

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η συσχέτιση της ενεργοποίησης των κασπασών στον καταρράκτη της απόπτωσης με την ύπαρξη κατάτμησης του DNA των σπερματοζωαρίων σε δείγματα σπέρματος ανδρών που διερευνούνταν για υπογονιμότητα. Ελέγχθηκε επίσης η συσχέτιση της απόπτωσης με τις παραμέτρους του σπερμοδιαγράμματος, αλλά και η διαφορά του ποσοστού κατακερματισμού ανάμεσα σε ασθενείς με φυσιολογικές και παθολογικές παραμέτρους σπερμοδιαγράμματος. Εξετάστηκαν 61 δείγματα σπέρματος ασθενών ηλικίας 30 έως 56 ετών με σκοπό, είτε τη διερεύνηση της γονιμότητας, είτε την πραγματοποίηση κάποιου κύκλου IVF/ICSI. Για την αξιολόγηση του κατακερματισμού χρησιμοποιήθηκαν οι τεχνικές: Sperm Chromatin Dispersion (SCD) και Terminal Uridine Nick-End Labeling (TUNEL), ενώ για την απόπτωση η τεχνική Fluorochrome-Labeled Inhibitors of Caspase (FLICA). Τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS (Superior Performance Software System), Version 21. Βρέθηκε, πως υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ της απόπτωσης και του κατακερματισμού (μέθοδος TUNEL) ($r=0.307$, $p=0.032$) και υψηλότερη μέση τιμή της απόπτωσης σε σχέση με τον κατακερματισμό ($33.5\% \pm 11.5\%$ έναντι $14.8\% \pm 9.9\%$) ($p<0.000$). Στη μελέτη ελέγχθηκε επίσης η συσχέτιση των βασικών παραμέτρων του σπερμοδιαγράμματος και της ενεργοποίησης των κασπασών, με στατιστικά σημαντική μόνο αυτή της συγκέντρωσης των σπερματοζωαρίων ($r=-0.292$, $p=0.024$). Τέλος, βρέθηκε διαφορά στο ποσοστό κατακερματισμού του DNA όταν αυτό αξιολογήθηκε με τη μέθοδο SCD, μεταξύ των ασθενών με φυσιολογικές παραμέτρους (μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση: $17.8\% \pm 9.2\%$) και των ασθενών με παθολογικές παραμέτρους σπερμοδιαγράμματος ($25.2\% \pm 13.4\%$) ($p=0.032$), ενώ με τη μέθοδο TUNEL η διαφορά αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Συμπερασματικά, η ανίχνευση των ενεργοποιημένων κασπασών (FLICA) σχετίζεται με το ποσοστό κατάτμησης του DNA των σπερματοζωαρίων (TUNEL) και μάλιστα μπορεί να θεωρηθεί πιο αξιόπιστος δείκτης. Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την επιλογή μη αποπτωτικών σπερματοζωαρίων στα πλαίσια της εφαρμογής των τεχνικών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, ώστε τα επιλεγμένα σπερματοζωάρια να έχουν ακέραιο γενετικό υλικό και καλή δυναμική γονιμοποίησης.

“Investigation of the relationship between apoptosis and DNA fragmentation in male infertility”

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the correlation of activated caspases in the cascade of apoptosis with the presence of DNA fragmentation of spermatozoa in sperm samples from infertile male patients. In addition, this study evaluated the relation between sperm parameters and apoptosis, as well as the difference between the percentage of DNA fragmentation in two groups of patients (with normal and abnormal sperm parameters). The patients, aged from 30 to 56 years old provided sperm sample either for fertility evaluation, or for an IVF/ICSI cycle. For the DNA fragmentation testing, two different techniques were used: the Sperm Chromatin Dispersion (SCD) and the Terminal Uridine Nick-End Labeling (TUNEL) technique, while for apoptosis the Fluorochrome-Labeled Inhibitors of Caspase (FLICA) technique was used. Data were analyzed with the statistic program SPSS (Superior Performance Software System), Version 21. It was found that there is a positive correlation ($r=0.307$, $p=0.032$) between apoptosis and DNA fragmentation measured with TUNEL technique. In addition, the mean of apoptosis was statistically significant different from the value of TUNEL ($33.5\% \pm 11.5\%$ vs $14.8\% \pm 9.9\%$) ($p<0.000$). It was also examined the relation between sperm parameters and apoptosis, with sperm concentration to be the only parameter that correlated in a statistically significant level ($\rho=-0.292$, $p=0.024$). Finally, the difference between the mean of DNA fragmentation measured with SCD was statistically different between the two groups of patients (patients with normal parameters and patients with abnormal parameters) mean \pm SD: $17.8\% \pm 9.2\%$ vs mean \pm SD: $25.2\% \pm 13.4\%$, ($p=0.032$). In the contrary, this difference was not statistically significant different with the TUNEL technique. In conclusion, the detection of activated caspases (FLICA) is related to the percentage of DNA fragmentation (TUNEL) and it could be more reliable marker of apoptosis, as it marks the sights of apoptosis before DNA fragmentation occurs. This fact could be useful for the selection of non apoptotic spermatozoa during an IVF/ICSI cycle in order to obtain a spermatozoon with intact DNA and good fertility potential.