

Etiologi Infertilitas pada Pria Akibat dari Mutasi DNA Mitokondria (mtDNA)

Sri Utami

*Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha,
Jl. Prof. drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia*

Abstract

Infertility has affected about 10–15 per cent married couples. Almost half of infertility cases have been attributed to men with low sperm motility (asthenozoospermia), low sperm count (oligozoospermia), and abnormal sperm morphology (teratozoospermia). Sperm motility is one of the major determinants of male fertility and is required for successful fertilization. Mitochondrion and mitochondrial DNA (mtDNA) play an important role in a variety of physiological processes. The mitochondrial function is controlled by a collaboration of nDNA and mtDNA. The accumulation of mtDNA mutations has been suggested to be an important contributor to human aging and degenerative diseases, and it can also impair the formation of sperm dysfunction. As mitochondria supply energy by oxidative phosphorylation system (OXPHOS), any mutation in mtDNA will disrupt ATP production and thus result in an impaired spermatogenesis and flagellar movement. More than 100 point mutations have been known to be associated with various human mitochondrial diseases, but so far only a few studies have reported mutations in mtDNA of the spermatozoa. An mtDNA mutation will comprise point mutation, microdeletion, multiple deletion, translocation, and haplogroup mtDNA.

Key words: *male infertility, mitochondria, mtDNA, mutation, sperm.*

Pendahuluan

Infertilitas merupakan suatu keadaan yang menyebabkan kegagalan konsepsi pada pasangan yang telah menikah lebih dari satu tahun, yang tidak menghasilkan keturunan meskipun tidak mengikuti program keluarga berencana.¹ Frekuensi infertilitas sekitar 10 - 15% dari pasangan, dan sekitar setengah (40%) dari kasus tersebut disebabkan oleh kelainan pada pria. Setengah dari kasus infertilitas pria tersebut disebabkan oleh rendahnya motilitas sperma (*asthenozoospermia*) dan atau jumlah sperma (*oligozoospermia*), dan kelainan morfologis sperma (*teratozoospermia*).^{2,3} Kriteria yang digunakan oleh WHO tahun 1999, tentang fertilitas pria

normal meliputi jumlah, motilitas, dan morfologi sperma.^{4,5}

Infertilitas pria menjadi masalah yang umum di seluruh dunia. Kelainan anatomis sperma, endokrinopati, masalah imunologis, kegagalan ejakulasi, dan pajanan dari lingkungan (radiasi, kemoterapi), mutasi gen, aneuploidi, *varicocele*, infeksi saluran genital, dan disfungsi erektil, merupakan etiologi dari infertilitas pria. Sekitar setengah dari pasien infertilitas mempunyai penyebab yang tidak jelas dan kasus ini didiagnosis sebagai infertilitas idiopati.¹

Pada tingkat molekuler, salah satu penyebab infertilitas adalah stres

oksidatif (OS) karena produk *reactive oxygen species* (ROS), baik endogen maupun eksogen melebihi tingkat antioksidan di dalam tubuh. Molekul-molekul ROS endogen diproduksi di dalam mitokondria. Penelitian yang difokuskan pada ROS membuktikan bahwa golongan senyawa-senyawa tersebut dapat mengganggu spermatogenesis dan morfologi sperma, sehingga fungsi sperma menjadi cacat dan menyebabkan infertilitas.^{1,6}

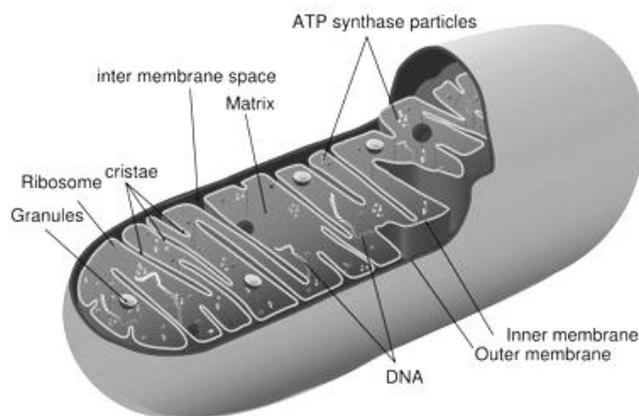
Saat ini lebih dari 100 mutasi titik (*point mutation*) pada mitokondria telah ditemukan dan berhubungan dengan penyakit-penyakit manusia, namun baru beberapa mutasi mtDNA yang dilaporkan terjadi pada spermatozoa.¹

