

Analisi della SDF con tunnel assay: impatto delle infezioni urogenitali sulla qualità seminale

TRIMARCO SIMONA^{1,2}, SCHISANO VALERIO^{1,2}, FRALLICCIARDI FRANCESCO^{1,2}, GUERRIERO MARIA^{1,2}, CUOMO MARIA CONCETTA^{1,2}, IANNELLA SARA^{1,2}, SCAGLIONE ELENA^{1,2}, VITIELLO MARIATERESA^{1,2}, PAGLIUCA CHIARA^{1,2}, COLICCHIO ROBERTA^{1,2}; SALVATORE PAOLA^{1,2,3}

¹Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli; ²Dipartimento di Attività Integrata di Medicina di Laboratorio e Trasfusionale, U.O.C Microbiologia Clinica, Azienda Ospedaliera Universitaria Federico II, Napoli; ³CEINGE, Biotecnologie Avanzate Franco Salvatore s.c.a.r.l., Napoli.

Introduzione

L'infertilità maschile contribuisce al 50% dei casi di infertilità di coppia e interessa circa il 7% della popolazione mondiale. Oltre alle cause riconosciute a livello testicolare e sistemico, un ruolo sempre più rilevante è attribuito alle infezioni urogenitali, che possono compromettere la funzionalità degli spermatozoi, soprattutto in caso di esposizione prolungata ad agenti microbici. Secondo la letteratura, tali infezioni sono associate a un aumento di alterazioni seminali come l'oligo-asteno-teratozoospermia (13,8% dei casi), e l'infiammazione che ne deriva può determinare un'elevata frammentazione del DNA spermatico (SDF), compromettendo la vitalità degli spermatozoi. Nei soggetti infertili, la SDF risulta superiore al 30%, rispetto al 5-15% dei soggetti fertili.

Lo scopo dello studio è stato l'analisi dell'associazione tra infezioni urogenitali, SDF e alterazioni dei parametri seminali.

Materiali e Metodi

Lo studio ha analizzato 53 campioni seminali di uomini infertili (età 27-44 anni), associati a campioni di urina per distinguere infezioni del tratto seminale da quelle urinarie. I parametri seminali sono stati valutati secondo i criteri dell'OMS (5^a edizione), mentre la presenza di infezione è stata determinata tramite spermicoltura. Ogni campione ha ricevuto un punteggio in base al tipo di agente patogeno (0-3 punti) e al carico batterico (0-3 punti). Un punteggio totale >3 ha indicato infezione.

La frammentazione del DNA spermatico (SDF) è stata misurata con il test TUNEL, utilizzando il kit Apo-Direct e analisi in citometria a flusso con laser Argon (488 nm), eseguita in duplicato per garantire la riproducibilità.

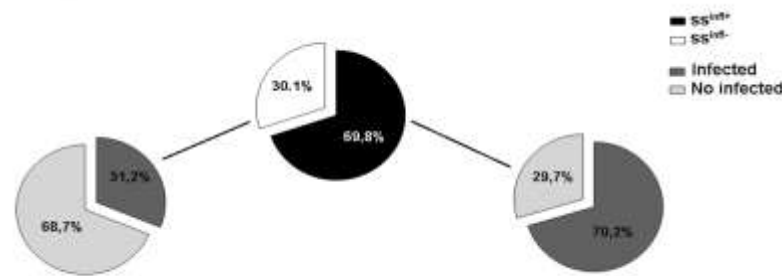


Figura 1: Circa il 70% dei campioni seminali analizzati (37 su 53) mostrava segni di infiammazione, e tra questi il 70% risultava infetto. In particolare, nel 70,2% dei campioni infiammati (26 su 37), il punteggio infettivo era >3, spesso con presenza di più agenti patogeni. Nei campioni di controllo (senza segni infiammatori), solo il 31,2% (5 su 16) era infetto.



