

## Test della frammentazione del DNA spermatico: quando richiederlo e perché?

L'esame del liquido seminale, pur rappresentando l'esame di primo livello nello studio del maschio infertile, presenta delle limitazioni derivanti dalla scarsa quantità di informazioni di carattere funzionale.

Lo studio della frammentazione del DNA spermatico (fDNA) è fra i test biofunzionali quello maggiormente utilizzato e di maggiore impiego nella pratica clinica. Tale test fornisce al clinico un ulteriore strumento nello studio dell'infertilità idiopatica o in casi selezionati fornendo informazioni aggiuntive all'esame standard del liquido seminale soprattutto ove non siano evidenti anomalie spermatiche tali da giustificare l'infertilità maschile stessa. L'eziologia della fDNA è multifattoriale (alterata compattazione cromatinica, apoptosi e stress ossidativo) e ormai numerose sono le evidenze circa l'effetto negativo di essa sulla fecondazione, sviluppo e impianto embrionale. Fra le cause di fDNA, alcune sono reversibili e il miglioramento di tale parametro potrebbe essere fondamentale non solo per le gravidanze naturali ma soprattutto nei cicli di procreazione medicalmente assistita (PMA).

Ad oggi, la Società Italiana di Andrologia e Medicina della Sessualità (SIAMS) e altre Società scientifiche non raccomandano il test di fDNA di routine nell'iter diagnostico del maschio infertile: ciò in quanto, la raccomandazione offre un grado di evidenza piuttosto basso (grado C) a causa del tipo di studi che la supportano (studi retrospettivi, case reports, opinioni di esperti) (1).

Nasce comunque per il clinico, la necessità, in casi selezionati, di suggerire il test di fDNA, anche alla luce dagli studi sempre più numerosi presenti in letteratura e delle esperienze legate alla pratica clinica.

### 1. A chi consigliarlo?

Le principali indicazioni cliniche al test di fDNA sono riassunte in tabella:

Indicazioni al test di frammentazione del DNA spermatico	Raccomandazione
Varicocele	Raccomandato nei pazienti con II e III grado con normali parametri del liquido seminale e in pazienti con I grado con parametri seminali alterati o borderline (raccomandazione di <b>grado C</b> )
Infertilità idiopatica	Raccomandato alle coppie che intraprendono un percorso di PMA, per selezionare la tecnica di PMA preferendo un percorso di ICSI o IVF a quello della IUI (raccomandazione di <b>grado C</b> )
Aborti ricorrenti e/o fallimenti dopo cicli IUI	Anche in questo caso gli studi a sostegno indicano un livello di raccomandazione di <b>grado C</b>
Stili di vita e fattori di rischio ambientali	Al fine di modificare lo stile di vita, monitorandone dopo rimozione dei fattori di rischio o adeguata terapia antiossidante, la risposta in termini di livelli di fDNA (raccomandazione di <b>grado C</b> )

### 2. Perché consigliare il test?

- I pazienti con **varicocele** presentano livelli di fDNA più elevati e si riducono dopo varicocelectomia (2,3). Le evidenze suggeriscono che il test della fDNA potrebbe permettere al clinico di selezionare meglio i pazienti candidati alla varicocelectomia come descritto in tabella.
- Pazienti con **infertilità idiopatica**: elevati livelli di fDNA sono presenti anche in uomini con parametri seminali nella norma. Inoltre, il test di fDNA può fornire informazioni cliniche rilevanti ai fini del concepimento naturale o dopo tecniche di PMA, indipendentemente da quelle fornite dai parametri convenzionali del liquido seminale (4)
- **Aborti ricorrenti e/o fallimenti dopo cicli IUI**: elevati tassi di fDNA correlano con aborti ripetuti, derivanti da alterato sviluppo e/o mancato impianto embrionale. Un'analisi stratificata sulla base del tipo di procedura, indica che alti livelli di fDNA determinino bassi tassi di gravidanza dopo IVF, e aborto spontaneo sia dopo IVF e dopo ICSI (5). Inoltre, le evidenze presenti mostrano che la fDNA condiziona negativamente i cicli IUI in misura maggiore rispetto ai cicli ICSI. Inoltre, se da un lato la elevata fDNA riduce il tasso di gravidanza, dall'altro non vi sono differenze significative fra alti e bassi livelli di fDNA in termini di live birth rate dopo ICSI ad indicare quasi un ruolo protettivo della ICSI che andrebbe maggiormente consigliata alle coppie rispetto alle altre tecniche di PMA (6).

