

Apoptosis Pada Sperma Sebagai Petanda Adanya Gangguan Kesuburan Pria

Restu Syamsul Hadi*

Abstract

Bagian Anatomi-Biologi
Fakultas Kedokteran Universitas
YARSI

Correspondence

DR. Restu Syamsul Hadi, M. Kes

Bagian Anatomi-Biologi
Kedokteran Universitas YARSI
Jl. Letjen Suprpto Cempaka Putih
Jakarta Pusat 10510

Email: restu.syamsul@yarsi.ac.id

Semen analysis includes assessment of volume, color, viscosity, pH, concentration, motility, and morphology as standard procedures to semen analysis. It has known that correlation between apoptosis and spermatogenesis. Apoptosis is a mechanism regulating spermatogenesis in humans, and there are clear differences in molecular markers of apoptosis between males with normal sperm parameters and those with abnormal sperm parameters. Sperm apoptotic apoptosis has been shown to increase after testicular injury, such as exposure to toxics, varicocele, testicular torsion, hormonal deprivation and genetic abnormalities. It has been found that the number of sperm with Fas expression was low in subjects with normal sperm parameters but high in men with abnormal sperm parameters. It has been reported that the number sperm with Fas expression was low in subjects with normal sperm parameters but high in men with abnormal sperm parameters. Male infertility appears to be positively correlated with increased levels of apoptotic sperm. Sperm DNA damage and sperm apoptosis have been considered as useful marker of male fertility disorder.

Keywords : infertility, spermatogenesis, apoptosis, DNA damage

Pendahuluan

Infertilitas diperkirakan terjadi sekitar 15% pada pasangan suami-istri dan sekitar separuh dari kasus infertilitas tersebut dapat dikaitkan dengan faktor pada pria melalui rendahnya prosentase motilitas sperma dan /atau jumlah sperma yang sedikit. Melalui analisis semen secara konvensional sangat bermanfaat untuk memberi informasi status kesuburan seorang pria suda. Sampai saat ini penilaian analisis semen meliputi volume, warna, viskositas, pH, konsentrasi, motilitas dan morfologi. Hasil analisis tersebut sudah dapat untuk memprediksi kesuburan seorang pria (Nakada et al., 2006).

Penelitian pada tingkat molekuler menyebutkan bahwa infertilitas pria dilaporkan berhubungan dengan gangguan pada DNA mitokondria (mtDNA) dan apoptosis. Mitokondria normal diperlukan untuk spermatogenesis mamalia, dan gangguan yang dihasilkan dari akumulasi mutan mtDNA menyebabkan infertilitas pria. Untuk pengembangan diagnosis klinis infertilitas pria dikembangkan metode baru yang dapat memberi gambaran mengenai fungsi spermanya (Nakada et al., 2006). Kerusakan DNA pada fase awal perkembangan sperma ternyata berkaitan dengan rendahnya kualitas sperma, rendahnya tingkat kemampuan fertilisasi, kegagalan pada preimplantasi, peningkatan aborsi hingga kejadian kanker pada bayi yang dilahirkan (Lewis dan Aitken, 2005).

Apoptosis secara seluler merupakan proses normal yang terjadi selama perkembangan embrional. Selama proses spermatogenesis telah dilaporkan terjadi proses apoptosis yang diatur oleh ekspresi gen p53, p21, kaspase, bcl-2 dan Fas (Said et al., 2004). Infertilitas pria menunjukkan korelasi positif dengan jumlah sperma yang mengalami apoptosis (Wang et al., 2003). Kemungkinan peningkatan jumlah apoptosis karena terikutnya sperma yang belum matang ketika ejakulasi (Cayli et al., 2004). Kajian ini bermaksud menguraikan kerusakan secara molekular yang menyebabkan apoptosis sel sperma untuk dapat dimanfaatkan sebagai petanda adanya gangguan fertilitas pria.