III Convegno Nazionale SITLaB 7 - 8 giugno 2025 - Chieti

SITLaB
Società Scientifica Italiana dei TSLB



Analisi della SDF con TUNEL assay: impatto delle infezioni urogenitali sulla qualità seminale

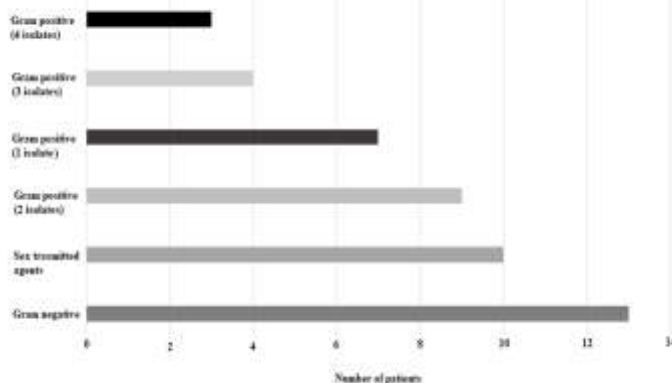
Parameters	ssinf ⁻	ssinf ⁺	P value
pH	7.71 ± 0.34	7.59 ± 0.28	0.226
Volume	2.47 ± 1.21	4.26 ± 2.98	0.003**
Conc (x10 ⁶ ml)	30.09 ± 22.31	81.00 ± 35.47	0.000***
Conc/tot	89.67 ± 105.54	270.63 ± 133.12	0.000***
Motility (a+b)	37.02 ± 20.51	54.06 ± 18.60	0.006**
Motility PR (%) (a)	34.54 ± 18.58	50.25 ± 16.24	0.005**
Motility NP (%) (b)	2.48 ± 3.73	7.50 ± 6.43	0.009**
Motility IS (%)	12.02 ± 7.27	23.88 ± 14.53	0.006**
Motility IM (%)	51.35 ± 20.44	32.00 ± 16.02	0.001**
Number of Leucocytes (1x10 ⁶ /ml)	2.23 ± 1.71	0.81 ± 1.12	0.004**
% Normal shape	4.50 ± 3.31	6.63 ± 3.69	0.044*
% Amorphous head	36.67 ± 12.74	42.63 ± 11.92	0.119
% Amorphous tails	9.36 ± 9.16	11.69 ± 10.08	0.417
% Amorphous bodies	49.75 ± 15.01	38.94 ± 14.29	0.019*

Tabella 1: Nei pazienti con infiammazione (ssinfl⁺), i parametri seminali risultano significativamente peggiorati rispetto a quelli senza infiammazione (ssinfl⁻). In particolare, si osservano una minore concentrazione spermatica, una riduzione marcata del volume seminale (P = 0,003) e una compromissione della motilità. La percentuale di spermatozoi immobili risulta invece significativamente aumentata nei campioni infiammati (P = 0,001).

Figura 2: Tra i pazienti con segni di infiammazione, 13 hanno mostrato un'infezione da batteri Gram negativi, seguiti da agenti sessualmente trasmissibili rilevati in 10 pazienti, e dalla copresenza di almeno due ceppi di batteri Gram positivi in 9 pazienti. Complessivamente, il microbiota spermatico analizzato ha evidenziato differenze tra i due gruppi considerati (dati non mostrati).

Parameters	Correlation coefficient	P value
pH	0.046	0.790
Volume	-0.346	0.038*
Conc (x10 ⁶ ml)	-0.223	0.192
Conc/tot	-0.404	0.014*
Motility a+b	-0.460	0.005**
Motility PR (%) (a)	-0.437	0.008**
Motility NP (%) (b)	-0.347	0.038*
Motility IS (%)	0.155	0.367
Motility IM (%)	0.411	0.013*
Number of Leucocytes (1x10 ⁶ /ml)	0.185	0.280
% Normal shape	-0.258	0.135
% Amorphous head	-0.217	0.210
% Amorphous tails	0.060	0.731
% Amorphous bodies	0.185	0.289

Tabella 2: Nei pazienti con infiammazione seminale (ssinfl⁺), le infezioni urogenitali compromettono significativamente la qualità del liquido seminale. Lo stato infettivo mostra una correlazione inversa con la motilità spermatica (progressiva, non progressiva e totale; P = 0,005, 0,008, 0,038) e con volume seminale e concentrazione spermatica (P = 0,038 e 0,014). Al contrario, vi è una correlazione diretta con l'aumento degli spermatozoi immobili (P = 0,013).