Dunque, le evidenze derivate dalla letteratura convergono nel consigliare i test alle coppie con aborti o fallimenti ricorrenti da causa sconosciuta nonostante i parametri seminali si presentino nella norma e quando la fDNA sia elevata per cause non reversibili, consigliare la ICSI.

- **Stili di vita e fattori di rischio ambientali:** età avanzata, obesità, fumo di sigaretta ed esposizione a inquinanti ambientali o professionali determinano un incremento dei livelli di fDNA che riconoscono come causa principale l'incremento dello stress ossidativo. Alcuni di essi sono reversibili come il fumo di sigaretta, l'obesità, l'esposizione ad inquinanti ambientali (7-9), altri non modificabili come l'età avanzata ove si assiste a una maggiore frequenza di difetti del DNA nemaspermico (10). A tal proposito, alcuni studi hanno dimostrato che la fDNA è ridotta negli spermatozoi testicolari rispetto a quelli eiaculati: sembrerebbe infatti, che il transito epididimario riduca i legami disolfuro determinando alterata compattazione della doppia elica e quindi maggiore predisposizione alla frammentazione dell'acido nucleico (11).

Per concludere, nei pazienti con elevata fDNA al fine di ridurre il danno al DNA nemaspermico per prima cosa è necessario individuare se la causa è reversibile o meno e poi applicare la strategia terapeutica o preventiva più indicata. In particolare, la rimozione del varicocele, l'uso di antiossidanti e le modifiche dello stile di vita nel primo caso e la scelta della tecnica di PMA più adeguata potrebbero essere di valido ausilio.

**Autori:** Rosita A. Condorelli (CT); Aldo E. Calogero (CT)

**Commissione Linee Guida SIAMS:** Elisa Giannetta (Roma), Sandro La Vignera (Catania), Sara Marchiani (Firenze)

#### Bibliografia

- 1) Agarwal A, Majzoub A, Esteves SC, Ko E, Ramasamy R, Zini A. Clinical utility of sperm DNA fragmentation testing: practice recommendations based on clinical scenarios. *Transl Androl Urol* 2016; 5:935-950.
- 2) Zini A, Dohle G. Are varicoceles associated with increased deoxyribonucleic acid fragmentation? *Fertil Steril* 2011; 96:1283-1287.
- 3) La Vignera S, Condorelli R, Vicari E, D'Agata R, Calogero AE. Effects of varicocelectomy on sperm DNA fragmentation, mitochondrial function, chromatin condensation, and apoptosis. *J Androl* 2012; 33:389-396.
- 4) Agarwal A, Cho CI, Esteves SC. Should we evaluate and treat sperm DNA fragmentation? *Curr Opin Obstet Gynecol* 2016; 28:164-171.
- 5) Zhao J, Zhang Q, Wang Y, Li Y. Whether sperm deoxyribonucleic acid fragmentation has an effect on pregnancy and miscarriage after in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2014; 102:998-1005.
- 6) Osman A, Alsomait H, Seshadri S, El-Toukhy T, Khalaf Y. The effect of sperm DNA fragmentation on live birth rate after IVF or ICSI: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 2015; 30:120-127.
- 7) Calogero A, Polosa R, Perdichizzi A, Guarino F, La Vignera S, Scarfia A, Fratantonio E, Condorelli R, Bonanno O, Barone N, Burrello N, D'Agata R, Vicari E. Cigarette smoke extract immobilizes human spermatozoa and induces sperm apoptosis. *Reprod Biomed Online*. 2009; 19:564-571.
- 8) La Vignera S, Condorelli RA, Vicari E, Calogero AE. Negative effect of increased body weight on sperm conventional and nonconventional flow cytometric sperm parameters. *J Androl* 2012; 33:53-58.
- 9) Sánchez-Peña LC, Reyes BE, López-Carrillo L, Recio R, Morán-Martínez J, Cebrián ME, Quintanilla-Vega B. Organophosphorous pesticide exposure alters sperm chromatin structure in Mexican agricultural workers. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004; 196:108-113.
- 10) Das M, Al-Hathal N, San-Gabriel M, Phillips S, Kadoch IJ, Bissonnette F, Holzer H, Zini A. High prevalence of isolated sperm DNA damage in infertile men with advanced paternal age. *J Assist Reprod Genet* 2013; 30:843-848.
- 11) Ollero M1, Gil-Guzman E, Lopez MC, Sharma RK, Agarwal A, Larson K, Evenson D, Thomas AJ Jr, Alvarez JG. Characterization of subsets of human spermatozoa at different stages of maturation: implications in the diagnosis and treatment of male infertility. *Hum Reprod* 2001; 16:1912-1921.