

Darja Perkunić, profesor biologije - Završni magistarski rad

Fakultet/Akademija	PRIRODNO MATEMATIČKI FAKULTET
Tip Rada	Završni magistarski rad
Kandidat, zvanje	Darja Perkunić, profesor biologije
Naziv Teme	Uticaj krioperzevacije na fragmentaciju DNA u humanim spermatozoidima
Rezime/Abstract	<p>Uvod: Uspješan ishod trudnoće ovisi od mnogobrojnih muških i ženskih faktora začeća. Muški faktor neplodnosti prepoznat je u 50% slučajeva nemogućnosti začeća ili negativnog ishoda trudnoće u kombinaciji sa ženskim faktorima ili kao pojedinačan uzrok. Kvalitet sjemene tekućine pod uticajem je brojnih faktora spoljašnje sredine, endokrine funkcije, ali i genetičkih faktora. Standardne metode analize kao što je spermogram nisu dovoljne da za utvrđivanje etiologije muške neplodnosti. Napredak u razvoju molekularnih metoda analize bračne neplodnosti pokazao je da integritet DNA u muškim spolnim stanicama vrlo često je povezan sa ishodom trudnoće. Fragmentacija DNA u humanim spermatozoidima prepoznata je kao jedan od uzroka muške neplodnosti i ponovljenih spontanih pobačaja. U poslednjih nekoliko godina razvijene su brojne metode analize integriteta DNA u humanim spermatozoidima kao što su TUNEL, COMET, AO CMA3, SCSA i SCD testovi. Glavni cilj ovog rada bilo je utvrditi uticaj krioprezervacije na integritet DNA i stepen njene fragmentacije u humanim spermatozoidima. Materijal i metode: U ovu studiju bilo je uključeno 30 muškaraca prosječne starosti 35 godina podijeljeni sa područja Tuzlanskog kantona. Ispitanicu su podijeljeni u dvije skupine, A skupina muškarci sa normalnim spermogramom i B skupina, muškarci sa aberantnim spermogramom. Za analizu integriteta DNA u spermatozoidima korišten je test analize disperzije hromatina (engl. Sperm Chromatin Dispersion (SCD) (Halosperm test)) prije i poslije zamrzavanja sjemene tekućine na temperaturi od -196 °C. Ova metoda omogućava mikroskopsku vizuelizaciju signala u vidu areole različite veličine zavisno od stepena fragmentacije DNA u glavi spermatozoida (Halosperm test). Za utvrđivanje statistički značajne razlike u stepenu fragmentacije DNA u humanim spermatozoidima korišten je t-test uparenih uzoraka uz nivo statističke značajnosti od 95% i Kolmogorov-Smirnovog testa za analizu normalnosti distribucije podataka stepena fragmentacije DNA u humanim spermatozoidima prije i poslije krioprezervacije. Rezultati: Analizom spermograma 30 muškaraca utvrđena je: normozoospermija 26,67%, asthenozoospermija 16,67%, oligozoospermija 20,00% i oligoasthenozoospermija 36,67%. Halosperm testom, za cijeli uzorak od 30 ispitanika, utvrđen je povećan stepen fragmentacije DNA u humanim spermatozoidima nakon krioprezervacije (srednja vrijednost 41,57%, standardna devijacija 26,69%) u odnosu na stepen fragmentacije prije zamrzavanja sjemene tekućine (srednja vrijednost 39,83%, standardna devijacija 26,09%) uz vrijednost t testa -13,405 za 29 stepeni slobode i nivo značajnosti $p < 0,001$ (obostrano). Ukoliko posmatramo vrijednosti Halosperm testa samo za ispitanike skupine A, fertile muškarce, također je utvrđen je povećan stepen fragmentacije DNA u humanim spermatozoidima nakon krioprezervacije (srednja vrijednost 20,54%, standardna devijacija 13,47%), uz vrijednost t testa -8,786 za 7 stepeni slobode i nivo značajnosti $p < 0,001$ (obostrano). Posmatrajući vrijednosti Halosperm testa za ispitanike skupine B, infertilne muškarce, isto tako uočavamo povećan stepen fragmentacije DNA u humanim spermatozoidima nakon krioprezervacije (srednja vrijednost 49,22%, standardna devijacija 26,34%), uz vrijednost t testa -13,269 za 21 stepen slobode i nivo značajnosti $p < 0,001$ (obostrano). Poređenjem prethodnih podataka za skupinu A (fertilni muškarci) i skupinu B (infertilni muškarci) dolazimo do slijedećeg. Postoji statistički značajna razlika u stepenu fragmentacije DNA u spermatozoidima između fertilnih i infertilnih muškaraca prije i poslije krioprezervacije. Zaključci: Dobijeni rezultati pokazuju da Halosperm test značajno doprinosi utvrđivanju stepena fragilnosti DNA u humanim spermatozoidima i genetičkih uzroka muške neplodnosti. Rezultati Halosperm testa prije i poslije zamrzavanja sjemene tekućine ukazuju na potencijalni uticaj zamrzavanja na integritet DNA što upućuje na neophodnost brzih skrining analiza disperzije hromatina u spermatozoidima nakon krioprezervacije. S tim u vezi, Halosperm test može unaprijediti kvaliteteniji odabir muških spolnih stanica u potpomognutoj oplodnji. Kombinacija standardnih metoda analize spermograma sa metodama analize integriteta DNA u muškim spolnim stanicama može unaprijediti dijagnostiku i liječenje muške neplodnosti. Ključne riječi: krioprezervacija, DNA fragmentacija, Halosperm test</p>
Datum	09.10.2020
Predsjednik	Dr.sc. Vesna Hadživadić, vanredni profesor, za užu naučnu oblast „Genetika, biologija ćelije i mikrobiologija“, Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Tuzli
Mentor	Dr.sc. Amela Jusić, vanredni profesor, za užu naučnu oblast „Genetika, biologija ćelije i mikrobiologija“, Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Tuzli
Član komisije	Dr.sc. Suad Širanović, docent, za užu naučnu oblast „Genetika, biologija ćelije i mikrobiologija“, Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Tuzli
Član komisije	-
Član komisije	-
Zamjenski član	Dr.sci. Adisa Ahmić, vanredni profesor za užu naučnu obla, „Genetika, biologija ćelije i mikrobiologija“ Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Tuzli
Dodatni detalji i lokacija	Novi termin odbrane: u petak 09.10.2020. godine u Sali broj: 203 Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Tuzli, sa početkom u 10 sati. Stari termin odbrane: u četvrtak 24.09.2020. godine u Sali broj: 203 Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Tuzli, sa početkom u 11 sati NAPOMENA: Odbrana završnog magistarskog rada iz opravdanih razloga odgađa se do daljnjeg, . Novi termin odbrane završnog magistarskog rada biti će naknadno objavljen.
Završne Odredbe	Pristup javnosti je slobodan. Rad se može pogledati u Sekretarijatu fakulteta radnim danom od 08 do 14 sati.