

ΜΑΘΗΜΑΤΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΑΝΔΡΟΛΟΓΙΑΣ
12/01/2019

Αζωοσπερμία

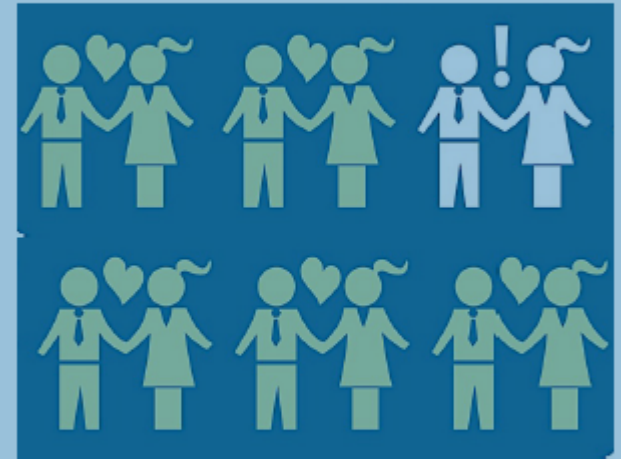
Εισηγητής: Κ. Μακαρούνης
Χειρ/γός Ουρολόγος Ανδρολόγος FEBU, FECSM, cPhD



Αζωοσπερμία

Ορίζεται η απουσία σπερματοζωαρίων στο εκσπέρματισμα και αποτελεί την πιο σοβαρή εκδήλωση ανδρικής υπογονιμότητας.

1-3% MALE
POPULATION



10-15% INFERTILE
MALES

Αζωοσπερμία

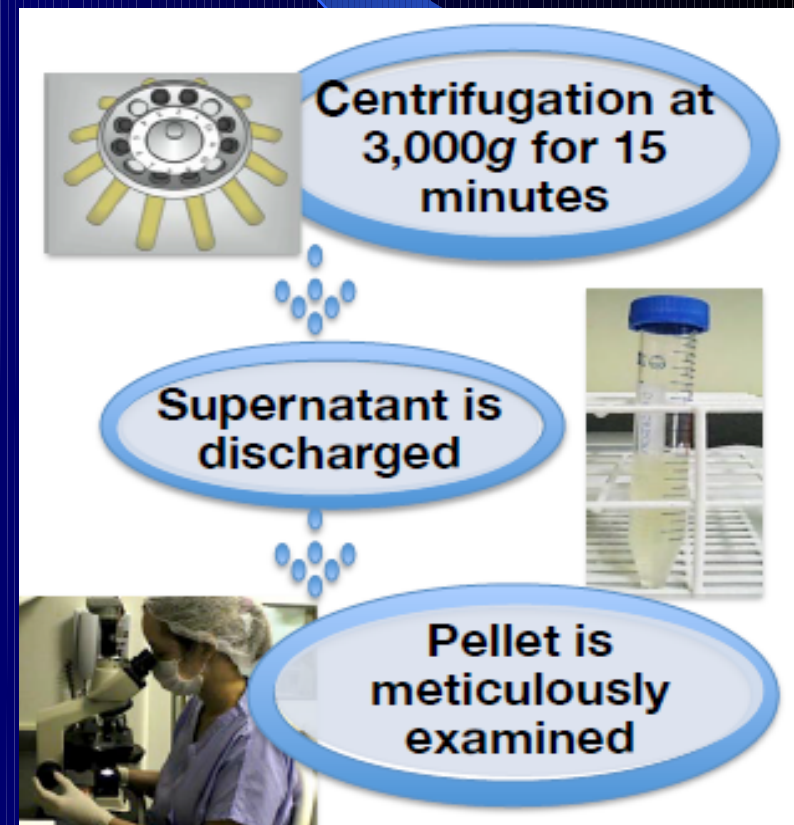
-Η αδυναμία ανεύρεσης σπερματοζωαρίων με **high-powered** μικροσκοπική ανάλυση δείγματος μετά από φυγοκέντρωση του σπερματικού υγρού σε δύο τουλάχιστον περιπτώσεις.



Αζωοσπερμία

-The World Health Organization (WHO) Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen-Cervical Mucus Interactions προτείνει:

Την **φυγοκέντριση** του σπερματικού υγρού για **15 λεπτά**, με προτεινόμενη ταχύτητα φυγοκέντρισης **≥3000 X στροφές**.