Berbagai metoda pemeriksaan digunakan untuk mengidentifikasi infertilitas mengingat etiopatologi infertilitas yang bervariasi, antara lain pemeriksaan nDNA dan mtDNA semen menggunakan teknik PCR, gel elektroforesis, ekstraksi semen, pengukuran aktivitas flagela, imunositokimia, analisis aktivitas enzim dan determinasi biokimiawi mitokondria.^{6, 7, 8}

Genom Mitokondria (mtDNA)

Mitokondria merupakan organel semiotonom, yang memiliki genom (*mitochondrial DNA*=mtDNA) dan ribosom sendiri. Terdapatnya genom di dalam matriks, menyebabkan mitokondria mampu melakukan replikasi mtDNA dan mengekspresikan gennya (sintesis protein) yang dikatalisis oleh enzim dan diatur oleh faktor protein yang dikode oleh DNA nukleus (nDNA). Replikasi mtDNA bergantung pada gen dari nDNA yang disebut *nuclear-encoded polymerase gamma* atau PLOG dan *mitochondrial transcription factor A* (MTFA).^{3,8}

Mitokondria mempunyai peran yang vital karena membebaskan energi adenosin trifosfat (ATP) dalam respirasi aerob yang diperlukan untuk aktivitas metabolisme sel (Gambar 1).⁹ Selain berperan dalam pelepasan energi, mitokondria juga terlibat dalam pengaturan apoptosis sel dan homeostasis kalsium.^{5, 10, 11}



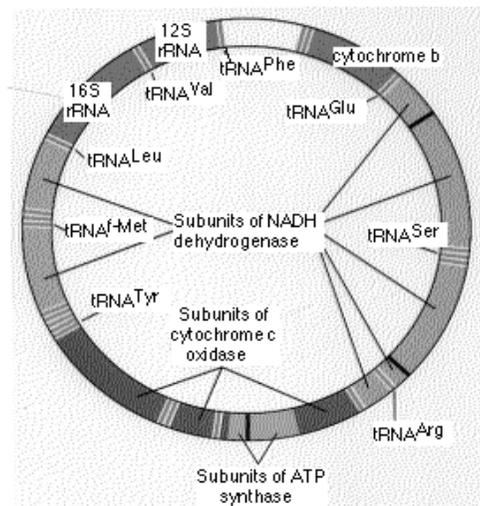
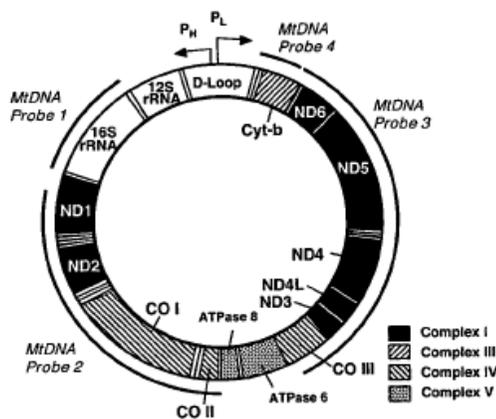
Gambar 1.

Struktur Mitokondria.⁹

Skema

Struktur mtDNA merupakan untai ganda/*double strand* yaitu *strand* H (bagian luar, kaya dengan guanin) dan L (bagian dalam, kaya dengan sitosin), yang berbentuk sirkuler dengan ukuran 16569 pasang basa (bp) dan mengandung 37 genom mtDNA. Segmen *displacement loop* (D-loop), daerah 1121 bp, mengandung *origin of replication* dari rantai H dan promoter untuk transkripsi *strand* L dan H, sehingga segmen ini penting untuk replikasi mtDNA.^{1,12} *Strand* H mengkode 12 protein, 14 tRNA, dan 2 rRNA (diperlukan untuk ekspresi mRNA), sedangkan *strand* L

mengkode 1 protein (ND6) dan 8 tRNA. Gen-gen yang dikode oleh genom mitokondria dan diatur oleh nDNA, meliputi kompleks I (NADH dehidrogenase; ND1; 2; 3; 4; 4L; 5; dan 6), kompleks III (ubiquinol; cytochrome C *oxidoreductase*), kompleks IV cytochrome b (cytochrome c oxidase; COI; II; dan III), kompleks V (ATP synthase; ATPase 6 dan 8) (Gambar 2A dan B).^{1, 3, 10, 12, 13} Dengan demikian, mayoritas subunit rantai traspor elektron (ETC) dikontrol oleh nDNA kecuali kompleks II yang gen-gennya dikode oleh mtDNA.¹²



