kvality a selekci gamet, určené pro účely asistované reprodukce. Poznatky se tak mohou podílet na zlepšení úspěšnosti mimotělního oplození a zvyšování kvality embryí.