

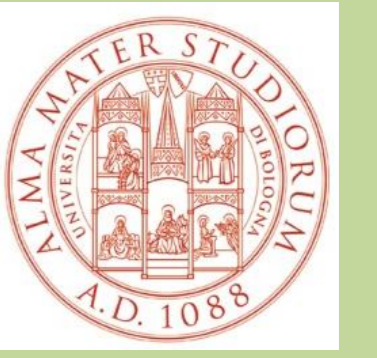


DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE VETERINARIE

32° CICLO

DOTT.SSA BEATRICE MISLEI-TUTOR: PROF. GAETANO MARI

SSD VET/10-ginecologia ostetricia veterinaria



EFFETTI DEI ROS (reactive oxygen species) SUL SEME EQUINO CONGELATO

INTRODUZIONE

Il congelamento e lo scongelamento del seme equino causa agli spermatozoi danni fisici, osmotici e dovuti alla produzione di ROS (1). Questi ultimi provocano danni irreversibili alla membrana cellulare (1) e al DNA (2).

SCOPI

Valutare gli effetti del congelamento sulla generazione di ROS nel seme equino come causa di danneggiamento strutturale e funzionale degli spermatozoi.

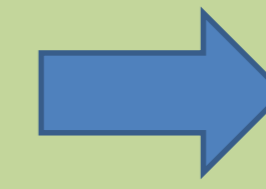
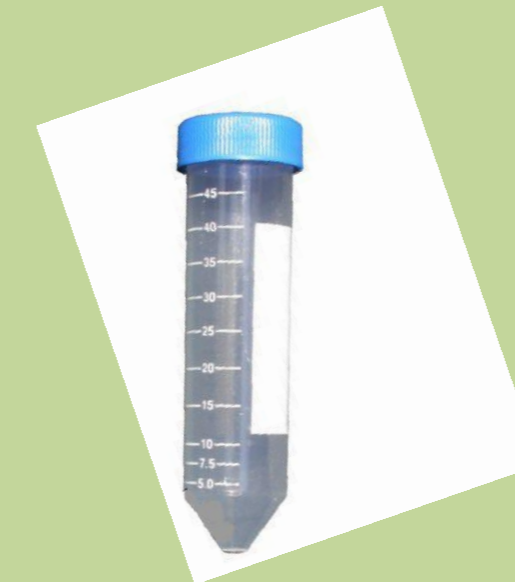
MATERIALI E METODI