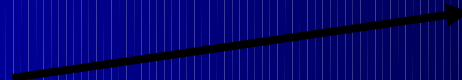


Αιτιολογία

- Προ-ορχική



- Ορχική

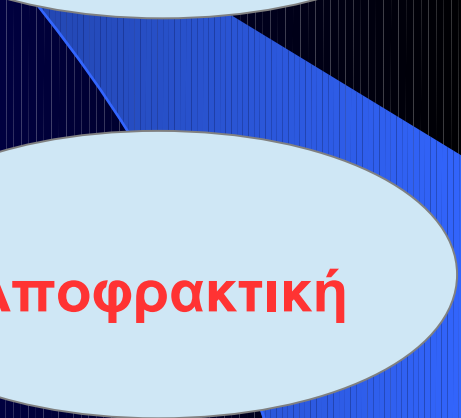


- Μετά- ορχική

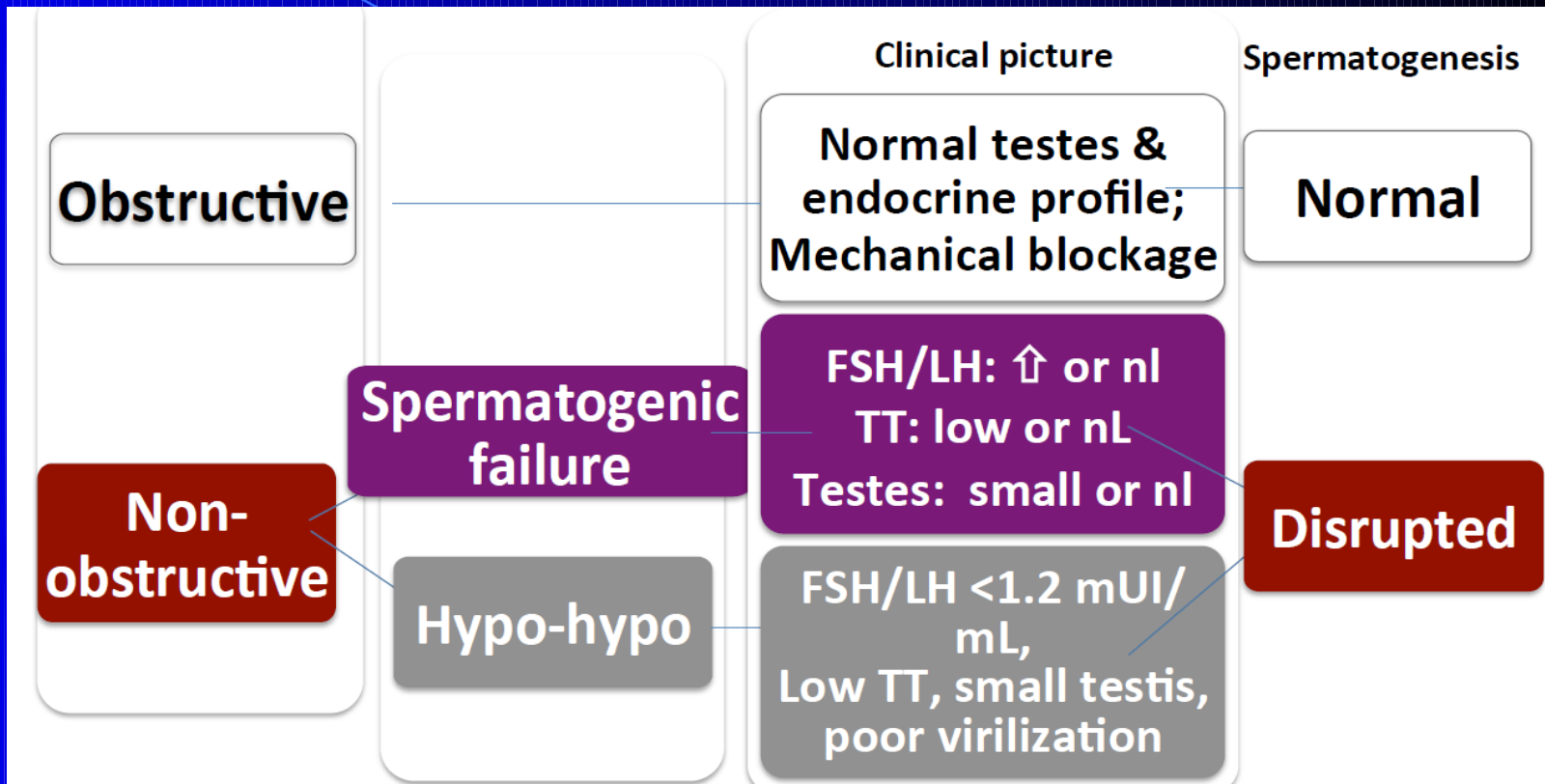


Μη
Αποφρακτική

Αποφρακτική



Πρόγνωση και διαχείριση της αζωοσπερμίας



Etiology category	Success in finding sperm
Cryptorchidism	52-74%
Post-infection	67%
Torsion	>50%
Post-chemotherapy/RT	25-75%
Genetic (KS, AZFc)	25-70%
Idiopathic	50-60%

Προ-Ορχική Αιτιολογία

- Συγγενείς Ανωμαλίες
 - Kallmann's syndrome
 - Prader-Willi syndrome
 - Cerebral ataxia with HH
- Ιδιοπαθής ΥΥ (HH)
- Έλλειψη LH
- Έλλειψη FSH
- Υπερέκκριση Προλακτίνης

Ορχική Αιτιολογία

- **Συγγενείς Ανωμαλίες**

- Klinefelter's syndrome: nonmosaic, mosaic
- XYY syndrome
- 46 XX male syndrome
- Yq AZF gene deletion

- **Κιρσοκήλη**

- **Αμφοτερόπλευρη ανορχία, Κρυφορχία**

- **Σύνδρομο Sertoli cell only**

- **Γοναδοτοξικοί παράγοντες : Φάρμακα, Ακτινοβολία, Χημικές ουσίες**

- **Ορχίτιδα κυρίως ιογενούς και μικροβιακής αιτιολογίας**

Μετά - Ορχική Αιτιολογία

- **Συγγενείς Ανωμαλίες**

- Αμφοτερόπλευρη έλλειψη των Σπερματικών πόρων (CBVD) λόγω μετάλλαξης του γονιδίου της κυστικής ίνωσης CFTR

- Παλίνδρομη εκσπερμάτιση

- Απόφραξη της επιδιδυμίδας

- Σπερματικών πόρων και των

- Εκσπερματιστικών πόρων

- Μικροβιακής ή τραυματικής αιτιολογίας

- Σοβαρός υποσπασιάς ή στένωμα ουρήθρας

- Φίμωση

Αξιολόγηση - Διάγνωση

- **Ιστορικό**

- Υπογονιμότητα : διάρκεια , προηγ. εγκυμοσύνες
- Ανάπτυξης, Νοητικής στέρησης
- Ιατρικό, χειρουργικό
- Σεξουαλικό
- Οικογενειακό

- **Κλινική εξέταση**

- **Σπερμοδιαγράμματα – Βιοχημικός έλεγχος**
- **Ορμονικός έλεγχος**

Παιδική ηλικία και Ανάπτυξη

- Κρυπορχία, συστροφή,
- Παρωτιδική ορχίτιδα
- Αποκατάσταση βουβωνοκήλης
- Έναρξη Εφηβείας
- Ανάπτυξη δευτερευόντων χαρακτηριστικών
 - Κατανομή τριχοφυίας (μασχάλης - εφηβαίου), ξύρισμα
- Έναρξη αυνανισμού

Ιατρικό Ιστορικό

- **Ιατρικό Ιστορικό**

- Συστηματικά νοσήματα: ηπατική, νεφρική ανεπάρκεια

- Γοναδοτοξίνες

- sulfasalazine, cimetidine, nitrofuratoin, χημιοθεραπευτικά, στεροειδή αναβολικά

- Θερμικές βλάβες

- Κάπνισμα, αλκοόλ, μαριχουάνα

- **Χειρουργικό ιστορικό**

Αποκ.βουβωνοκήλης, Διάνοιξη Αυχένα κύστεως, ορχεκτομή, χειρουργία στο οπισθοπεριτόναιο

Κλινική Εξέταση

Κατανομή χαρακτηριστικών του φύλου

Όρχεις, επιδιδυμίδες, σπερματικοί πόροι

Πέος

Μαστοί (γυναικομαστία)

Θυρεοειδής αδένας

Προστάτης (DRE)



Testicle volume measured in mL



Σπερμοδιάγραμμα

- Τουλάχιστον 2 αναλύσεις

Μετά από φυγοκέντριση

- Εάν όγκος εκσπερματίσματος vol < 1ml
 - Δείγμα ούρων μετά από εκσπερμάτιση

Ιδιαίτερη αξία έχουν τιμές $pH < 7.2$

Ενδεικτικές απόφραξης

Βιοχημικός έλεγχος σπερματικού πλάσματος

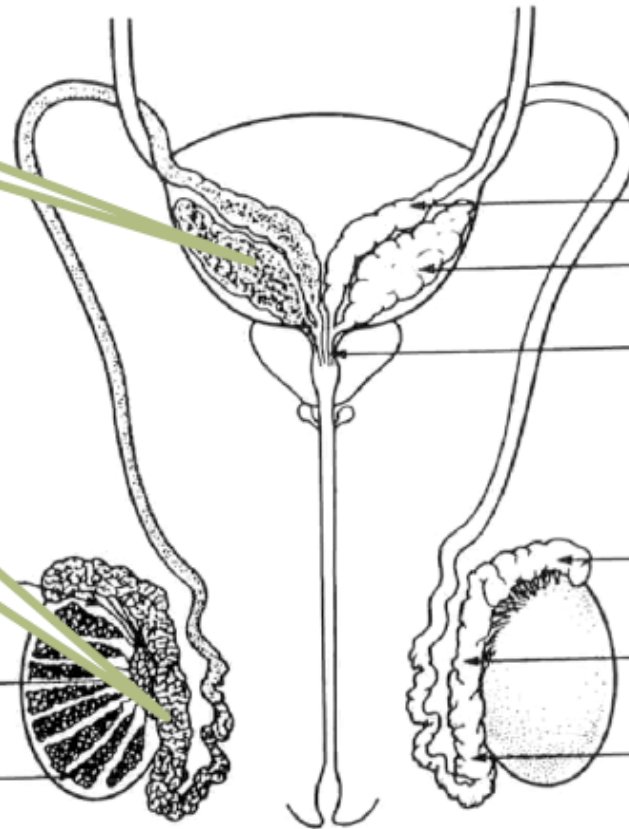
φρουκτόζη

α-γλυκοσιδάση

Απαγωγοί πόροι

Μεσαύλιο του όρχεως

Σπερματικά σωληνάρια



Σπερματική
λήκυθος
Σπερματοδόχος
κύστη
Εκσπερματιστικός
πόρος

Κεφαλή

Σώμα

Ουρά

Επιδιδυμίδα

Βιοχημικός έλεγχος σπερματικού πλάσματος

Ο έλεγχος των παραπάνω ουσιών είναι απαραίτητος, όταν υπάρχει υποψία απόφραξης της αποχετευτικής οδού του σπέρματος ή αγενεσίας.

