

RETÓRICA Y FRAGMENTACIÓN DEL ADN EN EL ESPERMATOZOIDE

Un espermatozoide que se considere de calidad óptima para ser utilizado con técnicas de reproducción asistida debiera cumplir una serie de parámetros de calidad bien conocidos. Pero en último término, es la molécula de ADN la que debiera albergar el menor número de errores posibles para producir una descendencia viable. Mientras que algunos defectos del espermatozoide que se relacionan con errores ligados a la fisiología normal del espermatozoide, son parcialmente eludibles gracias fundamentalmente a las técnicas de reproducción asistida, los defectos que atañen al ADN, no lo son. O si lo son, será la maquinaria de reparación del oocito, la que en el estado de pronúcleo, se encargue de tal menester. Si el ADN se transmitió con roturas que afectaran a una, o peor, a las dos cadenas de la molécula, se podrá generar un resultado letal o deletéreo sobre el embrión. Resulta obvio, por tanto, que la integridad de la molécula de ADN del espermatozoide es un requisito no dispensable para lograr un correcto desarrollo embrionario y obtener un embarazo normal.

En consonancia con esta realidad, en los últimos años, el estudio de los niveles de fragmentación del ADN en los espermatozoides se ha convertido en un tema de gran relevancia. Su correcta determinación no sólo proporciona información trascendental en el campo estricto de la fertilidad, sino también en el caso de muchas patologías andrológicas como el varicocele, infecciones, cáncer, exposición a genotóxicos, situaciones de estrés etc. Desde este punto de vista, el análisis de la fragmentación del ADN debería ser un parámetro adicional en la evaluación de la calidad seminal y complementario a aquellos que son habituales en un seminograma. Sin embargo, la realidad es otra y a pesar de la abumadora cantidad de trabajos publicados, la fragmentación del ADN de los espermatozoides no se suele estudiar de modo rutinario en nuestros pacientes. ¿Cuál es la causa de esta demora?. No es asumible la consideración de que la “calidad” de la molécula de ADN, en su más estricta ortodoxia, no tiene ninguna importancia en la capacidad que tiene una pareja para generar un embrión normal. Sería muy difícil que partiendo de una molécula de ADN fragmentado, se consiguiera un embrión normal. Mi impresión particular y probablemente equivocada, como la mayoría de las opiniones que tan sólo se sustentan en sensaciones recibidas por la interacción con otros colegas dentro del área clínica, es que, la prevención, por evitar la palabra miedo, ante lo desconocido desde un punto de vista tecnológico, es lo que viene impidiendo que el análisis del ADN se realice de forma rutinaria en muchos centros de reproducción asistida. Y quizás, en algunos casos esa prevención no esté desprovista de razón. Muchas de las técnicas para el análisis de la fragmentación del ADN no son de ejecución sencilla. La molécula de ADN se blindó evolutivamente hasta para eso. Una gran parte de las técnicas al uso que permiten analizar la integridad de la molécula de ADN se basan en las peculiaridades que confieren las propias roturas a dicha molécula. De esta forma, los extremos que generan las roturas son “susceptibles” de ser reconocidos por ciertas enzimas que catalizan la incorporación de nucleótidos marcados. Por ejemplo, la *in situ* nick-translation -ISNT- y el TUNEL. Otras se basan en que las roturas presentes en el ADN hacen que éste pueda ser más “susceptible” de ser movilizado por un campo eléctrico. Es el caso del ensayo de cometa. En otro grupo se sitúan aquel tipo de técnicas cuya base se sustenta en que las roturas en el ADN, independientemente de su naturaleza química, hacen que la molécula sea mucho más “susceptible” de ser desnaturalizada por un ácido. Por ejemplo el SCSA y el test SCD. Ante este amplio abanico de posibilidades empieza el desconcierto

del personal clínico si encima se adereza por un juego retórico que puede llegar a ser perverso por no sustentado fielmente de forma científica. Así, se ha sugerido que los métodos de detección basados en una acción enzimática y en movilización electroforética, son más resolutivos ya que suponen una detección “directa” de daño, mientras que los basados en desnaturalización serían métodos de detección “indirectos”. Estos asertos pseudocientíficos, más que acercar al personal clínico a lo que realmente tiene importancia, disponer de un sistema que le ofrezca unos niveles de confianza en su apreciación sobre la calidad del ADN del espermatozoide de su paciente, lo alejan de su uso, dado que, y no sin razón, empieza a no entender nada. Seamos claros. Todas las técnicas de detección del daño son indirectas. La ISNT o el TUNEL no son sistemas directos de detección del daño, porque el nucleótido marcado no se une “directamente” a la rotura. Eso sólo se logra si una enzima media en dicha unión. Podríamos hablar, por complicar más el asunto, de un marcaje “directamente indirecto”. A veces, ignorando el consolidado campo de la mutagénesis, el juego retórico inventa que los sistemas enzimáticos determinarían solo daño “real”, mientras que los sistemas basados en la desnaturalización ácida medirían un presunto daño “potencial”. ¿Qué será el daño real y el daño potencial? El tratamiento ácido no rompe el ADN, simplemente lo desnaturaliza a partir de los extremos de roturas preexistentes. Y rizando más el rizo, se entra en el juego retórico de llamar a las roturas que se registran en el ADN “daño primario” y al presunto daño oxidativo en ciertas bases “daño secundario”. Esto, a parte de carecer de sentido en el campo de la mutagénesis, ayuda muy poco al clínico a tener una percepción equilibrada de lo que realmente supone que una cadena de ADN, que debía ser continua e íntegra, deje de serlo. En resumidas cuentas, le estamos ofreciendo al clínico un escenario en el que cohabitan un llamado daño real, el daño potencial, el daño primario y el daño secundario, y toda una serie de técnicas que deben medir unos y no otros, para explicar finalmente que el ADN o bien está roto o no lo está. Desde mi punto de vista y hablando de fragmentación del ADN, sería más fácil de entender, para casi todo el mundo, optar por el final de la última frase. Y para poder tomar una decisión sobre eso, es evidente que nos hace falta una técnica con la que nos sintamos cómodos.

Bajo mi experiencia, cualquier técnica es perfecta para analizar el daño en el ADN si somos capaces de controlarla y somos juiciosos con lo que estamos haciendo. El propio juego con esa técnica en nuestro quehacer diario nos dará los mejores niveles de confianza para creer en nuestros resultados. Cualquier técnica de las mencionadas, bien ejecutada, mide la fragmentación del ADN y se demuestra una buena correlación entre ellas. Luego todas son válidas, aunque tengan ciertas peculiaridades menores. Pero de cara a la implementación en un laboratorio de andrología o de reproducción, es muy importante disponer de una técnica sencilla técnicamente, rápida, fiable, fácil de interpretar y si no requiere de nuevos aparatos, mejor. El resto es sencillo. Tendremos que ser capaces de saber elegir entre todo lo disponible y hacer nuestro lo que más nos convenza y nos convenga, pero sin recelo. Esta podría ser la primera regla para deshacer el entuerto. Por otra parte, nunca debiéramos perder de vista que el interés final es conocer si la molécula de ADN en el espermatozoide permanece íntegra o no en el momento de enfrentarlo al oocito. Esta podría ser la segunda regla.

La retórica, de momento, es dispensable.

D. Jaime Gosálvez Berenguer

Catedrático de Genética del Departamento de Biología
Facultad de Ciencias
Edificio de Biología C/ Darwin s/n
Universidad Autónoma de Madrid. Cantoblanco
20849 MADRID - Spain