Gambar 2 A, B. Mapping mtDNA Mitokondria. Gambar A menunjukkan seluruh genom dan gambar B menunjukkan posisi tRNA dan rRNA yang dikode oleh *strand* L.^{13, 14}

Mutasi mtDNA

Genom mitokondria hanya memiliki ekson, tidak mengandung intron dan histon. Protein histon dianggap sebagai dasar dari mekanisme pemulihan terhadap kerusakan gen,

dengan demikian genom mtDNA kurang terlindungi. Mutasi yang terjadi pada mtDNA 10 – 100 kali lebih tinggi

daripada nDNA.^{3, 10, 14}

Telah diketahui bahwa mutasi yang terjadi pada mtDNA dikaitkan dengan beberapa penyakit degeneratif yang

bersifat multisistem. Kondisi-kondisi degeneratif seperti kebutaan akibat neuropati optik herediter (*Leber's syndrome*), beberapa kelainan miopati dan kardiomiopati merupakan akibat

dari mutasi mtDNA. Delesi dalam skala besar menyebabkan *ophthalmoplegia* eksterna kronis (CPEO), *Kearns-Sayre syndrome* (KSS) dan *Pearsons marrow-pancreas syndrome*. Pada umumnya, sekitar 40% dari pasien *mitochondrial myopathy* mengalami mutasi delesi mtDNA pada 4977 bp, dengan *break point* 13 bp, dari 5'-ACCTCCCTCACCA-3'.^{3,15,16}

Di dalam jaringan tubuh, mitokondria bersifat heteroplasma, yang berarti di dalam jaringan yang sama bisa terdapat mutan mtDNA dan *wild type* mtDNA.^{1,16} Pasien dengan akumulasi mutasi delesi mtDNA pada 4977 bp yang telah disebutkan di atas, disamping menderita *mitochondrial myopathy* juga mengalami penurunan fertilitas dan motilitas.^{7,16}

Hubungan Mutasi mtDNA dengan Infertilitas Pria

Salah satu penentu fertilitas pria adalah motilitas sperma.⁷ Sperma memerlukan energi yang besar sehingga dapat berfungsi secara layak untuk keberhasilan fertilisasi. Lokasi mitokondria dalam sperma yang unik yaitu terletak pada bagian basal dari flagela (*mid piece*), berperan penting dalam ketersediaan energi secara efektif dan cepat. Tetapi, motilitas sperma yang sangat bergantung pada fungsi respirasi mitokondria, dapat diprediksi bahwa akumulasi mutasi yang bersifat patogenik dari mtDNA dan kelainan respirasi menyebabkan disfungsi sperma dan infertilitas.^{1,2,3}

Pengamatan pada sel tunggal secara *in vitro*, menunjukkan bahwa sebelum terjadi kelainan pada rantai respirasi, sel-sel perlu mengekspresikan dalam persentase yang tinggi mutan mtDNA.^{6,10,16} Untuk mengetahui adanya

hubungan antara mutasi mtDNA dengan motilitas sperma, telah diteliti dua sampel semen dari pria yang mengalami mutasi mtDNA A3243G, yang diturunkan secara maternal.¹⁶ Sampel semen ini dipisahkan ke dalam fraksi yang berbeda yang didasarkan atas motilitas sperma dan pengukuran persentase mutan mtDNA. Konsentrasi, motilitas, dan kinematika dari masing-masing sampel ditentukan menggunakan *sistem deep microcell chamber* dan *computer assisted sperm analysis* (CASA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada tingkat volume semen yang normal, terdapat konsentrasi dan motilitas abnormal. Analisis fraksinasi *Percoll* membuktikan bahwa terdapat hubungan negatif antara motilitas sperma dengan mutasi A3243G dari kedua sampel. Pada tingkat mutasi yang lebih tinggi menunjukkan motilitas yang lebih rendah.^{6,7,16} Pengamatan kedua pasien tersebut di atas, secara langsung menunjukkan bahwa mutasi delesi mtDNA A3243G menyebabkan disfungsi sperma, tetapi mutasi *carrier* yang asimptomatik kemungkinan motilitas spermanya adalah normal.¹⁶

Mengingat bahwa kelainan respirasi bisa terjadi akibat mutasi nDNA maupun mtDNA, maka untuk meyakinkan bahwa energi yang digunakan untuk motilitas sperma, lebih banyak berasal dari respirasi sistem respirasi oksidatif mitokondria (OXPHOS) bila dibandingkan dengan glikolisis, dilakukan dua macam percobaan. Percobaan pertama menggunakan mencit yang mengalami kelainan ekspresi enzim gliseraldehid-3-fosfat dehidrogenase dan percobaan kedua menggunakan mencit transmitokondria (*mito-mice*) yang membawa mtDNA patogen (Δ mtDNA).

