

Ruolo dei fattori genetici sull'insorgenza e sui risultati del trattamento chirurgico del varicocele



Ann. Ital. Chir., 2010 81: 161-163

Maurizio Rossitto*, Luciana Rigoli**, Vincenzo Procopio**, Antonio Ciccolo*

Università degli Studi di Messina, Policlinico Universitario "G. Martino", Messina

*Dipartimento di Specialità Chirurgiche

**Dipartimento di Scienze Pediatriche Mediche e Chirurgiche

The role of the incidence of genetic abnormalities on the onset and on the results of the surgical repair of varicocele.

AIM OF THE STUDY: *The purpose of this study is that to identify possible implications of the presence of genetic abnormalities of male infertility evaluating the suitable response to surgical repair of varicocele, comparing the clinical characteristics of infertile men with the presence or absence of genetic abnormalities.*

MATERIALS AND METHODS: *It has been evaluated the incidence of chromosomal abnormalities and microdeletions of the Y chromosome, through the use of techniques of cytogenetics and molecular biology in patients with varicocele of grade III, preoperatively submitted to physical examination and U.S. Doppler examination, and in which the seminal and hormonal parameters for the diagnosis of oligospermia didn't have meaningful differences. Six months after the surgical correction of the varicocele a comparison has been performed between the response to surgical repair between patients of group A (free of genetic defects) and patients of group B (with genetic defects) through the reevaluation of semen parameters and of the U.S. Doppler.*

RESULTS: *26.6% of patients had genetic defects suggesting a significant association of genetic alterations in varicocele. Moreover in the group without genetic abnormality a better response to varicocelectomy has been observed.*

CONCLUSIONS: *We found that a high percentage of examined patients showed genetic defects such as chromosomal aberrations (insertions, deletions, inversions or translocations) or Y chromosome microdeletions. As these genetic alterations are associated with infertility, genetic screening in patients with varicocele may represent a useful tool for diagnosis and prognosis of some cases of male infertility.*

KEY WORDS: Genetic abnormalities; Varicocele.

Introduzione

Il varicocele idiopatico è una condizione clinica comune presente, approssimativamente, nel 15 % della popolazione maschile, ed è considerata come fattore fonda-

mentale del determinismo dell'infertilità maschile. Vi sono numerosi fattori che possono provocare l'arresto della spermatogenesi e, in molti casi, non sono state tuttora identificate le cause¹⁻⁵.

Scarsa attenzione è stata rivolta alle cause genetiche dell'infertilità secondaria al varicocele: le informazioni genetiche e molecolari riportate sui pazienti affetti da tale patologia, potrebbero dare nuova luce sulle cause del peggioramento dei parametri seminali e della funzione spermatica ridotta. Alcuni Autori ritengono che le aberrazioni cromosomiche presenti nel varicocele possono essere causa di infertilità maschile^{6,7}.

Pervenuto in Redazione Marzo 2010. Accettato per la pubblicazione Aprile 2010.

Per corrispondenza: Prof. Maurizio Rossitto, Via XXVII Luglio, 34, 98123 Messina (E-mail: rossitto@unime.it)

Alcuni studi sul tessuto testicolare di uomini con varicocele hanno dimostrato l'aumento di apoptosi nello sviluppo di cellule germinali, che potrebbero essere la causa di oligospermia.

Inoltre la microdelezione della subunità alfa 1 dei canali del calcio nello sperma in una proporzione di uomini con varicocele suggerisce un difetto genetico a monte dell'anormale funzione acrosomica⁷⁻⁹.

Gli uomini con varicocele e lesioni genetiche sembrerebbero, quindi, avere una risposta più insoddisfacente alla riparazione chirurgica del varicocele rispetto agli uomini senza lesioni genetiche coesistenti.

Scopo di questo lavoro è quello di identificare eventuali implicazioni della presenza di anomalie genetiche dell'infertilità maschile sulla risposta adeguata alla riparazione chirurgica del varicocele comparando le caratteristiche cliniche degli uomini infertili affetti da tale patologia con la presenza o l'assenza di anomalia genetica.

Materiali e metodi

In questo studio è stata valutata, previo consenso informato, l'incidenza di anomalie cromosomiche e di microdelezioni del cromosoma Y, tramite l'uso di tecniche di citogenetica e di biologia molecolare, in 15 pazienti (età media 24.9 anni) affetti da varicocele di III° grado sottoposti preoperatoriamente ad esame fisico ed esame US Doppler ed in cui i parametri seminali ed ormonali per la diagnosi di oligospermia non avevano differenze statisticamente significative.

Tramite il bandeggio GTG (Giemsa-Tripsina-Giemsa) sono stati analizzati i cromosomi in metafase e la microdelezione del cromosoma Y è stata valutata tramite la tecnica della PCR (polymerase chain reaction).