Apoptosis Pada Spermatogenesis

Apoptosis adalah suatu proses kematian sel yang terjadi pada sel tunggal secara terencana yang ditandai dengan gambaran morfologi dan biokimiawi khas sebagai akibat dari inisiasi oleh stimuli fisiologis maupun patologis tanpa menimbulkan reaksi radang (Alison & Saraf, 1992; Cotran et al., 1999; Zeiss, 2003). Proses apoptosis ini membutuhkan waktu lebih lama dibandingkan dengan nekrosis yaitu sekitar beberapa jam hingga beberapa hari tergantung inisiatornya (Willingham, 1999). Pada peristiwa apoptosis sitoplasma sel tidak keluar sehingga berbagai respon radang tidak terjadi (Chang & Yang, 2000).

Gambaran morfologi kematian sel terprogram ini telah diketahui sejak 1885 oleh Fleming (Paweletz, 2001), istilah apoptosis untuk pertama kali diperkenalkan oleh Kerr pada tahun 1972 yang

disebut sebagai shrinkage necrosis. Sampai waktu yang cukup lama hal tersebut diabaikan hingga disadarinya apoptosis memiliki peran penting yang luas sejak masa embrional sampai proses penuaan, dari penyakit degeneratif hingga penyakit kanker. Sampai saat ini mekanisme apoptosis menjadi kajian yang masih tetap menarik minat para peneliti. Hal ini dikemukakan pula oleh Vaux & Korsmeyer (1999) yang menyatakan bahwa beberapa gambaran mengenai apoptosis telah banyak dilaporkan meskipun penelitian terhadap apoptosis masih terus berkembang dengan cepat

Apoptosis memiliki peran dalam proses fisiologis autodestruksi seluler yang penting bagi perkembangan, pemeliharaan homeostasis dan pertahanan hospes organisme multiseluler (Daniel & Korsmeyer, 2004; Kramer, 2000). Apoptosis dibagi menjadi 3 fase yaitu fase induksi, fase efektor, fase degradasi. Pada fase induksi tergantung pada sinyal penyebab kematian yang menstimulasi sinyal proapoptotik dan memulai kaskade. Sinyal penyebab kematian tersebut antara lain reactive oxygen species (ROS) (Deshpande *et al.*, 2000), ceramide (Yoshimura *et al.*, 1998), aktivasi berlebihan dari jalur Ca^{2+} , protein famili B-cell lymphoma-2 (Bcl2) seperti Bcl2 associated x protein (Bax) dan Bcl-2 associated death promotor (Bad). Pada fase efektor, sel akan mengalami kematian karena kerja pusat pengatur yaitu mitokondria mengarah pada kematian sel. Fase terakhir yaitu fase degradasi melibatkan serangkaian peristiwa yang terjadi baik di sitoplasma maupun di dalam inti sel. Aktivasi caspase terjadi di dalam sitoplasma sedangkan pada inti sel terjadi kondensasi kromatin, selubung inti pecah dan terjadi fragmentasi DNA untuk selanjutnya menjadi apoptotic body (jisim apoptotik) yang difagositosis oleh sel sekelilingnya maupun oleh makrofag (Susin *et al.*, 1998).

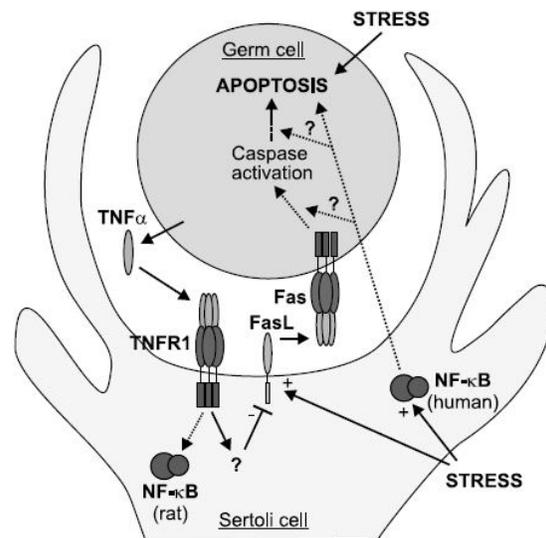
Spermatogenesis merupakan proses yang kompleks dimulai dari proliferasi sel germinal dan pematangan spermatogonia menjadi spermatozoa. Selama spermatogenesis, kematian sel secara terprogram (apoptosis) memainkan peran penting untuk menghilangkan sel-sel germinal yang cacat atau yang membawa mutasi DNA. Pada proses fisiologi ini dapat terjadi disregulasi sehingga apoptosis sel germinal dapat menyebabkan infertilitas pria. Apoptosis sel germinal juga bisa dihasilkan dari gangguan ekstremal seperti perubahan hormonal, atau paparan bahan kimia beracun atau radiasi yang dapat menyebabkan penurunan jumlah sperma dan masalah kesuburan pria (Pentikäinen, 2002)