Mito-mice ini merupakan mencit yang mengalami delesi 4696 bp dari posisi nukleotida 7759 bp pada gen *tRNA^{Lys}* yang berpindah (translokasi) ke posisi 12454 pada gen *ND5* (mutan Δ mtDNA ini sama seperti pada manusia dengan penyakit yang umum terjadi akibat delesi pada *mtDNA*). Penelitian membuktikan bahwa akumulasi mutasi pada Δ mtDNA menginduksi oligozoospermia dan asthenozoospermia. Sebagian besar *mito-mice* adalah infertil dan pengamatan pada testis menunjukkan berhentinya proses meiosis pada tahap zigoten, juga terjadi peningkatan apoptosis.^{1,10}

Sekitar 11-12% dari kasus infertilitas, mtDNA mengalami mutasi titik (*point mutation*) yang spesifik pada daerah kompleks I (ND5) yaitu pada urutan nukleotida 11719 dan kompleks IV (COI) pada nukleotida 9055.^{1,3} Beberapa laporan lainnya menyatakan bahwa asthenozoospermia dan oligozoospermia berkaitan dengan mutasi titik, delesi berulang, substitusi, polimorfisme nukleotida tunggal (*haplogroup*), delesi pada alel DNA polimerase γ mitokondria, dan mutasi pada *glutathion S-transferase M1*.⁵

Mutasi yang terjadi pada nDNA, bisa menyebabkan mitokondria cacat, karena sel cenderung mengalami delesi berulang pada mtDNA. Mutasi ini berakibat pada kelainan fungsi respirasi sebagai akibat koordinasi ekspresi gen dari genom nukleus dan mitokondria.³ Koordinasi antara genom nukleus dan mitokondria juga dinyatakan oleh Panloup dkk (2003), bahwa penurunan jumlah *copy* mtDNA pada sampel sperma dari pasien infertil merupakan akibat dari penurunan faktor transkripsi A (*tfam*) dari nDNA yang mengkode banyaknya *copy* mtDNA.⁵

Delesi dari protein kapsul mitokondria yang disebut *mitochondrial capsule selenoprotein* (Mscp) dan *sperm mitochondria-associated cysteine-rich protein* (Smcp), dapat mempengaruhi motilitas sperma meskipun sperma tampak normal secara morfologis. Sedangkan mutasi gen nDNA yang mengkode *mitochondrial voltage-dependent anion channel 3* (Vdac3) pada membran luar mitokondria, menyebabkan flagela abnormal yang mengganggu motilitas sperma selama transit ke epididimis.²

Akumulasi mutasi polimorfisme pada mtDNA terjadi sekitar 10 - 17 kali lebih cepat daripada nDNA.¹ Polimorfisme gen γ polimerase (POLG) sangat berhubungan dengan *oligo* atau *asthenozoospermia*. Polimorfisme ini mengandung pengulangan nukleotida CAG (umumnya 10 kodon), dikode oleh gen *PLOG*, pada kromosom 15q25.^{17,18}

Polimorfisme nukleotida tunggal (SNP) mitokondria T4216C merupakan hasil perubahan satu asam amino histidin yang disubstitusikan ke tirosin pada subunit ND1 dari Kompleks I (NADH *ubiquinone oxidoreductase*). Alel dari T4216C ini diasosiasikan dengan infertilitas pria akibat *asthenozoospermia*, diabetes insipidus, diabetes melitus, atrophi optik, tuli, dan *Leber's hereditary optic neuropathy*. Polimorfisme mitokondria A10398G mengubah threonin menjadi alanin subunit ND3 dari NADH dehidrogenase, yang diasosiasikan dengan neurodegeneratif dan penyakit-penyakit akibat berkurangnya produksi energi atau meningkatnya produk radikal bebas. Polimorfisme A4917G menyebabkan perubahan urutan asam amino asparagin ke asam aspartat pada subunit ND2 kompleks I yang menyebabkan peningkatan ROS dan merusak mtDNA dan nDNA.¹⁹