Φρουκτόζη --- Σπερματοδόχες κύστεις

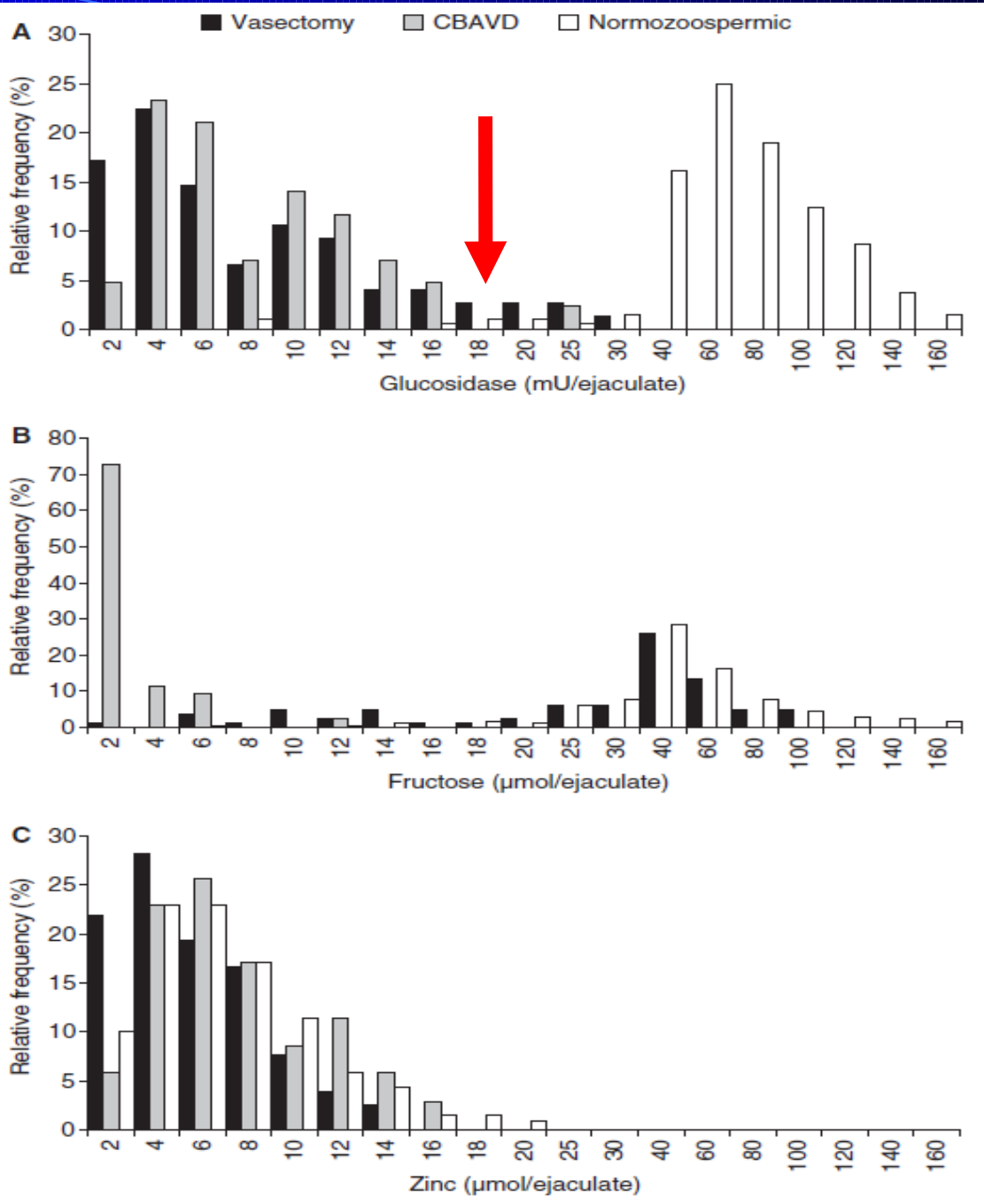
Ψευδάργυρος ---- Προστάτης

Ουδέτερη γλυκοσιδάση --- Επιδιδυμίδες

Η ποσότητα της φρουκτόζης στο σπέρμα πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 13 $\mu\text{mol}/\text{εκσπερμάτιση}$.

Επαναλαμβανόμενες μετρήσεις που αποδεικνύουν χαμηλά επίπεδα φρουκτόζης στο σπέρμα σημαίνουν δυσλειτουργία ή απόφραξη-αγενεσία των σπερματοδόχων κύστεων.

Η ουδέτερη γλυκοσιδάση πρέπει να έχει τιμές ίσες ή μεγαλύτερες από 20 $\text{mU}/\text{εκσπερμάτιση}$.



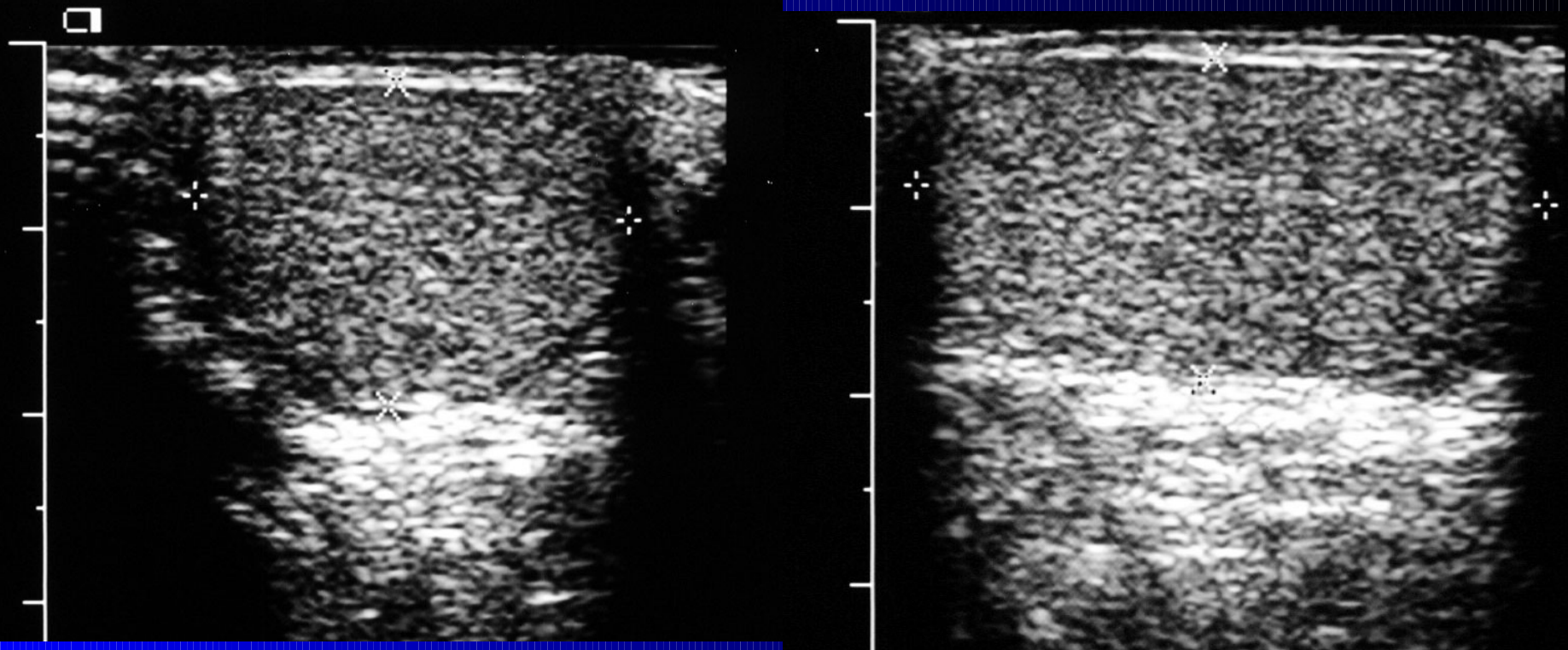
Υπερηχογραφικός έλεγχος

- **US triplex οσχέου**

- Διαστάσεις
- Κιρσοκήλη
- Νεοπλασίες

- **Διορθικός US**

- Low volume azoospermia without absence of testicular atrophy
- Palpable abnormality on DRE