Apoptosis diperlukan untuk kelangsungan spermatogenesis secara normal dan untuk homeostasis seluler serta keseimbangan antara sel germinal dengan sel Sertoli (Reed, 2000). Ada hubungan antara ciri-ciri semen dan persentase apoptosis pada ejakulat sperma pasangan infertil. Uji

apoptosis sperma secara mudah dilakukan, uji ini berdasarkan prinsip kerja apoptosis (Singh, 2000). Apoptosis terlibat pada pengaturan spermatogenesis pada manusia. Metode yang biasa digunakan untuk mendeteksi apoptosis sperma yaitu TUNEL assay dan pewarnaan annexin V/PI (Wang *et al.*, 2002). Setiap deregulasi proses apoptosis selama spermatogenesis akan mengarah pada pembentukan sperma yang rusak. Peningkatan jumlah sperma yang mengalami apoptosis berpotensi menyebabkan infertilitas. (Shaha, 2007).

Sakkas *et al.* (1999) berpendapat bahwa individu-individu dengan tingkat apoptosis yang tinggi mungkin memiliki persentase peningkatan sperma dengan kerusakan genetik dan jumlah sperma immotil yang lebih tinggi. Ada kemungkinan bahwa kerusakan genetik pada sperma, terjadinya apoptosis, dan motilitas sperma saling berhubungan. Pada sperma normal terdapat perbedaan molekul penanda apoptosis dengan sperma abnormal.

Dilaporkan hasil penelitian bahwa sistem Fas ditemukan memperantarai apoptosis sel germinal pada kultur sel tubulus seminiferous manusia. Apoptosis pada sel germinal dihambat dengan menghalangi interaksi antara Fas dan FasL Hasil ini menunjukkan bahwa aktivasi Fas menyebabkan apoptosis. Selain itu adanya NF- κ B berperan dalam pengaturan apoptosis sel germinal pria. Hambatan apoptosis germinal dimediasi oleh TNF α -dikaitkan dengan down-regulasi FasL, tetapi tidak dengan modulasi dari diinduksi aktivitas NF- κ B. (Pentikäinen, 2002).



Gambar 1. Skema regulasi apoptosis sel germinal melalui jalur Fas-dan TNFR1 (Pentikäinen, 2002)

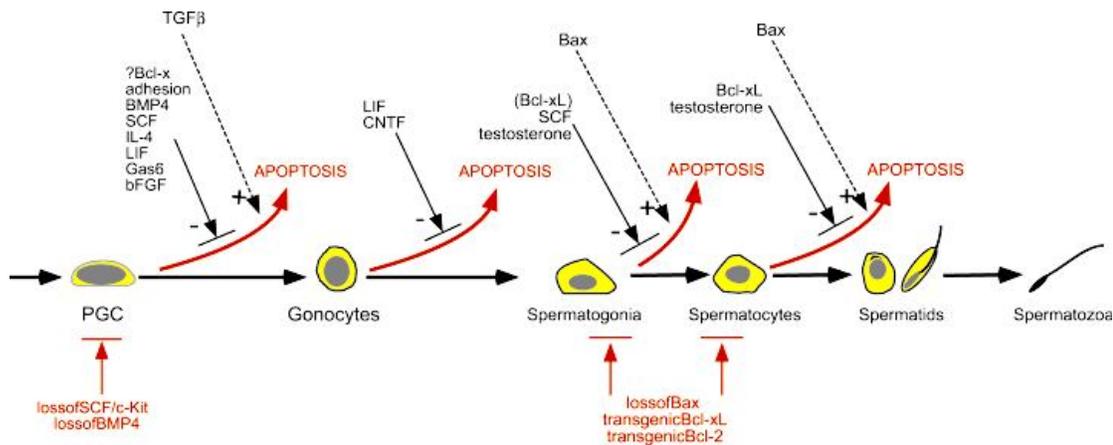
Hassan *et al.* (2009) melaporkan bahwa apoptosis testicular meningkat pada pria dengan varicocele baik pada pria yang fertil maupun infertil.

