

Метод Tunel

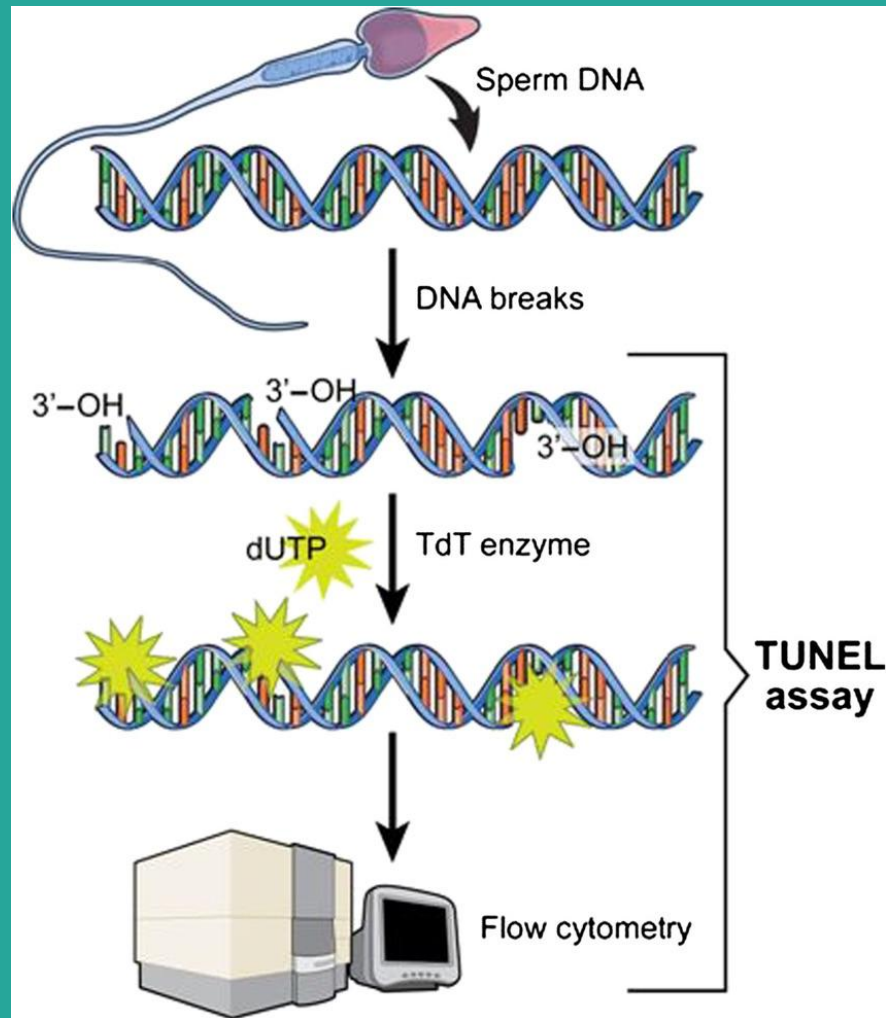
Terminal deoxynucleotidyl
transferase dUTP nick end
labeling

Подготовила студентка 538 группы Пащенко А.Р.

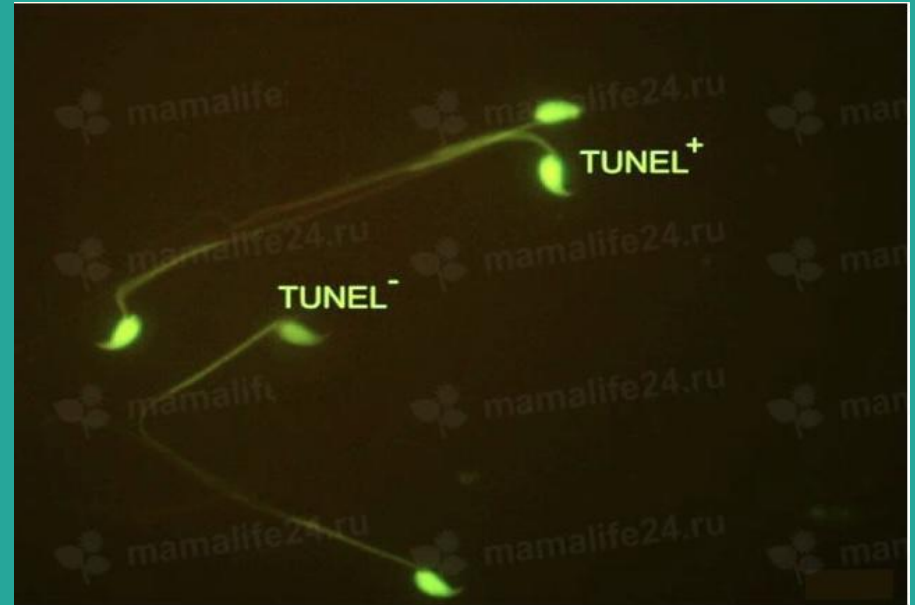
Тест на фрагментацию ДНК сперматозоидов методом TUNEL