Hubungan Mutasi mtDNA dan Diferensiasi Sperma

relatif kecil dengan matriks yang pipih. Beberapa mitokondria bergerak ke arah perkembangan flagela dan sisanya berkelompok meninggalkan sperma yang sedang berkembang menuju badan residu, yang akan difagositosis oleh sel-sel Sertoli. Penentuan jumlah mitokondria di dalam flagela, dipengaruhi oleh faktor transkripsi mitokondria A (*tfam*) yang menentukan banyaknya *copy* mtDNA.^{1,5} Dalam setiap *spermatozoon* yang matang terdapat sekitar 22 - 75 mitokondria yang membentuk struktur heliks dan mengandung 11 - 13 gyri, melingkar di sekitar bagian *mid piece*. Setiap gyri terdiri dari dua mitokondria yang mengandung ATP untuk dibawa ke aksonema pada pergerakan flagela.^{1,3,8} Jumlah mitokondria di dalam *mid piece* menentukan motilitas sperma, berkaitan dengan jumlah energi yang dihasilkan. Hasil penelitian menunjukkan, terdapatnya hubungan positif antara aktivitas enzim OXPHOS dengan motilitas sperma.²⁰

Beberapa laporan menyatakan bahwa jumlah mtDNA sangat bervariasi. Penggunaan metoda *Southern blot* semikuantitatif, menunjukkan sperma mencit mengandung sekitar 50 - 75 mtDNA, sedangkan pada manusia sekitar 1.500 kopi. Dengan metode kuantitatif PCR didapatkan bahwa, jumlah mtDNA dalam setiap sperma mencit adalah 10 kopi, sedangkan pada spermatid 150 kopi mtDNA.⁵ Gen-gen mtDNA pada jalur OXPHOS digunakan untuk biosintesis selama spermiogenesis dan untuk motilitas selama fertilisasi.³

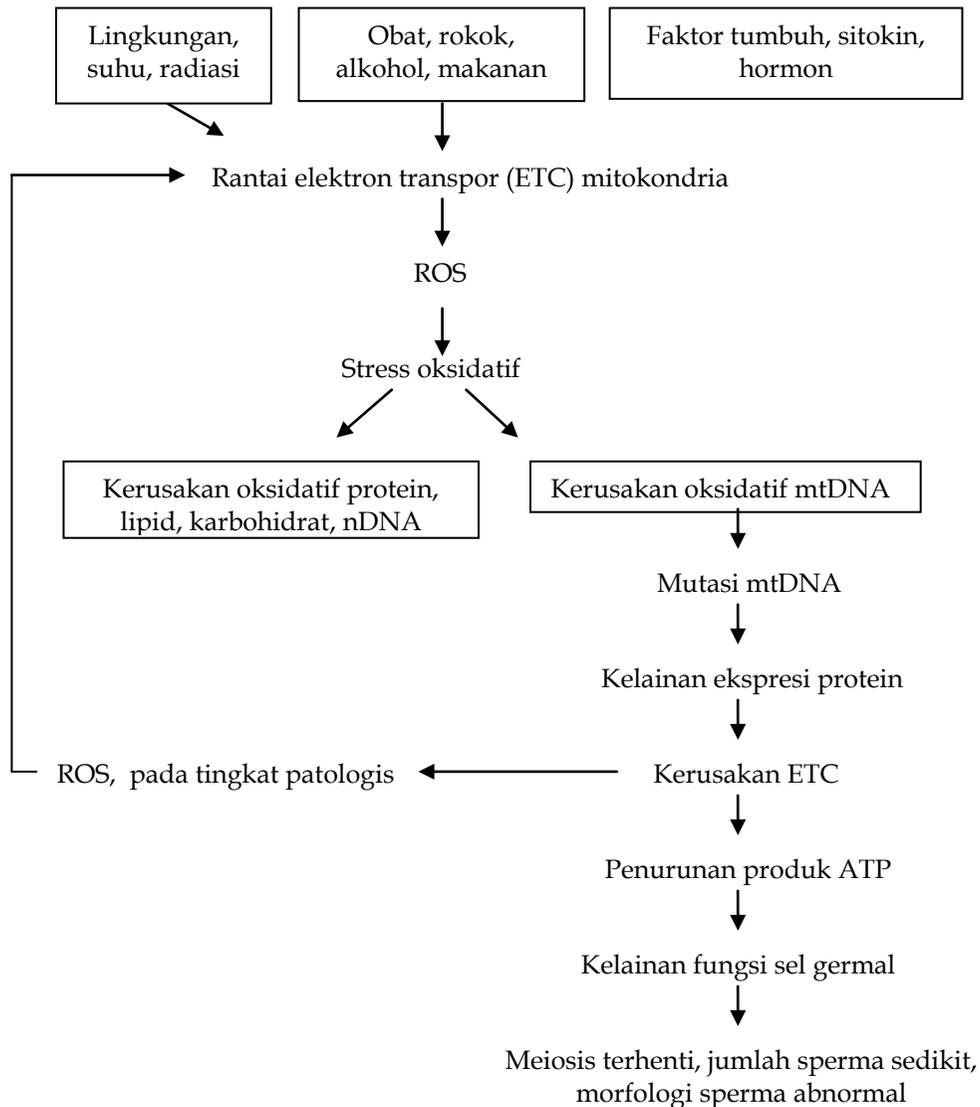
Pada mamalia, pematangan sperma terjadi melalui proses meiosis pada stadium spermatosit. Selama meiosis, mitokondria berbentuk bulat dan