Volume(cc) = length x width x AP depth x 0.52

Πλήρες Ορμονικό προφίλ

Οι κυριότερες ορμόνες

Τεστοστερόνη ολική

SHBG

FSH,

LH,

PRL,

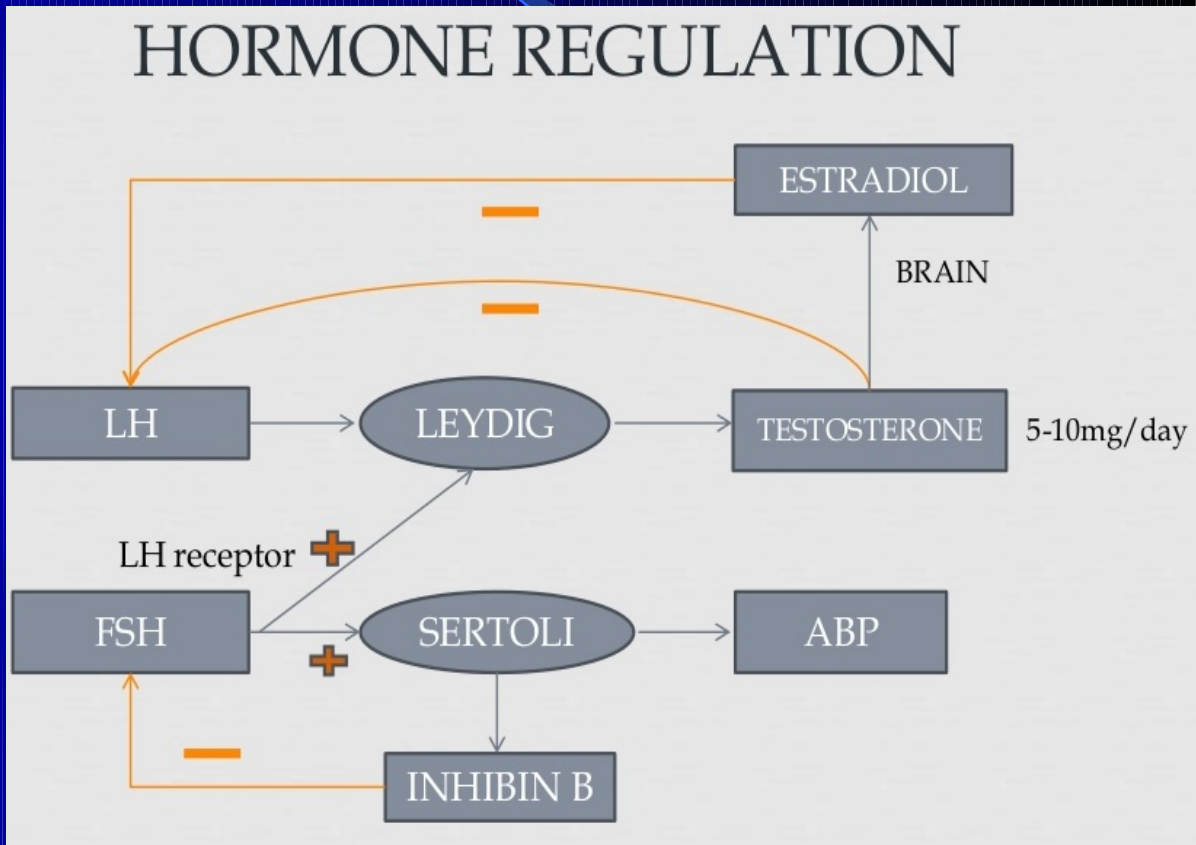
TSH,

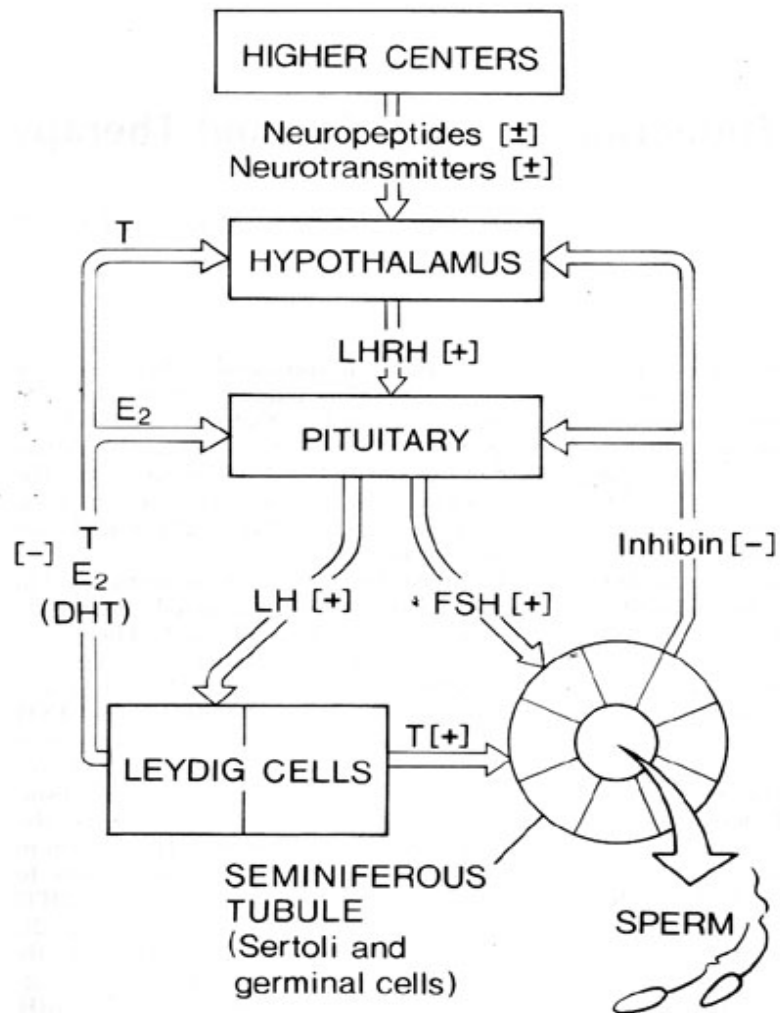
E2

Κορτιζόλη.

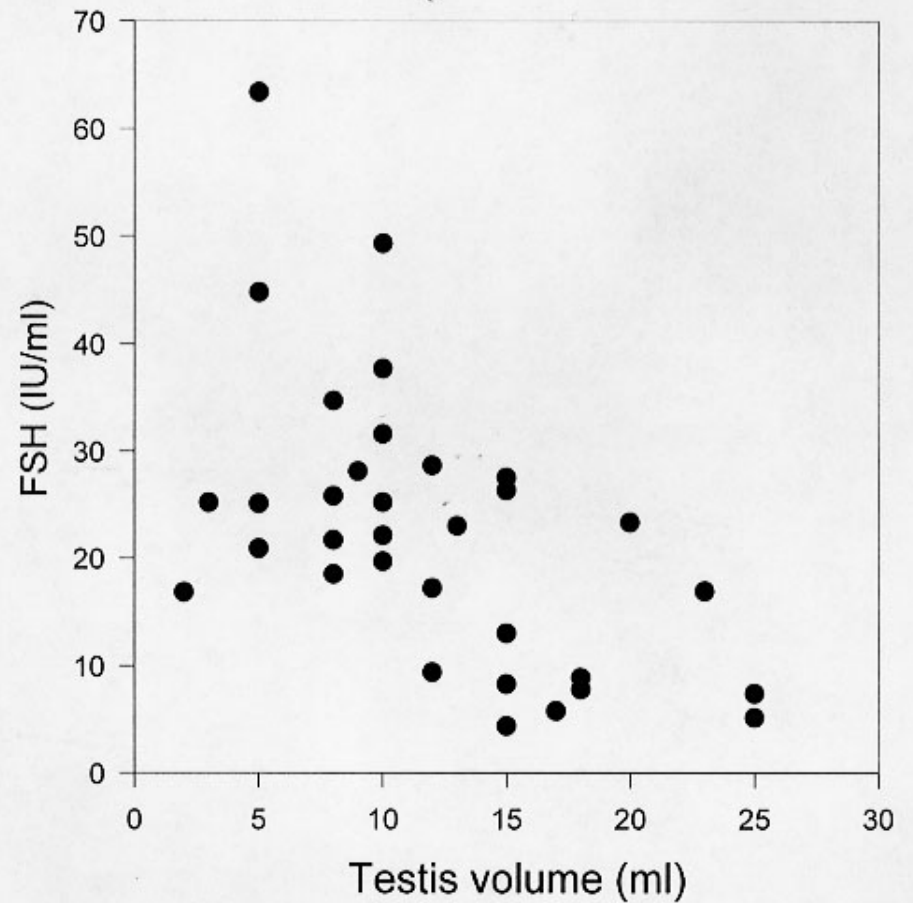
Υπολογισμός Ελεύθερη

Τεστοστερόνης





FSH and testis volume



Ορμόνες και κλινική Δ.Δ

Clinical status	FSH	LH	T
Germ cell aplasia	↑	Normal	Normal
Testicular failure	↑	↑	Normal or ↓
HH	↓	↓	↓

