

Effect of varicocele on chromatin condensation and DNA integrity of ejaculated spermatozoa using cytochemical tests

Andrologia 2008;40:245–251; DOI:10.1111/j.1439-0272.2008.00852.x

A. R. TALEBI, M. R. MOEIN, N. TABIBNEJAD & J. GHASEMZADEH

Research and Clinical Center for Infertility and Department of Anatomy, Yazd Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Correspondence to: Ali Reza Talebi, Research and Clinical Center for Infertility, Yazd Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran. Tel.: +98 351 824 7085-6; Fax: +98 351 824 7087; E-mail:

prof_talebi@ssu.ac.ir

Varicocele occurs in approximately 15% to 20% of the general male population and it is the most common cause of poor semen production and decreased semen quality. It has been demonstrated that patients with varicocele have a significantly higher DNA fragmentation index (DFI) and spermatozoa with nuclear anomalies than healthy fertile men. Therefore, the aim of this study was to evaluate sperm chromatin integrity in these patients. Sixty men referring to the andrology laboratory were categorised into three different groups: 20 infertile men with varicocele, 20 infertile men with abnormal semen parameters and 20 fertile men who had normal spermatogram were considered as control group. Semen analysis was performed according to WHO criteria. To evaluate sperm chromatin quality and DNA integrity, after fixation of sperm smears, aniline blue, toluidine blue, chromomycin A₃ and acridine orange staining were applied in three groups. The slides were analysed by light and fluorescent microscopy and to determine the percentage of mature or immature spermatozoa, 200 spermatozoa were counted in each slide. The results showed that the rates of aniline blue-reacted spermatozoa were significantly higher in infertile and varicocele patients than in the normal group ($P < 0.001$). In addition, with regard to chromomycin A₃, acridine orange and toluidine blue staining, there was a significant difference between the three groups ($P < 0.001$). The results showed that the varicocele samples contain a higher proportion of spermatozoa with abnormal DNA and immature chromatin than those from fertile men as well as infertile men without varicocele. Therefore, varicocele results in the production of spermatozoa with less condensed chromatin and this is one of the possible causes of infertility due to varicocele.

L'effetto del varicocele, valutato con test citochimico, sulla condensazione della cromatina e sull'integrità del DNA degli spermatozoi ejaculati

Il varicocele interessa circa il 15% - 20% della popolazione maschile generale ed è la più comune ragione della scarsa produzione e della riduzione della qualità dello sperma. E' stato dimostrato che i pazienti con varicocele hanno un indice di frammentazione del DNA (DFI) e spermatozoi con anomalie nucleari significativamente maggiori degli uomini fertili sani. Abbiamo suddiviso in tre differenti gruppi sessanta uomini giunti al laboratorio di andrologia: 20 uomini infertili con varicocele, 20 uomini infertili con parametri seminali alterati e 20 uomini fertili con spermiogramma normale, assunti come gruppo di controllo. L'analisi spermatica fu eseguita secondo i criteri del WHO. Per valutare la qualità della cromatina e l'integrità del DNA spermatici, dopo fissazione dello striscio di sperma, abbiamo impiegato nei tre gruppi la colorazione con blu di anilina, blu di toluidina, cromomicina A₃ e arancio di acridina. Abbiamo analizzato i preparati con la microscopia a luce e fluorescente per determinare la percentuale degli spermatozoi maturi e immaturi, contando 200 spermatozoi per ogni preparato. I risultati dimostrarono che la percentuale di spermatozoi reagenti al blu di anilina fu significativamente maggiore nei pazienti infertili con varicocele rispetto al gruppo normale ($P < 0.001$). Inoltre, in relazione alla colorazione con blu di toluidina, cromomicina A₃ e arancio di acridina, ci fu una differenza significativa tra i tre gruppi ($P < 0.001$). I risultati hanno dimostrato che i campioni con varicocele contengono una maggiore proporzione di spermatozoi con DNA anormale e cromatina immatura rispetto ai soggetti fertili normali e ai soggetti infertili senza varicocele. Pertanto il varicocele risulta indurre la produzione di spermatozoi con cromatina meno condensata e questa è una delle possibili cause di infertilità dovuta al varicocele.

Il commento – Ogni studio che compare sulla relazione tra presenza della disfertilità e varicocele conferma sempre più tale relazione con un rapporto molto forte, anche se in tutti gli studi sussiste sempre un gruppo che ha gradi variabili di disfertilità pur in assenza di varicocele. Fermo restando che sono, a parte le azoospermie e le oligospermie da difetti del cromosoma Y, presenti nella popolazione deficit di produzione e qualità degli spermatozoi in assenza di varicocele, è da sottolineare come probabilmente spesso non viene valutato come varicocele la stasi venosa intrascrotale (spesso bilaterale e associata a falde più o meno consistenti di idrocele) bilaterale non connessa a insufficienza conclamata della vena spermatica sinistra. Ciò comporta una sottostima dei casi di varicocele (meglio di idrovaricocele) come induttori diretti o almeno in concorso con altri quadri (congestione pelvico-prostatica) delle disfertilità. Questo lavoro ha in ogni caso il pregio di rimarcare la relazione diretta e sempre presente tra varicocele, seppure definito solo nel modo

conclamato suddetto, e il quadro di disfertilità e che tale quadro è significativamente peggiore dei quadri di disfertilità connessi ad altri fattori esclusi ovviamente i gravi quadri da alterazioni del cromosoma Y. Ancora una volta, alla luce di questi dati, si deve rimarcare che il trascurare le varie forme di varicocele e il non trattarle precocemente e radicalmente (è inutile chiudere la sola vena spermatica sinistra e lasciare il resto intoccato) comporta la responsabilità di dare luogo e di far peggiorare progressivamente i quadri di disfertilità con il rischio di renderli irreversibili.