ANALISI CITOGNETICA

L'analisi dei cromosomi è stata effettuata su colture linfocitarie trattate con fitoemoagglutinina.

Per ogni caso di varicocele, sono state analizzate 20 su 30 metafasi e, in caso di mosaicismo, il numero delle metafasi è stato aumentato fino a 100 per ogni campione. Su queste metafasi è stato effettuato il bandeggio GTG.

SCREENING MOLECOLARE PER LA MICRODELEZIONE DEL CROMOSOMA Y

Il DNA è stato estratto con metodo fenolo-cloroformio. Lo screening per la microdelezione del cromosoma Y è

stata effettuato con la PCR (polymerase chain reaction) amplificando 24 differenti STSs corrispondenti ai 3 loci genici AZF. Gli STSs erano i seguenti: sY86, sY87, sY610 (DBY), sY620 (USP9Y) di AZFa; sY127, sY134, sY143, sY634 di AZFb; sY153, sY205, sY232, sY254, sY255, sY277, sY283, sY624 di AZFc, e sY158, sY160 (regioni distali eterocromatiche del cromosoma Yq).

Inoltre sono stati usati anche primers specifici per i geni UTY (AZFa), SMCY, EIF1AY, CDY2 della regione AZFb e CDY1 (AZFc).

La tecnica di PCR è stata effettuata con il seguente metodo: come template, sono stati usati 50–100 ng di DNA genomico in un reazione miscelata di 25 microlitri, 13 microlitri di buffer di amplificazione, 1 mmol di dNTPs, 10–25 pmol di ogni primer, e 1.25 IU di Taq DNA polimerasi.

Dopo un'iniziale denaturazione di 5 min. ogni reazione di PCR è stata effettuata con temperature di annealing specifiche per ogni coppia di primers. I campioni amplificati sono stati analizzati su gel di agarosio al 2–3%.

Tutti i 15 pazienti sono stati sottoposti ad intervento chirurgico di varicocelectomia subinguinale secondo Ivanissevich dopo sei mesi è stata effettuata la comparazione della risposta alla riparazione chirurgica fra il gruppo A (esente da difetti genetici) ed il gruppo B (con difetti genetici) attraverso la rivalutazione dei parametri seminali e dell'US Doppler.

Risultati

Il nostro studio ha evidenziato che il 26,6% dei pazienti presentava difetti genetici (aberrazioni cromosomiche e microdelezioni del cromosoma Y) indicando un'elevata associazione di alterazioni genetiche nel varicocele.

Inoltre nel gruppo (A) senza anomalie genetiche si è notata una migliore risposta alla varicocelectomia rispetto al gruppo con anomalie genetiche (B) in termini quali-quantitativi dello spermogramma (vedi tabella I) e della valutazione U.S. Doppler eseguiti dopo sei mesi dall'intervento.

Discussione e conclusioni

Dopo intervento chirurgico, la maggior parte dei casi di varicocele mostra il miglioramento nei parametri del seme; tuttavia, gli studi più recenti^{7,10,11,12,13,14}, hanno segnalato che i casi con varicocele con microdelezione

TABELLA I

| Gruppo | N. spermogramma | Motilità alla 2ª ora | Morfologia | Normalizzazione dello spermogramma |
|--------|-----------------|----------------------|------------|------------------------------------|
| A | 44 mln | 34% | 58% | 63% |
| B | 28 mln | 21% | 54% | 37% |

Yq non mostrano alcun miglioramento nei parametri del seme nel controllo post-operatorio per cui è importante capire perché alcuni uomini con varicocele sono fertili mentre altri non migliorano anche dopo l'intervento di varicocelectomia

I risultati del questo studio, in accordo con altri dati della letteratura, sottolineano la necessità di sottoporre ad indagine genetica tutti i casi di varicocele. Infatti, abbiamo riscontrato che un'elevata percentuale dei campioni esaminati presentava difetti genetici quali aberrazioni cromosomiche (inserzioni, delezioni, inversioni o traslocazioni) o microdelezioni del cromosoma Y.

Poiché tali alterazioni genetiche si associano ad infertilità, lo screening genetico nei pazienti con varicocele può rappresentare un utile strumento di diagnosi e prognosi di alcuni casi di infertilità maschile.

Riassunto

OBIETTIVO: Scopo del lavoro è quello di identificare eventuali implicazioni della presenza di anomalie genetiche dell'infertilità maschile sulla risposta adeguata alla riparazione chirurgica del varicocele comparando le caratteristiche cliniche degli uomini infertili affetti da tale patologia con la presenza o l'assenza di anomalia genetica.