Ενδείξεις Ορχικής Βιοψίας

- **Διαγνωστικά**
 - Διαφορική Διάγνωση
 - Ιστολογική εκτίμηση της Βλάβης
 - Αναγνώριση πιθανής κακοήθειας
- **Θεραπευτικά**
 - Συλλογή σπερματοζωαρίων για ICSI

Ιστολογική εικόνα βιοψίας

- Σοβαρή Υποσπερματογένεση
- Sertoli cell only syndrome
- Αναστολή της Ωρίμανσης (MA)
 - Στάδιο σπερματοκυττάρων
 - Στάδιο σπερματίδας
- Σωληναριακή και περισωληναριακή σκλήρυνση

DNA flowcytometry

- **Πλεονεκτήματα**

- Ταχεία, αντικειμενική, ποσοτική μέτρηση
- επαναληψιμότητα

- **Μειονεκτήματα**

- Αδυναμία προσδιορισμού μεταξύ διαφορετικών 1N κυττάρων (σπερματοζωαρίων και σπερματίδων)

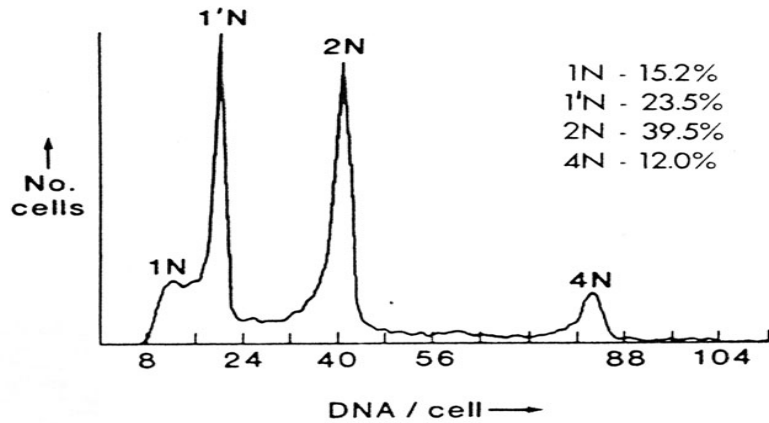


Figure 1
Normal spermatogenesis.

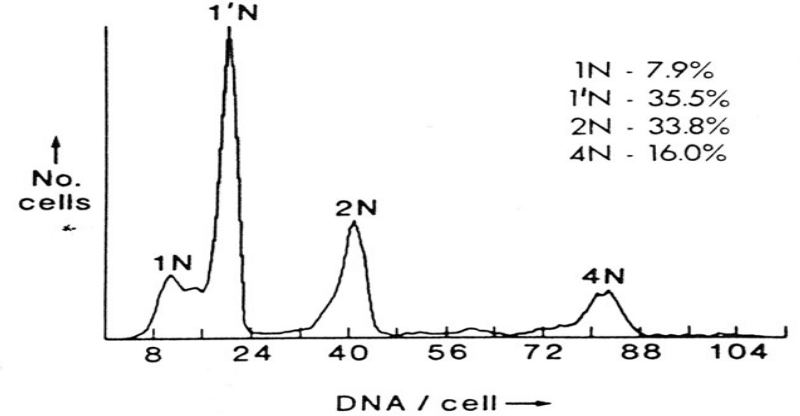


Figure 2
Hypospermatogenesis.

Normal spermatogenesis

Hypospermatogenesis

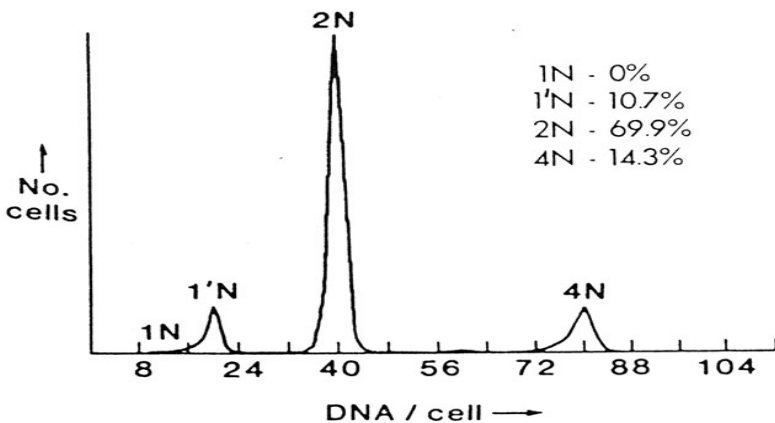


Figure 3
Maturation arrest.

Maturation arrest

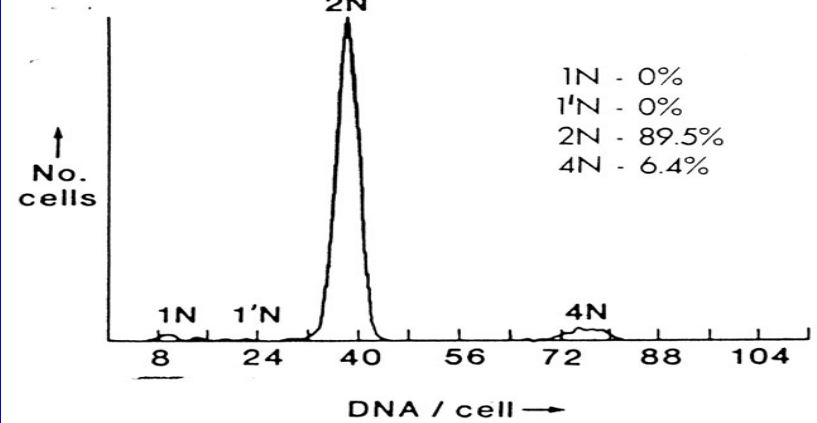
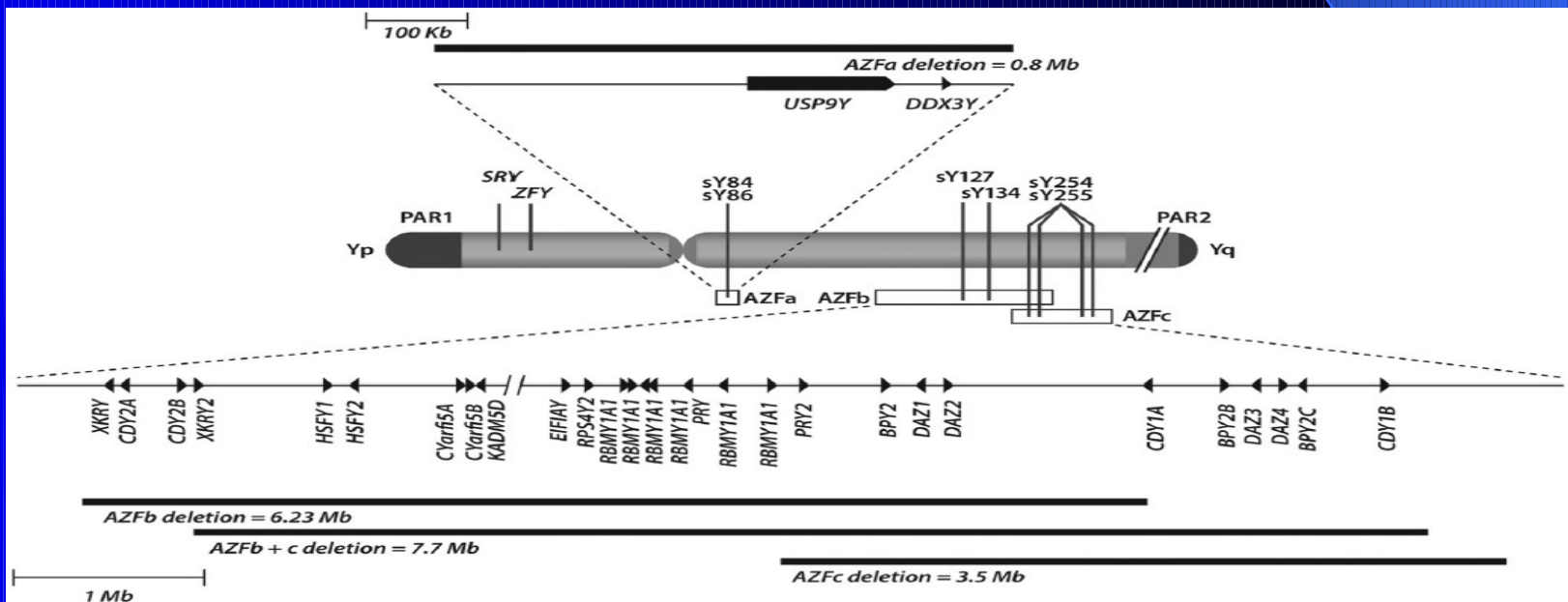


