

Predictive value of oxidative stress testing in semen for sperm DNA fragmentation assessed by sperm chromatin dispersion test

Andrology 2020;8:610-617; DOI: 10.1111/andr.12743

HAITHAM ELBARDISI (1,2), RENATA FINELLI (3), ASHOK AGARWAL (3), AHMAD MAJZOUB (1,2,3), RALF HENKEL (3,4), MOHAMED ARAFA (1,2,3,5)

(1) Male Infertility Unit, Urology Department, Hamad General Hospital, Doha, Qatar, (2) Urology Department, Weill Cornell Medical-Qatar, Doha, Qatar, (3) American Center for Reproductive Medicine, Cleveland Clinic, Cleveland, OH, USA, (4) Department of Medical Bioscience, University of the Western Cape, Bellville, South Africa, (5) Andrology Department, Cairo University, Cairo, Egypt

Correspondence to: Mohamed Arafa, Male Infertility Unit, Urology Department, Hamad General Hospital, Doha, Qatar. Email: mohamedmostafaarafa@gmail.com

Although standard semen analysis is a cornerstone of male infertility investigation, it has significant limitations. Seminal oxidative stress and DNA damage have shown potential to better predict male fertility potential and provide improved diagnostic and management strategies. The aim of this study was to investigate whether seminal oxidation-reduction potential (ORP), a new parameter to measure oxidative stress directly, can accurately predict the percentage of sperm DNA fragmentation (SDF) and thereby serve as a surrogate marker in the evaluation of male infertility. ORP was evaluated in 3968 patients using the MiOXSYS system and SDF in 1147 patients using the Halosperm G2 test kit. Both parameters were analyzed in 1068 patients, along with seminal analysis, according to WHO guidelines 2010 (5th edition). SDF correlated positively with seminal ORP normalized for sperm concentration ($n=1068$; $r=.218$; $p<.0001$) as well as with ORP normalized for the motile sperm concentration (motORP; $n=1068$; $r=.387$; $p<.0001$). MotORP can significantly ($p<.0001$) better predict SDF than ORP normalized for the sperm concentration (area under the curve (AUC): 0.719 vs 0.623) (specificity: 71.5%; sensitivity: 61.9%; PPV: 47.1%; NPV: 82.1%). Moreover, motORP can significantly ($p<.0001$) better predict (AUC: 0.826 vs 0.771) normozoospermia with high sensitivity (82.75%) and specificity (68.5%). Unlike other oxidative stress (OS) markers, ORP provides a global vision of the redox balance in semen. Moreover, SDF can also be induced by mechanisms different from OS, which could explain why its predictive power was low. The higher predictive power of motORP reflects the impact of seminal ROS on motility rather than inherent DNA breaks present in immature and aborted apoptotic spermatozoa. In conclusion, the evaluation of motORP seems a more promising parameter than ORP normalized for sperm concentration for the prediction of SDF and normozoospermia. However, even if ORP and SDF are inter-related, they measure independent sperm functions and one test cannot replace the other in the evaluation of sperm function defects.

Il valore predittivo del testare lo stress ossidativo nel seme per la frammentazione del DNA spermatico determinato con il test di dispersione della cromatina spermatica