Gennaio 2017

PRELEVATO IL SEME DA 6 STALLONI 3 VOLTE IN UNA SETTIMANA



DILUITO, CENTRIFUGATO E RISOSPESO CON CRIOPROTETTORI AD UNA CONCENTRAZIONE DI 200 MILIONI/ML



EQUILIBRATO A 4°C PER 2 ORE IN PAILLETTES DA 0,5 ML



7 pp SVUOTATE IN PROVETTA A 37°C



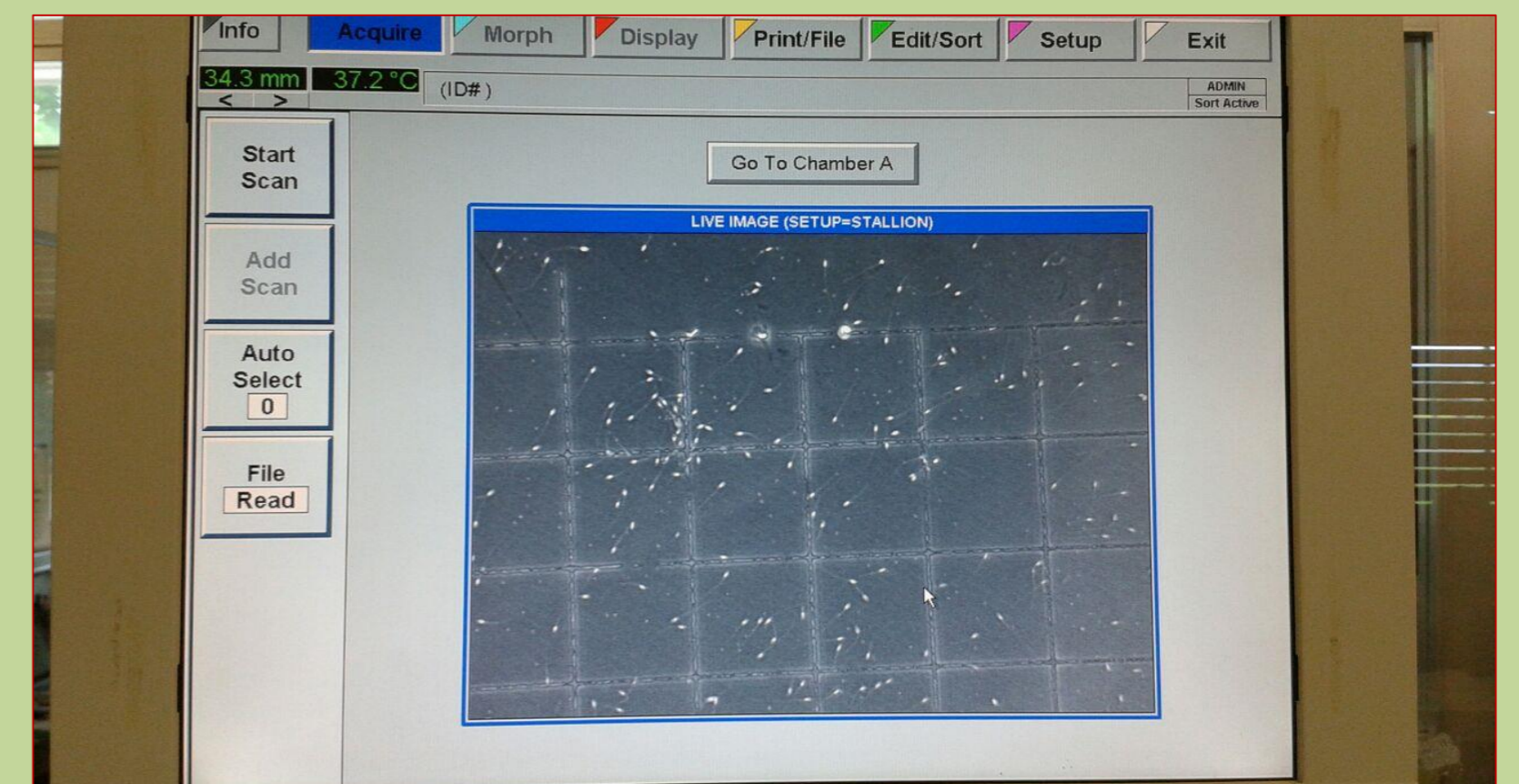
7 pp CONGELATE E MESSE IN AZOTO LIQUIDO



Time: alla fine dell'equilibramento e subito dopo lo scongelamento (T0), a 3h (T1), a 6h (T2), a 12h (T3) e a 24h (T4) vengono effettuate le seguenti analisi:

CASA (Computer Assisted Sperm Analysis);

CITOFUORIMETRIA DI FLUSSO (SCSA, Fite-PI, JC1, Bodipy, DCFH, DHR, Mitosox....)



RISULTATI

Altri dati verranno raccolti nei prossimi mesi. Seguirà l'analisi statistica,

PROVE FUTURE: ripetere lo stesso protocollo nell'estate 2017 per vedere se ci sono differenze dovute alla stagionalità e prove su azione antiossidante di sostanze aggiunte ai diluitori.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Thomas A.D., Meyers S.A., Ball B.A. Capacitation-like changes in equine spermatozoa following cryopreservation. Theriogenology 65; 1531-1550, 2006;
- 2) Love C.C. The sperm chromatin structure assay: a review of clinical application. Animal Repro Sci, 89, 39-45, 2005;