Figure 4
Sertoli cell only syndrome.

Sertoli cell only syndrome

NOA - Γενετικής αιτιολογίας

- Sex chromosomal disorder
 - Klinefelter's syndrome(1/500) :15% of NOA
 - XYY male(1/1,000), XX male(1/20,000)
- Yq deletion : 10–20% of NOA



NOA - Γενετικής αιτιολογίας

- **Sex chromosomal disorder**
 - Klinefelter's syndrome(1/500) :15% of NOA
 - XYY male(1/1,000), XX male(1/20,000)
- **Yq deletion** : 10–20% of NOA
- **X-linked** :
 - Kallmann's syndrome
 - Androgen receptor deficiency
 - Kennedy syndrome (spinal–bulbar muscular atrophy)
- **Autosomal defect**
 - Prader–Willi syndrome
 - Androgen synthesis deficiency

Γενετική Διερεύνηση ΝΟΑ

- Ενδείξεις

- **ΝΟΑ με κλινικές διαταραχές**

- Hypogonadism, anosmia, mental retardation

- **Γενετική συμβουλή**

- **All couples with male infertility prior to ICSI**

- Chromosomal abnormalities in 12% of men and 6% of women in 150 couples prior to ICSI (*Mau, 1997, Hum Reprod*)

- **Ερευνητικά πρωτόκολα**

- Normal phenotype except infertility

Θεραπευτική προσέγγιση ΝΟΑ (I)

● Υπογοναδοτρόπος Υπογοναδισμός

– Θεραπεία

- Αρχικά 1,000-2,500 IU **HCG** (x2/wk) εν συνεχεία 75-150 IU **HMG** (x3/wk) (*Finkel, 1987*)
- Συνδιασμός **HCG** και **HMG** (*Yong, 1997*)
- **GnRH** sc or pulsatile infusion (*Kliesch, 1994*)
- **LHRH** pulsatile treatment (*Shargil, 1987*)

– Αποτελέσματα

- ΙΗH μετά την εφηβεία καλύτερα αποτελέσματα.
- Εμφάνιση σπερματοζωαρίων σε 3-6μήνες.

Θεραπευτική προσέγγιση ΝΟΑ (II)

● Διόρθωση κισσοκήλης

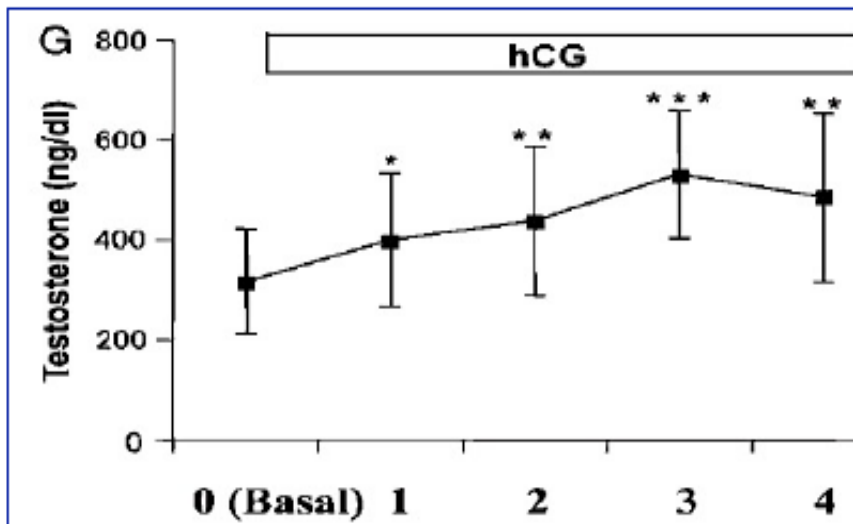
- Mehan DJ (1976, *Fertil Steril*)
Of 10 azoo men, **2** with varicocele results in pregnancy
- Matthews G, et al (1998, *Fertil Steril*)
Of 22 with azoo, sperm recovery rate is **55%**
- Kim ED, et al (1999, *J Urol*)
Of 28 men, 12(**43%**): mean post-op sperm count 1.2×10^6 /ml

Ένδειξη: Υποσπερματογένεση σοβαρού βαθμ.,
ΜΑ σταδιο σπερματίδας

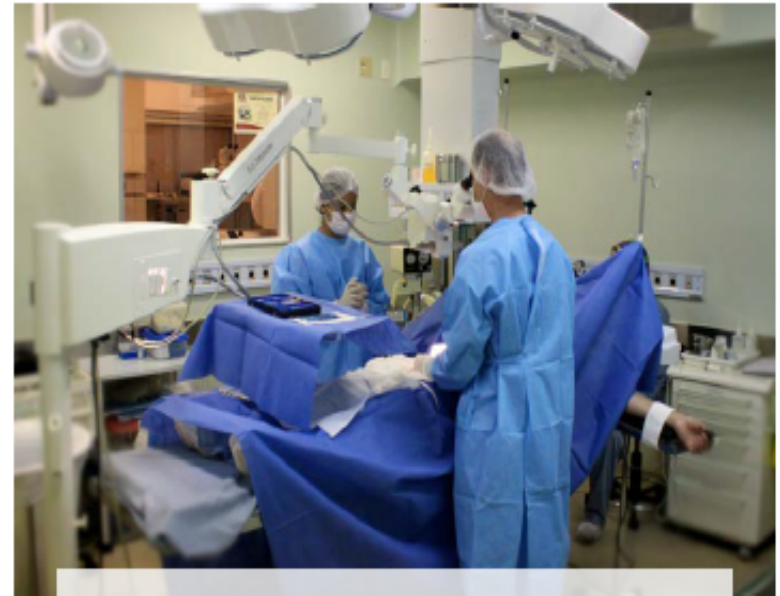
Θεραπευτική προσέγγιση ΝΟΑ(III)

- **ICSI**
 - **Εκσπερμάτισμα:**
 - Μη επεμβατικό, αποδοτικό
 - ΥΥ, κισοκήλη, mosaic Klinefelter's synd.
 - **TESE**
 - Ανεύρεση σπερματοζωαρίων σε SCO, MA
 - Nonmosaic Klinefelter's syndrome (Bourne, 1997, Hum Reprod)
 - **ROSI**
 - MA spermatid stage

Θεραπευτική προσέγγιση NOA(IV)