Pada spermatogenesis, aktivitas respirasi dari mitokondria yang cacat banyak mempengaruhi spermiogenesis dan meiosis tahap pakiten profase. Bila mutan patogenik mtDNA banyak terakumulasi di dalam testis, menyebabkan penurunan produksi energi yang dapat menghentikan spermatogenesis dan sel-sel akan dihilangkan secara apoptosis. Dengan demikian, *oligozoospermia* dan *asthenozoospermia* diinduksi oleh terhentinya proses meiosis dan peningkatan apoptosis selama spermatogenesis.³

Peran ROS pada Infertilitas Pria

Molekul histon yang tidak terdapat pada mtDNA menyebabkan kurangnya sistem *repair*.^{12,13} mtDNA secara fisik berhubungan dengan membran dalam, memungkinkan radikal oksigen mutagenik (ROS) yang dibebaskan dari produk OXPHOS lebih meningkatkan mutasi mtDNA.¹² Berbagai tipe mutasi gen termasuk delesi, mutasi titik, polimorfisme, baik pada mtDNA maupun nDNA sperma, disebabkan oleh ROS. Stres oksidatif (OS) merupakan suatu keadaan yang mana produksi ROS lebih tinggi dari tingkat antioksidan. Faktor-faktor fisik, kimiawi, dan biologis yang merusak mitokondria, akan meningkatkan produksi ROS di atas tingkat antioksidan dan ROS juga akan merusak enzim-enzim antioksidan.¹ Letak mtDNA pada matriks yang berdekatan dengan rantai elektron transpor (ETC) pada membran dalam, dapat mengalami kerusakan yang menyebabkan perubahan pada

ETC dan meningkatkan produksi ROS sehingga mengganggu fungsi sperma maupun spermatogenesis. Bagan yang terdapat pada Gambar 3 menyatakan hubungan antara faktor-faktor lingkungan dan kerusakan sperma.¹



Gambar 3. Faktor-faktor Fisik, Kimia, dan Biologis yang Merusak ETC dan Meningkatkan Produksi ROS di atas Tingkat Antioksidan.¹

Pembahasan

Perkembangan industri di beberapa negara berkembang berakibat pada meningkatnya berbagai faktor yang dapat mempengaruhi penurunan jumlah sperma dan peningkatan kondisi

patologis testis dan sperma.⁶ Fungsi sperma yang defektif merupakan salah satu etiologi infertilitas, yang disebabkan oleh bermacam-macam faktor antara lain abnormalitas flagela, stres oksidatif, dan motilitas sperma yang menurun

sehingga gagal untuk mencapai zona pelusida atau gagal melakukan fusi dengan oosit.^{3,6,10}

Mitokondria merupakan organel yang berperan sebagai penyedia energi bagi sperma, melalui fosforilasi oksidatif, tetapi mutasi yang sering terjadi pada mitokondria, menyebabkan fungsi sperma menjadi terganggu.¹ Mutasi mtDNA yang memunculkan fenotip infertil, perlu terjadi secara berulang, karena sifat heteroplasma mitokondria, maka munculnya fenotip *asthenozoospermia*, *oligozoospermia*, *teratozoospermia*, dan *azoospermia*, adalah akibat dari akumulasi mutasi mtDNA yang tinggi.^{1,7,16}

Mutasi mtDNA yang menyebabkan berbagai penyakit degeneratif dan efek penuaan dini telah banyak dilaporkan, namun baru sedikit laporan mengenai mutasi mtDNA yang menyebabkan kelainan fungsi sperma. Kelainan sperma akibat mutasi mtDNA hanya merupakan sebagian kecil dari seluruh mutasi yang bisa terjadi pada sperma.¹ Hal ini mungkin bisa menjadi salah satu bahan pertimbangan bagi adaptasi dan strategi terapi pasangan infertil pada masa yang akan datang.

