

Najnowsze wyniki badań oraz informacje zbierane przez światową Organizację Zdrowia (WHO) podają niepłodność jako chorobę społeczną, która dotyczy 10–18% par. Szacuje się, że udział tzw. czynnika męskiego w niepłodności małżeńskiej to obecnie 40–60% wszystkich przypadków. Dane statystyczne wskazują, że u coraz większej grupy mężczyzn czynniki nasienia drastycznie się obniżają, czego odzwierciedleniem jest wzrastający wskaźnik niepłodności. Obok czynników rodowiskowych oraz genetycznych mających istotny wpływ na płodność, równie ważnymi są czynniki epigenetyczne, tj. wynikające z niegenowych modyfikacji genomu.

Głównym czynnikiem epigenetycznym (obok acetylacji, czy fosforylacji) jest metylacja cytozyny w pozycji 5' dinukleotydu CpG. Metylacja odpowiedzialna jest za piętrowanie gametyczne, inaktywację chromosomu X, zmiany w konformacji białek oraz wyciszanie ekspresji genów z udziałem niskocząsteczkowego RNA. Razem z acetylacją, metylacja ma swój udział w zmianach konfiguracji chromatyny, różnicując poziom aktywności transkrypcyjnej genu. Dotychczasowe dane literaturowe wskazują, że zmiany we wzorach metylacji genów dotyczą mężczyzn niepłodnych, w tym z zaburzoną protaminacją chromatyny, o obniżonych parametrach nasienia oraz skorelowane z powodzeniem zabiegów zapłodnienia pozaustrojowego. Badanie zmian epigenetycznych u mężczyzn, szczególnie o obniżonej liczbie plemników w ejakulacie (oligozoospermia) wydaje się uzasadnione, gdy mężczyźni stanowią znaczny odsetek mężczyzn uczestniczących w zapłodnieniu pozaustrojowym, w którym parametrem kwalifikacyjnym plemnika do zabiegu są jego cechy seminologiczne (morfologia i ruch), nie zaś stan jego chromatyny czy zawartość genetyczna. Należy również podkreślić, że liczne badania dokumentują negatywny wpływ zaburzeń wzoru metylacji na prawidłowy rozwój zarodka oraz mogą wykazywać na ścisły związek z niektórymi chorobami o podłożu genetycznym.

Celem Projektu jest określenie wzorów metylacji wybranych genów w DNA plemnikowym u niepłodnych mężczyzn o obniżonej liczbie plemników (oligozoospermia). W Projekcie zakłada się, że plemniki niepłodnych mężczyzn z oligozoospermią mają zmieniony wzór metylacji genów kluczowych dla spermatogenezy, co rzutuje na status ich płodności. Ponadto, w plemnikach mężczyzn z oligozoospermią obserwuje się zaburzenia innych elementów genetycznych, takich jak: integralność chromatyny plemnikowej obejmująca zarówno stopień jej deprotaminacji, jak również fragmentację DNA oraz podwyższony poziom aneuploidii chromosomów w plemniku. Do badań wykorzystane zostaną różnorodne techniki molekularne i chromatograficzne, tj.: pirosekwencjonowanie, chromatografia cienkowarstwowa TLC, immunofluorescencja, barwienie chromomycyn A3 oraz błękitem aniliny, test TUNEL, barwienie oranem akrydyny oraz fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* FISH.

W przypadku plemników, na dzień dzisiejszy metodyka stosowana w diagnostyce polega na pojedynczych oderwanych od siebie analizach. Niniejszy Projekt oparty został na kompleksowym podejściu badawczym wobec plemników mężczyzn z oligozoospermią, uwzględniającym charakterystykę zarówno zawartości genetycznej jak i epigenetycznej, niepozostających obojętnymi na przebieg procesu powstawania plemników. Jednoczesna ocena wszystkich wymienionych parametrów może stanowić bodziec do opracowania nowych testów oceniających zarówno warstwa strukturalną, jak i regulatorów materiału genetycznego plemnika.