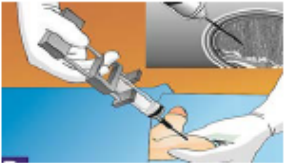
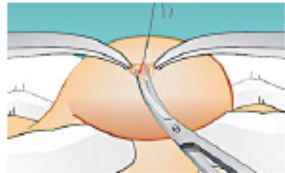
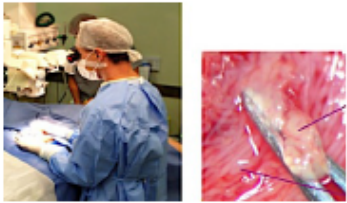


**Rescue ~15% of patients
with previous failed SR
attempts**

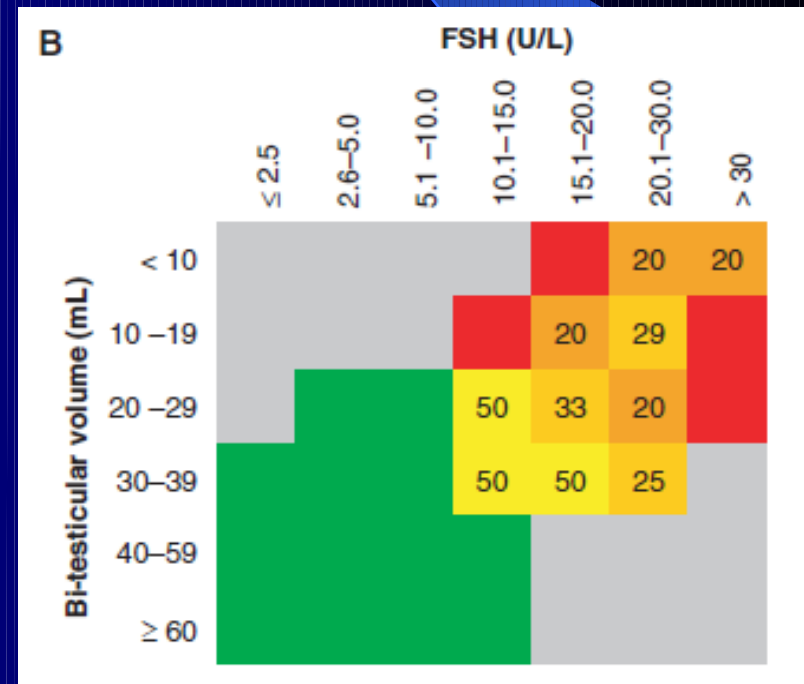
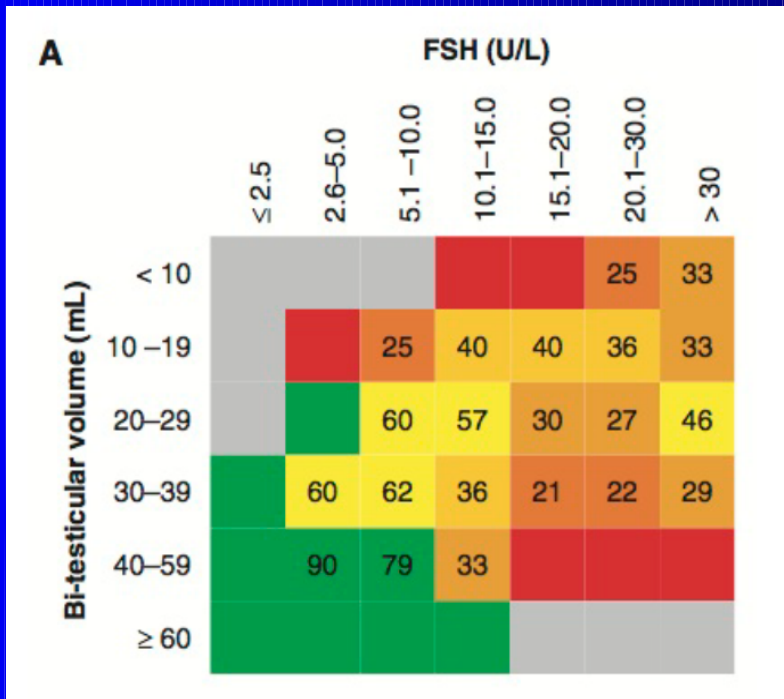


Microdissection TESE

Χειρουργική προσέγγιση

	Technique	Acronym	Success
	Testicular sperm aspiration	TESA	15-50%
	Testicular sperm extraction	TESE	20-60%
	Microdissection testicular sperm extraction	Micro-TESE	40-67%

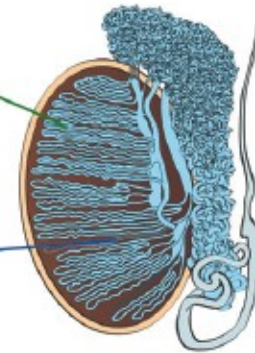
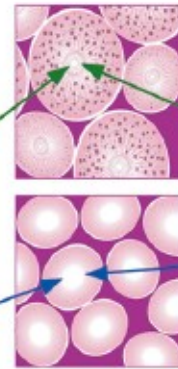
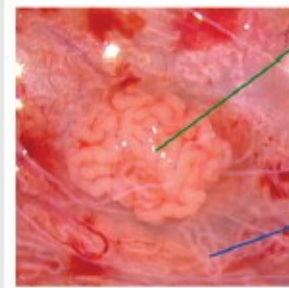
Χειρουργική προσέγγιση



- A. Το σύνολο των αντρών
- B. Αντρες με α-γλυκοσιδάση < 18 Μυ/εκοσπερμάτισμα

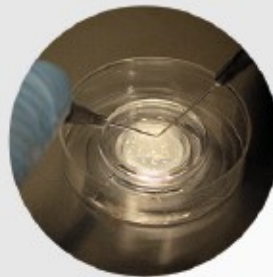
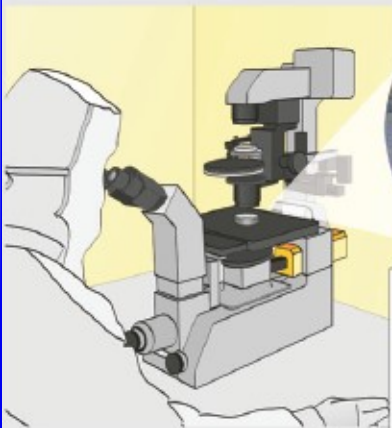
Εργαστηριακή προσέγγιση

Microdissection TESE requires use of an operating microscope



Tubules with larger diameter (green arrow) are more likely to contain sperm, and can be identified under 15-25 magnification after opening the testis.

Non-enlarged tubules are easily visualized (blue arrow) and usually contain no sperm



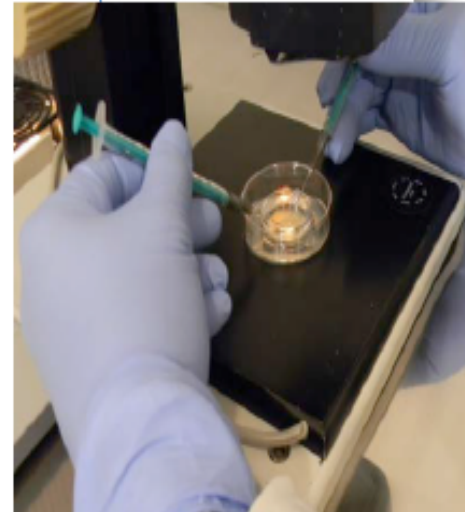
Testicular suspensions are then immediately examined under the inverted microscope at 400x magnification to determine whether sperm is found