MATERIALI E METODI: È stata valutata l'incidenza di anomalie cromosomiche e di microdelezioni del cromosoma Y, tramite l'uso di tecniche di citogenetica e di biologia molecolare, in pazienti affetti da varicocele di III° grado sottoposti preoperatoriamente ad esame fisico ed esame US Doppler ed in cui i parametri seminali ed ormonali per la diagnosi di oligospermia non avevano differenze significative. Dopo sei mesi è stata effettuata la comparazione della risposta alla riparazione chirurgica fra il gruppo A (esente da difetti genetici) ed il gruppo B (con difetti genetici) attraverso la rivalutazione dei parametri seminali ed dell'US Doppler.

RISULTATI: Il 26,6% dei pazienti ha presentato difetti genetici indicando un'elevata associazione di alterazioni genetiche nel varicocele. Inoltre nel gruppo senza anomalie genetica si è notata una migliore risposta alla varicocelectomia.

CONCLUSIONI: Abbiamo riscontrato che un'elevata percentuale dei campioni esaminati presentava difetti genetici quali aberrazioni cromosomiche (inserzioni, delezioni, inversioni o traslocazioni) o microdelezioni del cromosoma Y. Poiché tali alterazioni genetiche si associano ad infertilità, lo screening genetico nei pazienti con varicocele può rappresentare un utile strumento di diagnosi e prognosi di alcuni casi di infertilità maschile.

Bibliografia

- 1) Cuzzocrea D, Famulari C, Pante S, Centorrino S, Mangraviti A: *Il varicocele idiopatico. intervento di Ivanishevich modificato per il trattamento della sterilità maschile*. Ann Ital Chir, 1993; 64(4): 444.
- 2) Pianalto B, Bonanni G, Martella S, Renier M, Ancona E: *Risultati della varicocelectomia bilaterale laparoscopica*. Ann Ital Chir, 2000; 71:587-92.
- 3) Modica G, Sciumé C, Li volsi F, Siragusa S, Cajozzo M, Pisello F, Geraci G: *Il trattamento chirurgico del varicocele in regime di "day hospital". Nostra esperienza* Ann Ital Chir, 2001; 72: 215-18.
- 4) Enciso M, Muriel L, Fernandez JL, Goyanes V, Segrelles E, Marcos M, et al.: *Infertile men with varicocele show a high relative proportion of sperm cells with intense nuclear damage level, evidenced by the sperm chromatin dispersion test*. J Androl, 2006; 27:106-11.
- 5) Baccetti BM, Bruni E, Capitani S, Collodel G, Mancini S, Piomboni P, et al.: *Studies on varicocele III: Ultrastructural sperm evaluation and 18, X and Y aneuploidies*. J Androl, 2006; 27:94-101.
- 6) Pasqualotto FF, Sobreiro BP, Hallak J, Pasqualotto EB, Lucon AM: *Induction of spermatogenesis in azoospermic men after varicocele repair: An update*. Fertil Steril, 2006; 85:635-39.
- 7) Zini A, Blumenfeld A, Libman J, Willis J: *Beneficial effect of microsurgical varicocelectomy on human sperm DNA integrity*. Hum Reprod, 2005; 20:1018-21.
- 8) Naughton CK, Nangia AK, Agarwal A: *Pathophysiology of varicoceles in male infertility*. Hum Reprod Update, 2001; 7:473-81.
- 9) Agarwal A, Prbakaran S, Allameneni SS: *Relationship between oxidative stress, varicocele and infertility: A meta-analysis*. Reprod Biomed Online, 2006; 12:630-33.
- 10) Moro E, Marin P, Rossi A, Garolla A, Ferlin A: *Y chromosome microdeletions in infertile men with varicocele*. Mol and Cell Endocrinol, 2000; 161:67-71.
- 11) Dada R, Gupta NP, Kucheria K: *AZF microdeletions associated with idiopathic and non idiopathic cases with cryptorchidism and varicocele*. Asian J Androl, 2002; 4:259-63.
- 12) Dada R, NP Gupta, K Kucheria: *Cytogenetic and molecular analysis of male infertility: Y chromosome deletion in nonobstructive azoospermia and severe oligozoospermia*. Cell Biochem Biophysics, 2006; 44:171-77.
- 13) Rao L, Babu A, Kanakavalli M, Padmalatha V, Singh A, Singh PK, et al.: *Chromosomal abnormalities and y chromosome microdeletions in infertile men with varicocele and idiopathic infertility of South Indian origin*. J Androl, 2004; 25:147-53.
- 14) Werthman P, Wixon R, Kaspersen K, Evenson DP: *Significant decrease in sperm deoxyribonucleic acid fragmentation after varicocelectomy*. Fertil Steril, 2008; 90:1800-04.