Nonostante l'analisi del seme standard sia la pietra miliare per la valutazione dell'infertilità maschile, il suo significato è limitato. Lo stress ossidativo seminale e il danno al DNA hanno mostrato un miglior potenziale nel predire il potenziale della fertilità maschile e nel fornire migliori strategie per la diagnosi e il trattamento. Lo scopo di questo studio fu di valutare se il potenziale ossido-riducente seminale (ORP), un nuovo parametro per misurare direttamente lo stress ossidativo, possa predire accuratamente la percentuale della frammentazione del DNA spermatico (SDF) e se pertanto serva quale marcatore alternativo nella valutazione dell'infertilità maschile. L'ORP fu valutato in 3968 pazienti impiegando il sistema MiOXSYS e il SDF in 1147 pazienti impiegando il test Halosperm G2. Entrambi i parametri furono valutati in 1068 pazienti, insieme alla analisi seminale, in accordo con le linee guida WHO 2010 (5ª edizione). Il SDF correlò positivamente con l'ORP seminale normalizzato per la concentrazione degli spermatozoi ($n=1068$; $r=.218$; $p<.0001$) così come con l'ORP normalizzato con la concentrazione degli spermatozoi mobili (motORP; $n=1068$; $r=.387$; $p<.0001$). Il motORP può significativamente ($p<.0001$) meglio predire il SDF che non l'ORP normalizzato per la concentrazione degli spermatozoi (area sotto la curva (AUC): 0.719 vs 0.623) (specificità: 71.5%; sensibilità: 61.9%; PPV: 47.1%; NPV: 82.1%). Inoltre, il motORP può significativamente ($p<.0001$) meglio predire (AUC: 0.826 vs 0.771) la normozoospermia con una più alta sensibilità (82.75%) e specificità (68.5%). Diversamente da altri marcatori dello stress ossidativo (OS), l'ORP fornisce una visione globale dell'equilibrio redox del seme. Peraltro, il SDF può anche essere indotto da meccanismi diversi dall'OS, il che può spiegare perché il suo potere predittivo sia basso. Il maggiore potere predittivo del motORP riflette l'impatto dei ROS seminali sulla motilità piuttosto delle rotture del DNA innate presenti negli spermatozoi immaturi e abortiti per via apoptotica. In conclusione, la valutazione del motORP sembra un parametro più promettente rispetto all'ORP normalizzato sulla concentrazione degli spermatozoi per la predizione del SDF e della normozoospermia. Tuttavia, anche se l'ORP e il SDF sono inter-correlati, essi misurano funzioni spermatiche indipendenti e l'uno non può rimpiazzare l'altro test nella valutazione dei difetti della funzione spermatica.

Il commento - Abbiamo già avuto modo diverse volte di commentare gli articoli relativi allo stato ossidativo spermatico e alle cause che lo producono e quindi a tali articoli rimandiamo, ponendo tuttavia l'accento sulla metodologia che il Dr. Agarwal propose per la determinazione dell'equilibrio ossido-riducente seminale (il test s-ORP MIOXSYS), test che da qualche anno abbiamo anche noi implementato per una migliore definizione della qualità spermatica. Purtroppo è un test, gestibile solo privatamente, che incrementando significativamente il costo dell'esame base ha ancora poco impiego nella diagnostica italiana. La determinazione dello stato ossido-riducente spermatico è un aspetto fondamentale nella diagnostica delle disfertilità sia per comprendere le ragioni della perdita di equilibrio, sia per la verifica della utilità della terapia. Il parametro sinora impiegato è il valore espresso in funzione della concentrazione degli spermatozoi (normalizzato): mV/milione di spermatozoi e con una soglia di normalità costantemente indicata in <1.34 mV/milione di spermatozoi. Gli Autori ora propongono un passo avanti normalizzando il valore in ragione del milione di spermatozoi mobili, definendo una soglia di normalità indicata in <4.96 mV/milione di spermatozoi mobili. La ragione di tale nuova introduzione sta nel fatto che gli spermatozoi mobili tendono a necessitare di una elevata produzione di ATP da parte dei mitocondri, ma se questi sono disfunzionanti si riduce la produzione di ATP e aumenta la produzione di ROS, con una minore quantità di spermatozoi mobili. Ovviamente, essendo comunque gli spermatozoi mobili una frazione dei totali, l'indice motORP massimo è più alto. L'aspetto interessante è che il riferimento agli spermatozoi mobili coniuga due aspetti: una mobilità inefficiente e una maggiore produzione di ROS legati alla mobilità stessa. Tutto ciò genera in ogni caso un ambiente più ossidato che favorisce le rotture del DNA come dimostra il parallelo incremento del valore di SDF. In altre parole l'inefficienza di una mobilità presente fa aumentare il danno ossidativo del DNA da aumento dei ROS che peraltro possono essere già consistenti per altre ragioni. Come poi ricordano gli Autori il danno al DNA può derivare da altri fattori e quindi il test di frammentazione del DNA (Halotest, per esempio) non deve mai mancare nella valutazione del quadro spermatico. Lo studio ci consente di meglio interpretare i dati spermatici che sempre più non possono solo essere valutati sui dati classici di base, sia in termini diagnostici che terapeutici.