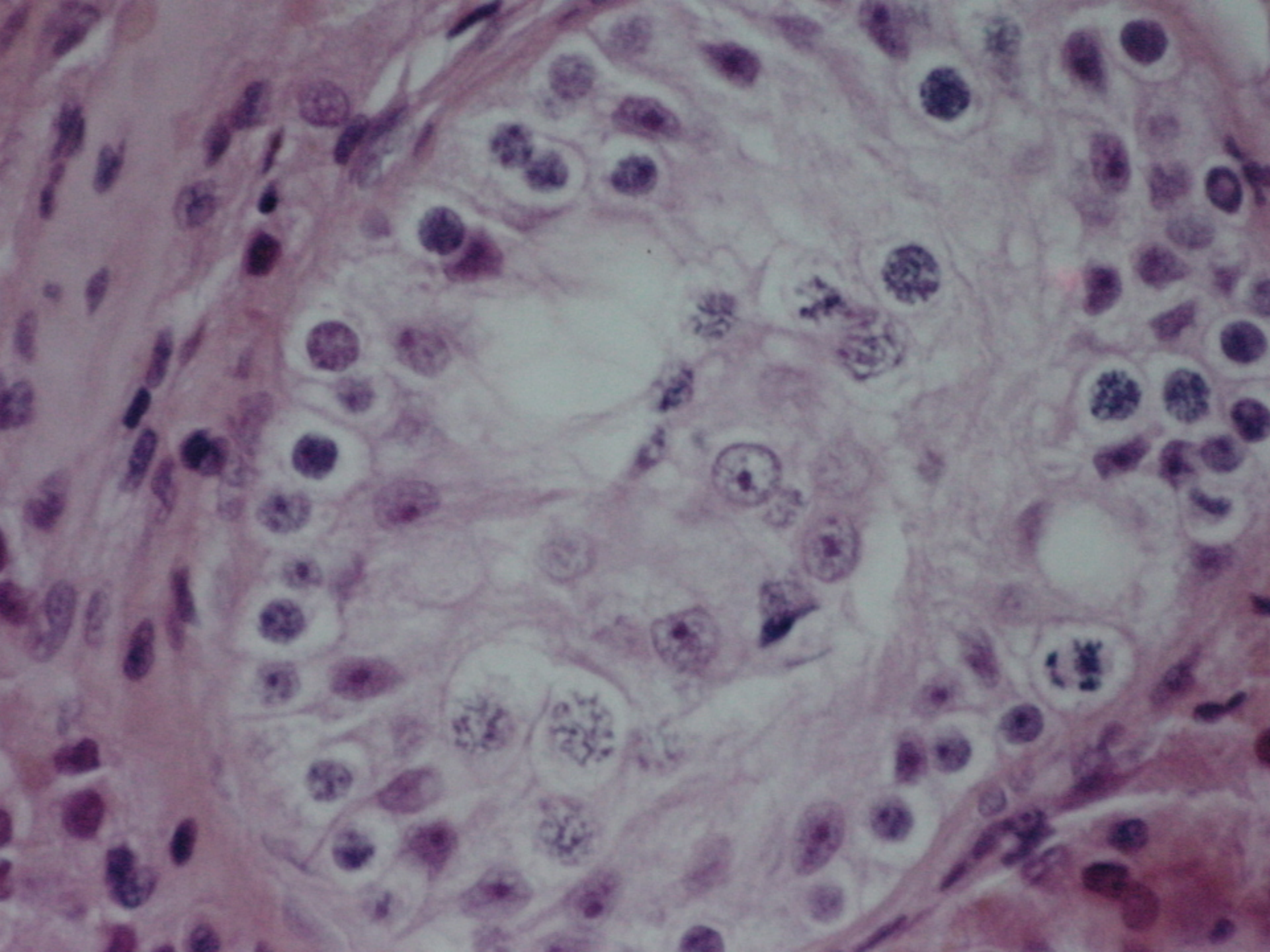


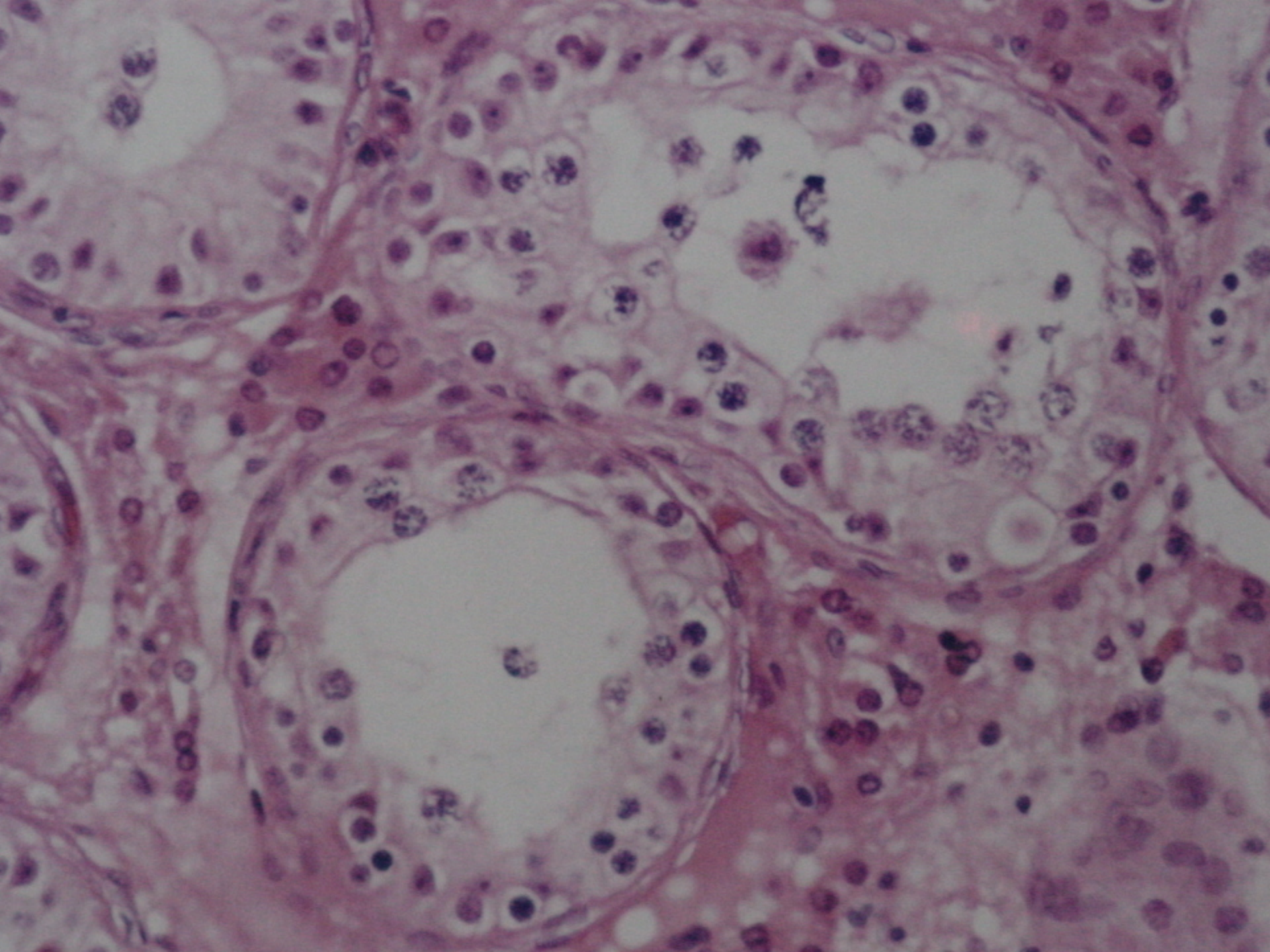
Microsurgically-guided excision of tiny volumes of testicular tissue containing the tubules with larger diameter is performed. Extracted specimens are placed in sperm culture medium and transferred to the IVF laboratory. Specimens are minced mechanically under the stereomicroscope to allow tubular break down and cellular content loss

Εργαστηριακή προσέγγιση

- Minimal tissue excision
- Mechanical mincing
- Enzymatic tissue digestion
- Avoid iatrogenic damage
- Lab air quality control







Συμπεράσματα

- Η αζωοσπερμία μπορεί να αποτελέσει τη μοναδική εμφάνιση συστηματικής νόσου.
- Η πλήρης και προσεκτική εκτίμηση είναι σημαντική για την ανάδειξη των αιτιών της ανδρικής υπογονιμότητας που θα οδηγήσουν στην πρόληψη αλλά και στη θεραπεία.