Beberapa mutasi mtDNA yang telah dilaporkan meliputi mutasi titik (*point mutation*), delesi dan translokasi baik mikro maupun berulang, dan polimorfisme (*haplogroup*). Beberapa contoh mutasi titik pada mtDNA antara lain terjadi pada kompleks I (ND5) pada urutan nukleotida 11719 dan kompleks IV (COI) pada urutan nukleotida 9055.^{1,3} Mutasi ini menyebabkan penurunan jumlah *copy* mtDNA akibat penurunan faktor transkripsi *tfam* yang menyebabkan kelainan proses respirasi dan penurunan motilitas sperma.⁵

Delesi yang terjadi pada posisi 7759 bp gen *tRNA^{Lys}* dan translokasi ke posisi 12454 bp pada gen *ND5*, menyebabkan

oligozoospermia dan *asthenozoospermia*. Sedangkan pengamatan pada testis menunjukkan terhentinya proses meiosis dan peningkatan apoptosis sel-sel germinal. Penelitian ini juga membuktikan bahwa tingkat delesi sebanding dengan tingkat penurunan motilitas sperma.^{1,10}

Gangguan pada mitokondria juga dapat disebabkan oleh mutasi dari gen nukleus (nDNA). Hal ini dapat mengakibatkan terjadinya kelainan morfologis mitokondria dan dapat berakibat pula pada gangguan fertilitas pada pria. Delesi dari gen yang mengkode protein kapsul mitokondria yaitu *mitochondrial capsule selenoprotein* (Mscp) dan *sperm mitochondria-associated cysteine-rich protein* (Smcp), dapat mempengaruhi motilitas sperma meskipun sperma tampak normal secara morfologis. Sedangkan mutasi gen nDNA yang mengkode *mitochondrial voltage-dependent anion channel 3* (Vdac3) pada membran luar mitokondria, menyebabkan abnormalitas pada bagian flagela yang mengganggu motilitas sperma selama transit ke epididimis.²

Penelitian mengenai polimorfisme, sering dilakukan pada *haplogroup* mtDNA, dalam bentuk *single nucleotide polymorphism* (SNP). Penelitian tersebut bertujuan untuk mengetahui efek polimorfisme mtDNA terhadap infertilitas pria, khususnya pada gen-gen yang mengkode polipeptida rantai respirasi mitokondria.¹⁷ *Haplogroup* mtDNA memiliki varian mutan mtDNA yang spesifik di dalam suatu populasi genetik, karena diturunkan secara maternal sehingga dianggap varian fenotip yang muncul akan tetap stabil. *Haplogroup* mtDNA pada manusia dibagi menjadi 3 kelompok utama yaitu L, M, dan N, yang dibagi lagi menjadi 39 subtipe. Orang Asia termasuk kelompok tipe M subtipe E.²¹ Beberapa peneliti

telah melakukan penelitian pada etnik Kaukasia dan disimpulkan bahwa dari beberapa varian *haplogroup* mtDNA yang diteliti, diasosiasikan dengan reduksi motilitas dan jumlah sperma.^{4,22} Varian mutan *haplogroup* yang pernah dilaporkan antara lain adalah T10463C, G15928A, T4216C, A10398G, dan yang terakhir ditemukan adalah A14290G.^{4,19,21,22}

Simpulan

Mitokondria merupakan organel semiotonom yang mampu melakukan replikasi mtDNA dan sintesis protein. Replikasi ini dikatalisis oleh enzim dan dikontrol oleh gen-gen dari nDNA yaitu *PLOG* dan *MTFA*.

Mutasi mtDNA merupakan salah satu faktor penyebab infertilitas pada pria, yang dapat menyebabkan *asthenozoospermia*, *oligozoospermia*, dan *teratozoospermia*. Mutasi yang terjadi pada mtDNA 10 - 100 kali lebih tinggi daripada nDNA, dan perlu terjadi secara berulang sehingga dapat memunculkan fenotip infertil. Mutasi ini antara lain menyebabkan berkurangnya energi dari proses fosforilasi oksidatif (OXPHOS) yang sangat diperlukan dalam proses spermatogenesis dan motilitas sperma. Mutasi mtDNA meliputi mutasi titik (*point mutation*), delesi dan translokasi baik mikro maupun berulang, dan polimorfisme (*haplogroup*).