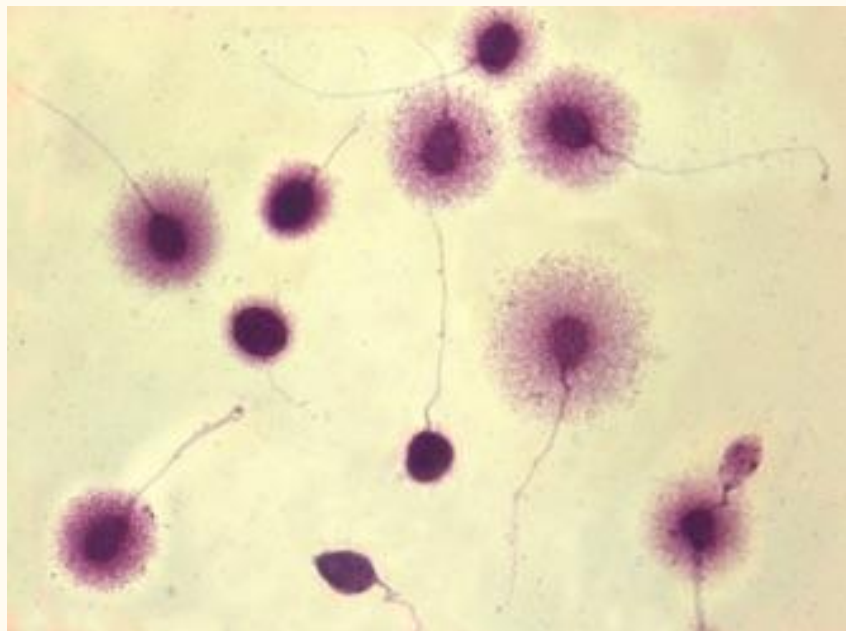
- тест на выявление повреждений ДНК в сперматозоидах, путем мечения 3'-гидроксильных концов в двухцепочечных разрывах ДНК, образующихся во время апоптоза

Анализ помогает в оценке фертильной функции и выявить причины бесплодия и спонтанных абортс.



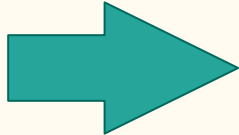
Для выявления повреждений нуклеиновых цепочек используется оптический эффект. Образец спермы смешивается с энзимом, маркированные нуклеотиды которого встраиваются в поврежденные сегменты цепочек. Поврежденные сперматозоиды приобретают окраску или подсвечиваются, после чего их можно подсчитать и вычислить индекс фрагментации - процент поврежденных клеток по отношению к общему количеству. Референсное значение для tunel-теста составляет 15%;





Гипотеза фрагментации ДНК

- Генетическая предрасположенность
- Возраст
- Заболевания
- Лейкоцитоспермия
- Варикоцеле
- Рак
- медикаменты
- Образ жизни
- Внешние токсиканты (ксенобиотики)
- Профессион. факторы и стиль жизни



Абортивный апоптоз

Дефектное ремоделирование хроматина

Атака АФК (окислительный стресс)



Повреждение ДНК сперм-ов

Показания

- при мужском бесплодии
- если попытки искусственного оплодотворения не дали результата;
- повторяющиеся выкидыши;
- если эмбрион плохого качества;
- мужчинам в возрасте от 45 лет;
- после криохранения образца спермы перед ЭКО
- при варикозе сосудов семенного канатика;
- если в течение трех месяцев имела место повышенная температура тела.

Подготовка

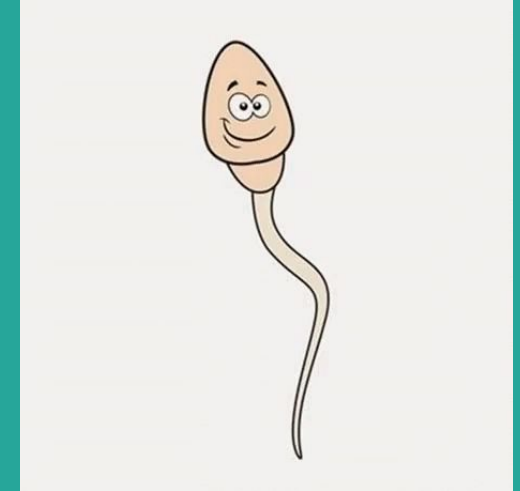
- Воздержаться от половых контактов в течение 2-7 дней
- Приема лекарственных средств
- Посещение сауны, бани
- Эякулят собирается путём мастурбации в стерильный пластиковый контейнер. Не допускается использование



анализ должен быть проведен в течение часа с момента забора образца. Затем в эякулят добавляет реактив. Он, вступая в реакцию с семенной жидкостью, заполняет разрывы ДНК флуоресцирующим нуклеотидом, делая видимыми фрагментированные сперматозоиды.

Расшифровка результатов

- низкая степень фрагментации ДНК сперматозоидов (15–30%) — зачатие возможно, хотя и затруднено;
- фрагментация ДНК сперматозоидов повышена незначительно и составляет 30–50% — естественное зачатие маловероятно, но хорошие результаты прогнозируются для ЭКО;
- 50–60% — возможно только искусственное зачатие с невысокой степенью вероятности;
- более 60% — зачатие при помощи собственного семенного материала маловероятно.



Спасибо за внимание!

