

Valutazione dei telomeri degli spermatozoi

La replicazione semi-conservativa del DNA comporta un progressivo accorciamento delle estremità cromosomiche, negli organismi con cromosomi lineari, e rappresenta pertanto una potenziale causa di perdita di materiale genetico. Nella specie umana, le estremità cromosomiche di DNA, dette “telomeri”, sono formate da filamenti a doppia elica di 5-20 kilobasi caratterizzate dalla ripetizione di sequenze 5'-TTAGGG-3'/3'-CCCTAA-5' che terminano in una coda 3' di 50-300 basi a singolo filamento ricca di basi G .

L'integrità dei telomeri ha un ruolo chiave nella stabilità cromosomica e rappresenta un importante check-point nel controllo della proliferazione cellulare; di conseguenza si tratta di un fattore chiave in processi biologici quali la senescenza o la crescita neoplastica.

Il mantenimento dei telomeri è affidato a meccanismi complessi non del tutto chiariti; uno di essi è rappresentato dall'attività dell'enzima telomerasi. Si tratta di un complesso proteico con diversi regolatori e cofattori dotato di attività di retrotrascrizione.

I telomeri degli spermatozoi presentano una importante peculiarità rispetto alle cellule somatiche: non subiscono accorciamento con l'avanzare dell'età per assicurare l'integrità del materiale genetico trasmesso alla prole.

Lo studio della correlazione tra lunghezza dei telomeri e potenziale di fertilità rappresenta un obiettivo attuale della medicina della riproduzione che tuttavia ha fornito, ad oggi, risultati contrastanti soprattutto sulla relazione tra lunghezza dei telomeri, ploidia e frammentazione del DNA. E' interessante notare come, secondo alcuni autori, esista una correlazione positiva tra lunghezza dei telomeri e quantità di spermatozoi prodotti (Ferlin et al., 2013, Yang et al., 2015, Cariati et al., 2016); in particolare, la condizione di oligospermia sarebbe associata a telomeri particolarmente corti.

Per quanto riguarda le tecniche di PMA, secondo un recente studio preliminare (Cariati et al., 2016), sarebbe molto ridotta, o nulla, la probabilità di ottenere una gravidanza in seguito a fecondazione in vitro in soggetti caratterizzati da spermatozoi con telomeri particolarmente lunghi o particolarmente corti. In precedenza era stato evidenziato che la lunghezza dei telomeri degli spermatozoi fosse correlabile con la qualità degli embrioni ottenuti in vitro, pur non essendo predittiva del tasso di gravidanza (Yang et al., 2015).

Queste osservazioni suscitano interesse per una possibile applicazione clinica dello studio della lunghezza dei telomeri nel percorso diagnostico e terapeutico del maschio infertile.

Allo stato attuale non esistono sufficienti evidenze per suggerire l'uso routinario di questo tipo di indagine, che rappresenta tuttavia un innovativo strumento per l'analisi genetica del gamete maschile (principalmente insieme a integrità del DNA e aneuploidie).

Lo studio della lunghezza dei telomeri presenta il vantaggio di essere semplice, economico e ripetibile basandosi generalmente su un saggio di PCR quantitativa (Cawthon 2002, Ferlin et al., 2013) da applicare con primer telomerici specifici al DNA degli spermatozoi dopo opportuna estrazione. Il risultato sarà riferito alla lunghezza media dei telomeri per pool di

spermatozoi utilizzati . Per aumentare l'accuratezza dell'analisi, la normalizzazione deve avvenire preferibilmente rispetto a un gene in singola copia.

Il valore diagnostico della lunghezza dei telomeri negli spermatozoi rimane ancora da validare. I dati presenti in letteratura rappresentano un importante bagaglio di conoscenze utili per disegnare e condurre appropriati studi clinici che possano evidenziare un ruolo nella diagnostica o nel trattamento dell'infertilità.

Referenze

Aston, K.I., Hunt, S.C., Susser, E., Kimura, M., Factor-Litvak, P., Carrell, D., Aviv, A. 2012. Divergence of sperm and leukocyte age-dependent telomere dynamics: implications for male-driven evolution of telomere length in humans. *Mol. Hum. Reprod.* 18: 517–522

Cariati F, Jaroudi S, Alfarawati S, Raberi A, Alviggi C, Pivonello R, Wells D. 2016. Investigation of sperm telomere length as a potential marker of paternal genome integrity and semen quality. *Reprod Biomed Online.* 33:404-411.

Cawthon RM. 2002. Telomere measurement by quantitative PCR. *Nucleic Acids Res.* 15;30:e47.

Ferlin, A., Rampazzo, E., Rocca, M.S., Keppel, S., Frigo, A.C., De Rossi, A., Foresta, C. 2013. In young men sperm telomere length is related to sperm number and parental age. *Hum. Reprod.* 28: 3370–3376.

Wright W.E., Tesmer V.M., Huffman K.E., Levene S.D., Shay J.W. 1997. Normal human chromosomes have long G-rich telomeric overhangs at one end. *Genes Dev.*;11:2801–2809.

Yang, Q., Zhang, N., Zhao, F., Zhao, W., Dai, S., Liu, J., Bukhari, I., Xin, H., Niu, W., Sun, Y. 2015. Processing of semen by density gradient centrifugation selects spermatozoa with longer telomeres for assisted reproduction techniques. *Reprod. Biomed. Online* 31: 44–50.

Yang Q, Zhao F, Dai S, Zhang N, Zhao W, Bai R, Sun Y. 2015. Sperm telomere length is positively associated with the quality of early embryonic development. *Hum Reprod.*30:1876-1881.