Adapun kemungkinan penyebabnya adalah karena 3 hal yaitu pertama gangguan akibat varicocele terjadi pada sintesis DNA sehingga kekurangan enzim untuk metabolisme, kedua hipertermia testis yang mengganggu pertumbuhan sel germinal dan ketiga adalah gangguan pada androgen yang berperan pada sel germinal. Apoptosis sel germinal terjadi melalui dua jalur utama, yang melibatkan baik jalur mitokondria (intrinsik) maupun jalur sel reseptor permukaan (ekstrinsik). Pada apoptosis jalur mitokondria melibatkan kelompok protein Bcl-2. Pada jalur kematian sel reseptor melibatkan anggota superfamili reseptor TNF. Rangsangan untuk apoptosis sel germinal adalah isyarat internal yang

mengontrol homeostasis yang tepat dari jaringan testis atau agen eksternal seperti stres panas dan agen kemoterapi. Selain itu, ketidakseimbangan hormon dapat menyebabkan apoptosis sel germinal. Jalur apoptosis diadopsi oleh sel germinal tergantung pada jenis stimulus yang diterima (Shaha, 2007).

Apoptosis Pada Perkembangan Sel Germinal

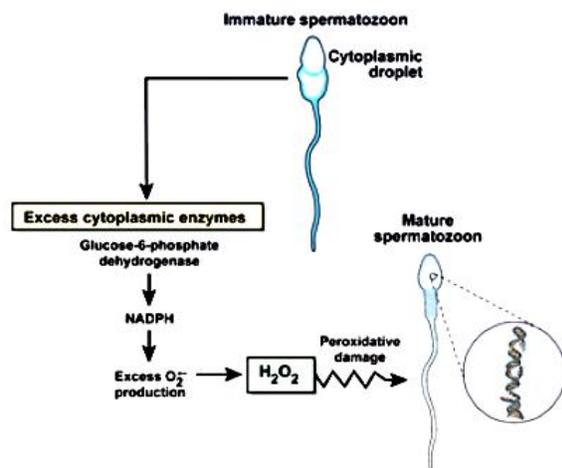
Produksi sperma matang merupakan proses yang luar biasa yang meliputi beberapa bebrapa tahap perkembangan. Di bawah pengaruh kromosom Y, sel Sertoli, sel germinal primordial (PGC) mengalami perkembangan sedangkan beberapa sel akan mengalami apoptosis. sisanya menjadi gonocytes (Print dan Loveland, 2000)



Gambar 2. Spermatogenesis yang disertai dengan apoptosis pada semua tahapan. perkembangan sel germinal (Print dan Loveland, 2000)

Kajian terhadap apoptosis pada sperma manusia telah ungkapkan tentang adanya hubungan antara apoptosis dan kualitas sperma. Apoptosis pada spermatozoa secara signifikan berkorelasi dengan parameter kualitas semen konvensional. Proses apoptosis mungkin diatur dalam peristiwa spermatogenesis sebelum ejakulasi. Penentuan adanya apoptosis pada spermatozoa dapat meningkatkan kriteria seleksi dalam teknologi reproduksi berbantuan. Dibukti bahwa spermatozoa yang sehat setelah ejakulasi tidak akan menjadi apoptosis dan diyakini apoptosis pada spermatozoa sudah dipicu sebelum ejakulasi (Oosterhuis dan Vermes, 2004).

