DNA fragmentation in spermatozoa: a historical review

Andrology 2017;5:622-630; DOI: 10.1111/andr.12381

A.S. REX (1,2,3), J. AAGAARD (1) AND J. FEDDER (2,3)
(1) Aagaard Gynaecological Clinic, Aarhus, Denmark, (2) Centre of Andrology & Fertility Clinic, Odense University Hospital, Odense, Denmark, and (3) Department of Clinical Research, University of Southern Denmark, Odense, Denmark
Correspondence to: Jens Fedder, Centre of Andrology & Fertility Clinic, Odense University Hospital, Odense, Denmark. E-mail: jens.fedder@rsyd.dk

Sperm DNA Fragmentation has been extensively studied for more than a decade. In the 1940s the uniqueness of the spermatozoa protein complex which stabilizes the DNA was discovered. In the fifties and sixties, the association between unstable chromatin structure and subfertility was investigated. In the seventies, the impact of induced DNA damage was investigated. In the 1980s the concept of sperm DNA fragmentation as related to infertility was introduced as well as the first DNA fragmentation test: the Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA). The terminal deoxynucleotidyl transferase nick end labelling (TUNEL) test followed by others was introduced in the nineties. The association between DNA fragmentation in spermatozoa and pregnancy loss has been extensively investigated spurring the need for a therapeutic tool for these patients. This gave rise to an increased interest in the aetiology of DNA damage. The present decade continues within this research area. Some of the more novel methods recently submerging are sorting of cells with increased DNA fragmentation and hyaluronic acid (HA) binding techniques. The clinical value of these tests remains to be elucidated. In spite of half a century of research within the area, this analysis is not routinely implemented into the fertility clinics. The underlying causes are multiple. The abundance of methods has impeded the need for a clinical significant threshold. One of the most promising methods was commercialized in 2005 and has been reserved for larger licensed laboratories. Myriads of reviews and meta-analyses on studies using different assays for analysis of DNA fragmentation, different clinical Artificial Reproductive Treatments (ART), different definitions of successful ART outcome and small patient cohorts have been published. Although the area of DNA fragmentation in spermatozoa is highly relevant in the fertility clinics, the need for further studies focusing on standardization of the methods and clinical implementation persists.

La frammentazione del DNA negli spermatozoi: la revisione della storia

La frammentazione del DNA spermatico è stat studiata estensivamente per più di una decade. Negli anni '40 fu scoperta l'unicità del complesso delle proteine degli spermatozoi che stabilizzano il DNA. Negli anni cinquanta e sessanta fu analizzata l'associazione tra la struttura della cromatina instabile e la subfertilità. Negli anni settanta fu analizzato l'impatto del danno indotto al DNA. Negli anni '80 fu introdotto il concetto della frammentazione del DNA spermatico in relazione all'infertilità così come il primo test per la frammentazione del DNA: l'analisi della struttura della cromatina spermatica (SCSA). il test di marcatura dell'interruzione tramite la transferasi deossinucletidica terminale (TUNEL) seguito da altri fu introdotto negli anni '90. L'associazione tra la frammentazione del DNA negli spermatozoi è l'interruzione della gravidanza fu estensivamente analizzata stimolando la necessità di un metodo terapeutico per questi pazienti. Ciò diede inizio all'aumento di interesse per l'eziologia del danno del DNA. Nell'attuale decade si continua in questa area di ricerca. Alcuni dei più nuovi metodi recentemente non ancora chiariti sono le tecniche della selezione delle cellule con frammentazione del DNA aumentata e con capacità di legame all'acido jaluronico (HA). Il valore clinico di questi test rimane da chiarire. Nonostante un mezzo secolo di ricerca in questa area, questa analisi non è implementata usualmente nelle cliniche per la fertilità. Le cause sottostanti sono multiple. L'abbondanza dei metodi ha impedito di definire una soglia significativa per la clinica. Uno dei metodi più promettenti fu commercializzato nel 2005 ed è stato riservato ai laboratori con ampia licenza. Sono stati pubblicate miriadi di revisioni e meta-analisi sugli studi impiegando differenti metodi di analisi della frammentazione del DNA, differenti trattamenti clinici di riproduzione artificiale (ART), differenti definizioni di successo dell'esito della ART e piccoli gruppi di pazienti. Per quanto l'area della frammentazione del DNA degli spermatozoi sia fortemente rilevante nelle cliniche per la fertilità, persiste la necessità di ulteriori studi per focalizzare la standardizzazione dei metodi e della implementazione clinica.

Il commento - E' sempre utile svolgere ogni tanto una attenta riflessione sul percorso svolto dalla scienza in un settore, tanto più quanto ciò serve a fare il punto della situazione su alcuni eventi. Gli Autori si occupano di fare ciò in relazione alla frammentazione del DNA e al suo impatto nella capacità fertile. Evidenziano il lungo percorso svolto, costituito sostanzialmente dalla acquisizione di metodi sempre più semplici e affidabili per evidenziare la percentuale di spermatozoi con DNA frammentato: infatti è ormai ben consolidato il fatto che il DNA frammentato rende difficile se non impossibile la fecondazione e porta ad un incremento del rischio, quando la fecondazione avvenga, di interruzione della gravidanza o della costituzione

di malformazioni e/o disfunzioni congenite nel nascituro, ma è anche bene sottolineare che potrebbe aumentare il rischio di insorgenza di patologie successive quando verranno attivate le informazioni che saranno alterate per effetto della frammentazione stessa. Tutto ciò dipende dal grado di frammentazione che possiede lo spermatozoo fecondante ed è bene sottolineare che frammentazioni modeste possono essere ben riparate nel corso delle prime divisioni cellulari. I test attuali non sono in grado ancora di definire il grado specifico della frammentazione ma solo di evidenziarne l'esistenza e il test Halo associato al test HA (vedi anche la nostra scheda relativa allo spermiogramma nel sito) si dimostrano essere due buoni test di valutazione sia per affidabilità che per semplicità esecutiva. Peraltro lo specifico kit selettivo con HA può essere impiegato in sede di ART per la acquisizione del migliore spermatozoo. Gli Autori sottolineano anche le possibili ragioni dell'incremento della frammentazione del DNA spermatico e indicano come gli studi svolti finora mettano in gioco diverse e variabilmente coesistenti condizioni (fumo, farmaci, nutrizione, stress, varicocele, infezioni, età), tutte convergenti nell'incremento dello stato ossidativo che pertanto è sempre utile sia determinato (un ottimo test e rapido test si è rivelato essere il s-ORP come evidenziato anche nella nostra scheda relativa allo spermiogramma nel sito). Gli Autori infine sottolineano il fatto che nonostante il lungo e ampio dibattito scientifico il parametro della frammentazione del DNA spermatico (il test DFI) e dell'adesività all'ovocito (il test HA), nonché il grado di stato ossidativo (il test s-ORP) non siano ancora adeguatamente diffusi nella diagnostica dell'infertilità e/o della disfertilità, mentre sarebbero estremamente utili per indirizzare i pazienti al migliore percorso terapeutico… poiché i test sono disponbili e con costi relativamente contenuti, possiamo solo invitare gli andrologi a riflettere sulla questione e a far proprie le considerazioni svolte.