Daftar Pustaka

1. Venkatesh S, Deecaraman M, Kumar R, Shamsi MB, Dada R. Role of reactive oxygen species in the pathogenesis of mitochondrial DNA (mtDNA) mutation in male infertility. *Indian J Med Res* 2009; 129:127 - 37.

2. Liška F. Selected genetic aspect of male infertility-what animal model tell us. *Folia Biologica (Praha)* 2003; 49:129 - 41.
3. Shamsi MB, Kumar R, Bhatt A, Bamezai R, Kumar R, Gupta NP, et al. Mitochondrial DNA mutations in etiopathogenesis of male infertility. *Indian J Urol* 2008; 24:150-4.
4. Pesini ER, Lapeña AC, Sánchez DC, Martos PA, Montoya J, Alvarez E, et al. Human mtDNA Haplogroups associated with high or reduced spermatozoa motility. *Am J Hum Genet.* 2000; 67(3): 682-696.
5. Panloup PM, Chrétien MF, Savagner F, Vasseur C, Jean M, Malthiery Y, Reynier P. Increased sperm mitochondrial DNA content in male infertility. *Hum Reprod* 2003; 18 (3):550-6.
6. Salehi MH, Housmand M, Bidmeshkipour A, Panahi MSS. Low sperm motility due to mitochondrial DNA multiple deletion. *J Chinese Clin Med.* 2006; 9(1):1-10.
7. Kao S, Chao HT, Wei, YH. Mitochondrial deoxyribonucleic acid 4977 bp deletion is associated with diminished fertility and motility of human sperm. *Biol Reprod.* 1995; 52:729-36.
8. Amaral A, Santos JR, StJohn J. The expression of polymerase gamma and mitochondrial transcription factor A and the regulation of mitochondrial DNA content in mature human sperm. *Hum Reprod.* 2007; 22(6):1585-96.
9. Anonym. Mitochondria. [cited 2009 March 29]. Available from: <<http://en.wikipedia.org/wiki/Mitochondrion>>.
10. Nakada K. Mitochondria-Related Male Infertility. *PNAS*, 2006; 103(41):15148-53.
11. Lu B, Poirier C, Gaspar T, Gratzke C, Harrison W, Busija D, et al. A Mutation in the inner mitochondrial membrane peptidase 2-like gene (*Immp21*) affects mitochondrial function and impairs fertility in mice. *Biol Reprod.* 2008; 78: 601-10.
12. StJohn JC, Sakkas D, Barratt CLR. A Role for mitochondrial DNA and sperm survival. *J Androl* 2000; 21(2):189-99.

13. Ide T, Tsutsui H, Hayashidani S, Kang D, Suematsu N, Nakamura K, et al. Mitochondrial DNA damage and dysfunction associated with oxidative stress in failing hearts after myocardial infarction. *Circ Res.* 2001; 88:529-35.
14. Okamoto, N. & Inouye, I. Endosymbiosis and the origin of eukaryotes. *Science* 2005; 310:287.
15. Johns DR. Mitochondrial DNA and disease. *NEJM.* 1995; 333:638-44.
16. Spiropoulos J, Turnbull DM, Chinnery PF. Can mitochondrial DNA mutation cause sperm dysfunction? *Molec Hum Reprod.* 2002; 8(8): 719-21.
17. Jensen M, Leffers H, Petersen JH, Andersen AN, Jorgensen N, Carlsen E, et al. Frequent polymorphism of the mitochondrial DNA polymerase gamma gene (POLG) in patients with normal spermiograms and unexplained subfertility. *Hum Reprod.* 2004; 19(1):65-70.
18. Vogt PH. Molecular genetic of human male infertility: From genes to new therapeutic perspectives. *Current Pharm Design.* 2004; 10(1): 1-30.
19. Canter JA, Norris PR, Moore JH, Jenkin JM, Morris JA. Specific polymorphic variation in the mitochondrial genome and increased in-hospital mortality after severe trauma. *Ann Surg.* 2007; 246(3): 406-14.
20. Pesini ER, Diez C, Lapena C, Martos AP, Montoya J, Alvarez E, et al. Correlation of sperm motility with mitochondrial enzymatic activities. *Clin Chem* 1998; 44(8):1616-20.
21. Anonym. Haplogroup. [cited 2009 April 1]. Available from: <<http://en.wikipedia.org/wiki/Haplogroup>>.
22. Houshmand M, Mahmoudi T, Panahi MSS, Seyedena Y, Saber S, Ataei M. Identification of a new human mtDNA polymorphism (A14290G) in the NADH dehydrogenase subunit 6 gene. *Brazilian J Med Biol Res.* 2006; 39:725-30.