Adanya hubungan terbalik antara antara persentase apoptosis pada ejakulasi sperma manusia, motilitas progresif, dan morfologi sperma. Hasil penelitian dilaporkan bahwa pada pria infertl kualitas sperma lebih buruk dengan adanya peningkatan kerusakan DNA lebih tinggi dibandingkan pada pria yang subur. Analisis sperma pada kerusakan DNA biasanya dapat mengungkapkan kelainan tersembunyi pada pria dengan infertilitas yang selama ini diklasifikasikan sebagai idiopatik karena berdasarkan parameter sperma analisis sperma tampak normal (Chen *et al*, 2006)



Gambar 3. Kerusakan DNA sperma akibat stress oksidatif (Agarwal dan Said,2005)

Untuk mengidentifikasi kerusakan DNA dan apoptosis diperlukan kajian yang kompleks maka pengujian harus dibatasi pada kasus-kasus tertentu saja. Analisis rutin semen tetap merupakan tulang punggung untuk mengevaluasi infertilitas pria. Kebanyakan pria infertile subur membutuhkan diagnosis yang lebih tepat pada tingkat molekuler.

Analisis kerusakan DNA sperma dapat mengungkapkan gangguan infertilitas idiopatik yang hasil diagnosis spermanya dalam keadaan normal. Apoptosis dan kerusakan DNA dapat mencegah proses pemasakan sperma. Akibatnya pasien mungkin menjadi azoospermia sebagai akibat dari ketidakseimbangan dalam jalur ini (Agarwal dan Said, 2005).

Simpulan

Infertilitas pria berkorelasi positif dengan peningkatan jumlah sperma yang mengalami apoptosis. Kerusakan DNA sperma dan apoptosis memungkinkan dipakai sebagai petanda adanya gangguan kesuburan pria. Analisis pada tingkat molekuler ini diperlukan pada kasus infertilitas idiopatik/yang penyebabnya belum diketahui.

Daftar Pustaka

- Agarwal A and Said TM, 2005. Oxidative stress, DNA damage and apoptosis in male infertility: a clinical approach, *BJU Internat.*95:503-507
- Cayli S, Sakkas D, Vigue L, Demir R, Huszar G. Cellular maturity and apoptosis in human sperm: creatine kinase, caspase-3 and Bcl-XL levels in mature and diminished maturity sperm. *Mol Hum Reprod.* 2004; 10: 365 -372
- Chen et al.,2006. Relationship Between Human Semen Characteristics and Sperm Apoptosis : A Pilot Study.,*J.Androl.*27:1:112-120

- Hassan A., El-Nashar M., and Mostafa T. 2009. Programmed Cell Death in Varicocele-Bearing Testes, *Andrologia*, 41: 39-45.
- Nakada K., Sato A., Yoshida K., Morita T., et al. 2006. Mitochondria-Related male Infertility, *PNAS*. 103(41): 15148-15153
- Oosterhuis GJE and Vermees L.2004. Apoptosis in human ejaculated spermatozoa , *Biol regul Homeost Agen* 2004; 18: 115-9.
- Pentikäinen V, 2002. REGULATION OF MALE GERM CELL APOPTOSIS: Roles of sex steroids and the cellular death receptors Fas and TNFR1. *Dissertation*. Programme for Developmental and Reproductive Biology Biomedicum, Helsinki University of Helsinki, Finlanda.
- Print CG and Loveland KL,2000. Germ cell suicide: new insights into apoptosis during spermatogenesis, *BioEssays* 22:423±430
- Reed JC. 2000. Mechanisms of Apoptosis, *Am.J.Pathol.* 157 : 1415-1430
- Said TM, Paasch U, Glander HJ, Agarwal A. Role of caspases in male infertility. *Hum Reprod.* 2004; 10: 39 -51
- Sakkas D, Mariethoz E, St. John JC. Abnormal sperm parameters in humans are indicative of an abortive apoptotic mechanism linked to the Fas-mediated pathway. *Exp Cell Res.* 1999; 251: 350 -355
- Wang X, Sharma RK, Sikka SC, Thomas AJ Jr, Falcone T, Agarwal A. Oxidative stress is associated with increased apoptosis leading to spermatozoa DNA damage in patients with male factor infertility. *Fertil Steril.* 2003;80: 531 -535
- Shaha,C.,2007. Modulators of spermatogenic cell survival. *Soc Reprod Fertil Suppl.* 63:173-86.
- Shaha C., Tripathi R., and Mishra DP., 2010. Male germ cell apoptosis: regulation and biology, *Phil. Trans. R. Soc. B* 365, 1501–1515