Analisi della SDF con TUNEL assay: impatto delle infezioni urogenitali sulla qualità seminale

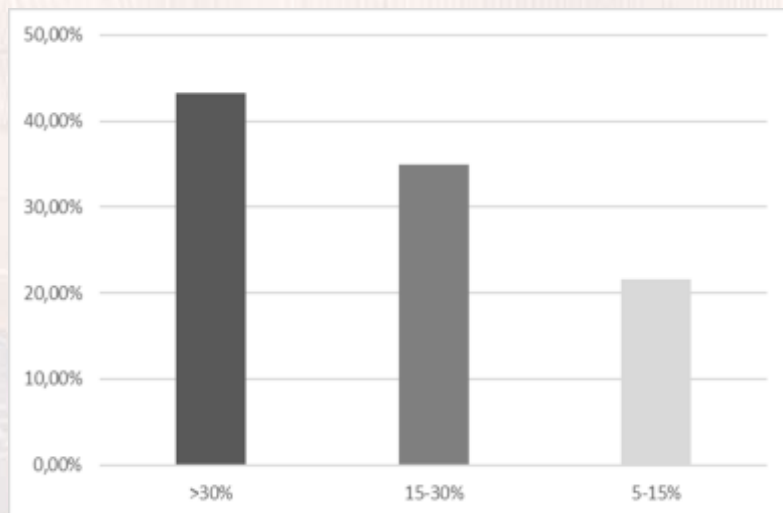


Figura 3: Nei campioni con caratteristiche infiammatorie, il 43,2% (16 su 37) presenta una percentuale di frammentazione del DNA spermatico (SDF) superiore al 30%. Il 35% (13 su 37) mostra una SDF compresa tra il 15% e il 30%, mentre il 21,6% (8 su 37) presenta una SDF tra il 5% e il 15%.

Parameters	ss ^{infl+}		ss ^{infl-}	
	SDF TUNEL	P value	SDF TUNEL	P value
pH	-0.362	0.028*	-0.067	0.806
Volume	0.228	0.174	-0.005	0.987
Conc (x10 ⁶ ml)	0.031	0.857	-0.277	0.298
Conc/tot	0.114	0.501	0.083	0.761
Motility a+b	-0.336	0.042*	0.272	0.309
Motility PR (%) (a)	-0.346	0.036*	0.322	0.224
Motility NP (%) (b)	-0.121	0.476	-0.470	0.066
Motility IS (%)	-0.329	0.047*	-0.204	0.448
Motility IM (%)	0.0466	0.004**	0.084	0.756
Number of Leucocytes (1x10 ⁶ /ml)	-0.037	0.827	-0.214	0.426
% Normal shape	-0.190	0.268	-0.177	0.512
% Amorphous head	-0.275	0.104	0.011	0.969
% Amorphous tails	-0.016	0.926	-0.079	0.772
% Amorphous bodies	0.317	0.060	0.099	0.714

Tabella 3: Correlazione tra i parametri standard del liquido seminale e la percentuale di SDF (valutata tramite TUNEL assay). Nei campioni con infiammazione, la frammentazione del DNA spermatico (%SDF) mostra una correlazione positiva significativa con la percentuale di spermatozoi immobili (P = 0,004). Al contrario, si osservano correlazioni negative significative tra %SDF e pH (P = 0,028), motilità progressiva (PR%) (P = 0,036) e motilità intermedia/selettiva (IS%) (P = 0,047).

Conclusioni

Le infezioni urogenitali e l'elevata frammentazione del DNA spermatico (SDF) compromettono in modo significativo la qualità del liquido seminale, in particolare la motilità degli spermatozoi. Una ridotta motilità e l'aumento delle forme immobili rappresentano segnali chiave di un possibile stato infiammatorio e infettivo. Questi parametri, quindi, possono rappresentare indicatori utili nella diagnosi dell'infertilità maschile e suggerire un'infezione in corso associata a un'alterazione rilevante dell'integrità del DNA spermatico.