

Perbandingan kualitas tingkat integritas DNA dan apoptosis spermatozoa setelah pencucian antara metode swim up dengan density gradient centrifugation = Comparison of quality dna integrity and apoptotic level in spermatozoa after preparation between swim up and density gradient centrifugation

Triyana Sari, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20415819&lokasi=lokal>

Abstrak

LATAR BELAKANG: Metode preparasi spermatozoa yang sering digunakan untuk reproduksi berbantu saat ini adalah metode swim-up dan density-gradient centrifugation. Namun demikian masih banyak didapatkan pertentangan mengenai metode mana yang lebih aman dan dapat menyeleksi spermatozoa dengan kualitas yang lebih baik. Pada penelitian ini dilakukan penilaian kembali pada kedua metode preparasi spermatozoa tersebut terutama dalam hal menyeleksi spermatozoa dengan tingkat integritas DNA tinggi dan apoptosis yang rendah.

BAHAN DAN CARA KERJA: Sampel berjumlah 15 pasien yang menjalani preparasi spermatozoa untuk program inseminasi intra uterus di Klinik Yasmin RSCM Kencana, Jakarta. Sampel diambil sebelum dan setelah pencucian spermatozoa untuk dilakukan pemeriksaan konsentrasi dan motilitas spermatozoa menggunakan Makler®. Tingkat integritas DNA spermatozoa dinilai dengan indeks fragmentasi DNA spermatozoa (IFD) yang dilakukan dengan metode SCD. Pemeriksaan konfirmasi berupa viabilitas spermatozoa dengan eosin-Y dan analisis ekspresi protein kaspase 3 dilakukan dengan western blot yang dilanjutkan dengan analisis densitas pita kaspase 3 menggunakan ImageJ.

HASIL: Penelitian ini menunjukkan penurunan tidak bermakna pada kelompok IFD > 15% dan peningkatan tidak bermakna pada kelompok IFD 15%. Ditambah pula, rerata viabilitas spermatozoa menunjukkan peningkatan tidak bermakna setelah pencucian. Aktivitas kaspase menunjukkan penurunan densitas tidak bermakna setelah dilakukan pencucian. Metode preparasi DGC dan SU dapat meningkatkan spermatozoa progresif dan viabilitas spermatozoa serta menurunkan aktivitas kaspase 3.

KESIMPULAN: Metode swim-up dan density-gradient centrifugation berhasil menyeleksi spermatozoa dengan tingkat apoptosis dan fragmentasi DNA yang rendah. Metode DGC lebih baik daripada SU dalam hal penurunan aktivitas kaspase.

BACKGROUND: The common methods for sperm preparation prior to assisted reproductive technique are swim-up (SU) and density gradient centrifugation (DGC). However, controversies regarding advantages and disadvantages of these two methods have been reported by many studies. The aim of this study was to reevaluate both methods in selecting better sperm in term of their quality, DNA integrity and apoptotic levels.

MATERIAL AND METHOD: Fifteen samples from insemination patients at Klinik Yasmin RSCM Kencana, Jakarta were used in this study. Samples were taken before and after preparation with SU and DGC. Makler® counting chamber and Eosin Y staining were used to analyze motility and viability, respectively. Sperm chromatin dispersion assay was used to determine sperm DNA integrity, while apoptotic levels was determined by Western immunoblotting.

RESULTS: This study showed no significant decrease in the group IFD> 15% and a non-significant

increase in group IFD 15% after preparation with SU and DGC. Plus, the average viability of spermatozoa showed improvement after preparation with SU and DGC. Caspase activity was lower when spermatozoa was prepared with SU. DGC and SU preparation method can improve progressive motility and viability of spermatozoa and reduce the caspase activity.

CONCLUSIONS: Both swim-up and density-gradient centrifugation selected better sperm motility and viability. Furthermore, these two methods separated spermatozoa with low level of apoptotic and higher DNA integrity. DGC method is better than SU in reduce caspase activity